

*N° d'ordre :*

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Djillali Liabes – Sidi Bel-Abbes  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de l'Environnement

## ***THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES***

*Présentée par :*

*M<sup>me</sup>. CHABANE Kheira Ep. Medjahed*

*Spécialité : Sciences de l'Environnement*

*Option : Inventaire, Valorisation et Ecologie de la Restauration*

*Intitulé*

*Diversité Phénotypique, Biochimique et Moléculaire du  
Caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) en Algérie Occidentale*

*Soutenue le :*

*Devant l'honorable jury composé de :*

*Président de jury : Mme. S. Mahroug*

*Maître de Conférence (A) UDL. Sidi Bel-Abbès*

*Examineur : Mr. M. Belkhoufja*

*Professeur. Université ES-Sémiá d'Oran*

*Examineur : Mr. M. Chafi M.H.*

*Maître de Conférence (A) Université ES-Sémiá d'Oran*

*Directeur de thèse : Mr. H. Benhassaini*

*Professeur. UDL. Sidi Bel-Abbès*

*Année Universitaire : 2017-2018*

## ملخص

الخروب (*Ceratonia Siliqua L.*) من الأشجار النموذجية للبحر الأبيض المتوسط ، تستخدم في صناعة الأغذية الزراعية و الزراعة الحراجية من قبل المصالح الغابية و ذلك من اجل إعادة الاعتبار للأراضي الهامشية و التي تعتبر حاليا غير مأخوذة بعين الاعتبار في برامج التشجير. في هذا الإطار، كان اهتمامنا بتعدد الشكل المظهري للخروب من جهة، و من جهة أخرى بتحديد كمية الأملاح المعدنية و العناصر الثقيلة الموجودة في ثمار الخروب (قرون و بذور) بواسطة تقنية البلازما الطيفي (ICP/MS).

كشفت دراسة تنوع شجرة الخروب، التي تم جمعها من ثلاث مناطق مختلفة من شمال الغرب الجزائري ، عن تعدد الأشكال. ويسمح تحليل الأحرف المورف-الزراعية لتحديد مجموعتين متميزتين ضمن المؤثرات المدروسة.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن الثمار الخنثى للخروب بشرطها غنية بالأملاح المعدنية، و خصوصا البوتاسيوم ( $10,302 \pm 88,861$  مغ/كغ بالنسبة للقرون و  $39,244 \pm 93,946$  مغ/كغ بالنسبة للحبوب)، الكالسيوم ( $44,715 \pm 7,862$  مغ/كغ بالنسبة للقرون و  $39,075 \pm 8,499$  مغ/كغ بالنسبة للبذور)، و الفوسفور ( $13,538 \pm 22,607$  مغ/كغ بالنسبة للقرون و  $4,202 \pm 12,444$  مغ/كغ بالنسبة للبذور).

كما أن تركيز الأملاح المعدنية و العناصر الثقيلة في هذه الأخيرة مرتبة كما يلي: بوتاسيوم < كلسيوم < فسفور < مغنزيوم < صوديوم < سلسيوم < حديد < المنيوم منغانيز < زنك < كسميوم < رصاص < كروم < أرسنيك < نحاس.

المعالجة الإحصائية للنتائج عن طريق تحليل التباين أنوفا (ANOVA I)، و ارتباط بيرسون ذات المتغيرين، و تحليل المكونات الرئيسية (ACP) و أخيرا التصنيف الهرمي المتعدد الحلقات (HAP) كانت هامة جدا.

نسبة لما أظهرته النتائج لثمار الخروب الخنثى، يمكن فتح عدة مجالات للبحث خاصة تلك المتعلقة باستعمالها في الصيدلة، الزراعة و الصناعة و أيضا كمصدر لتغذية المواشي لوجود أزمة حادة في هذا المجال.

**الكلمات المفتاحية:** *Ceratonia siliqua L.*، خنثى، تعدد الأشكال المظهري، ICP/MS، الأملاح المعدنية، العناصر الثقيلة.

## **Résumé**

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est un arbre typiquement méditerranéen, utilisé dans l'industrie agroalimentaire et en agroforesterie pour la réhabilitation des terres marginales actuellement délaissées dans les prises de décision dans la politique de reboisement. Dans ce cadre-là, deux études importantes ont été réalisées : l'étude du polymorphisme phénotypique de *C. siliqua*, puis la quantification des oligo-éléments et des métaux lourds du fruit (gousses et graines séparément) par la technique de spectrométrie de masse à plasma couplé par induction (ICP/MS).

L'étude de la diversité du caroubier, collecté de trois différentes régions du Nord Occidentale Oranaise, a révélé un polymorphisme élevé. L'analyse des caractères morpho-agronomiques est permise d'identifier deux groupes distincts au sein des provenances étudiées.

Les résultats obtenus par l'ICP/MS, ont montré que les fruits hermaphrodites (gousses et graines séparément) de *C. siliqua* L. sont très riches en potassium ( $88,861 \pm 10,302$  mg/kg pour les gousses et  $93,946 \pm 39,244$  mg/kg pour les graines), en calcium ( $44,715 \pm 7,862$  mg/kg pour les gousses et  $39,075 \pm 8,499$  mg/kg pour les graines) et en phosphore ( $22,607 \pm 13,538$  mg/kg pour les gousses et  $12,444 \pm 4,202$  mg/kg pour les graines). Les concentrations en oligo-éléments et métaux lourds dans les fruits de *C. siliqua* (gousses et graines séparément) sont classées dans l'ordre suivant:  $K > Ca > P > Mg > Na > Si > Fe > Al > Mn > Zn > Cd > Pb > Cr > As > Cu$ .

Les traitements statistiques des résultats obtenus par l'analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA I), la corrélation bi-variée de Pearson, l'analyse des composantes principales (ACP) ainsi que le dendrogramme de classification hiérarchique (HAP) étaient très significatifs.

Au vu des résultats obtenus sur la valorisation biochimique du fruit hermaphrodite de *C. siliqua*, une perspective d'avenir peut s'ouvrir sur son utilisation dans les domaines pharmaceutiques, l'industrie agroalimentaire et comme source pour l'alimentation de bétail.

**Mots clés :** *Ceratonia siliqua* L., hermaphrodite, polymorphisme phénotypique, ICP/MS, oligo-éléments, métaux lourds.

## ***Abstract***

The carob (*Ceratonia siliqua* L.) is a typically Mediterranean tree, used in agroalimentary and in agroforestry for the rehabilitation of the marginal soils currently forsaken in the makings decision in the political program of reforestation. In this focus, two important studies were carried out: the study of the phenotypical polymorphism of *C siliqua*, then the quantification of oligo-elements and heavy metals of the fruit (pods and seeds separately) using the coupled plasma mass spectrometry (ICP/MS).

The study of carob tree diversity, collected from three deferent regions of the North Western Oranaise, revealed a high polymorphism. The analysis of the morpho-agronomic characters is allowed to identify two distinct groups within the provenances studied.

The obtained results by ICP / MS, showed that the hermaphrodites fruits (pods and seeds separately) of *C. siliqua* L. are very rich in potassium ( $88,861 \pm 10,302$  mg/kg for the pods and  $93,946 \pm 39,244$  mg/kg for seeds), calcium  $44,715 \pm 7,862$  mg/kg for the pods and  $39,075 \pm 8,499$  mg/kg for seeds) and phosphorus ( $22,607 \pm 13,538$  mg/kg for the pods and  $12,444 \pm 4,202$  mg/kg for seeds).

The concentrations of oligo- elements and heavy metals in both seeds and pods decreased in the following order: K > Ca > P > Mg > Na > Si > Fe > Al > Mn > Zn > Cd > Pb > Cr > As > Cu.

The statistical processing of the obtained results using One-Way Analysis of variance (ANOVA I), Bi-varied Pearson Correlation, Principal Components Analysis (PCA) as well as the hierarchical classification dendrogram (HAP) were very significant.

In view of the results obtained on the biochemical valorization of the hermaphrodite fruit of *C. siliqua*, a future perspective can be opened on its use in the pharmaceutical, the agroalimentary industry and as a source of feedstuff.

**Key words:** *Ceratonia siliqua* L., hermaphrodite, phenotypic polymorphism, oligo-elements; heavy metals.

## **Remerciements**

*A l'issue de ce travail, je tiens à remercier Dieu tout puissant de m'avoir donné la puissance et la volonté de terminer mes études.*

*Cette thèse n'aurait pas vu le jour sans la confiance, la patience et la générosité de mon directeur de thèse, Monsieur BENHASSAINI Hachemi, que je veux particulièrement remercier. Je voudrais aussi le remercier pour le temps et la patience qu'il m'a accordés tout au long de ces années, d'avoir cru en mes capacités et de m'avoir fourni d'excellentes conditions de travail au laboratoire des recherches. De plus, les conseils qu'il m'a procurés tout au long de la rédaction, ont toujours été clairs et enrichissants, me facilitant grandement la tâche et me permettant la finalisation de cette thèse.*

*Je tiens à exprimer également mes remerciements aux membres du jury, qui ont accepté d'évaluer mon travail de thèse:*

*Mme MAHROUG Samira., Docteur maitre de conférence « A » à l'université de Sidi Bel Abbés, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider mon jury.*

*Monsieur BELKHODJA Mouley, Professeur à l'université ES-Sénia d'Oran, d'avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement et aimablement de critiquer et de juger ce travail. Je suis particulièrement reconnaissant et honoré par sa participation au jury de cette thèse.*

*Monsieur CHAFI Mohammed El Habib Docteur maitre de conférences « A » à l'université ES-Sénia d'Oran, pour avoir accepté d'être parmi le jury.*

*J'adresse mes plus sincères remerciements au Monsieur ROMANE. A. professeur à l'Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc. Ainsi Monsieur ARJOUNI. M. Y. Docteur maitre de conférences à l'Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc, pour leur accueil au niveau du laboratoire de chimie organique appliquée et leurs précieux conseils durant le stage effectué au niveau de leur l'établissement.*

*Je tiens à remercier particulièrement mon mari qui m'a toujours soutenu et encouragé.*

*Aucun mot ne saurait exprimer ce que je dois à ma famille ; chers parents, mon frère et ma sœur pour leur dévouement et leurs soutiens durant toutes ces années.*

*Enfin, je tiens à remercier ma très chère sœur BENHAMICHE Samia qui a toujours été à mes cotés. Ainsi que tous mes collègues et amis qui mon toujours soutenus(es). Je leur exprime ma profonde sympathie et leur souhaite beaucoup de bien.*

*Cette thèse m'a donné l'occasion de rencontrer et de travailler avec des personnes absolument épatantes. Il est difficile de leur dire ici à quel point j'ai été touchée par tout ce qu'ils ont fait pour moi.*

## *Dédicaces*

*Cette thèse représente l'aboutissement du soutien et des encouragements que mes parents m'ont prodigués tout au long de ma scolarité. Grâce à vous, à votre travail, à votre patience et surtout à votre amour vous avez réussi à faire de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*La patience et l'encouragement de mon mari m'ont aidé à surmonter toutes les difficultés rencontrées au cours de cette thèse.*

*Chers frère et sœur, je vous suis très reconnaissante pour votre soutien et encouragements tout au long de mes études, je vous aime.*

*A ma famille et ma belle famille.*

*A mes amis (es) et mes collègues.*

*A vous tous, je dédie ce mémoire.*

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : Habitus du caroubier ( <i>Ceratonia siliqua</i> L.) (Cliché Chabane, 2017).....	5
<b>Figure 2</b> : Inflorescence de <i>Ceratonia siliqua</i> L. (Cliché Chabane, 2017).....	7
<b>Figure 3</b> : Fruit (gousse et graine) de <i>Ceratonia siliqua</i> L. (Cliché Chabane, 2017).....	8
<b>Figure 4</b> : Classification de APG IV (2016) (Chase <i>et al.</i> , 2016).....	11
<b>Figure 5</b> : Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997).....	12
<b>Figure 6</b> : Graines de caroube décortiquées et séparées .....	23
<b>Figure 7</b> : polymorphisme foliaire (Folioles au nombre impaires) de <i>Ceratonia siliqua</i> L. (Cliché Chabane, 2017).....	24
<b>Figure 8</b> : Hydroxylation de l'acide benzoïque .....	42
<b>Figure 9</b> : Hydroxylation de l'acide cinnamique .....	42
<b>Figure 10</b> : Exemples des structures chimiques des lignanes .....	43
<b>Figure 11</b> : Différentes classes et squelettes de flavonoïdes (Sartori-Thiel, 2003; Hallgas <i>et al.</i> , 2004) .....	47
<b>Figure 12</b> : structure biochimique des tanins hydrolysables (Zywicki <i>et al.</i> , 2002).....	50
<b>Figure 13</b> : Structure des tannins condensés (Macheix <i>et al.</i> , 2005).....	51
<b>Figure 14</b> : Situation géographique des sites de récolte des échantillons de caroubier .....	54
<b>Figure 15</b> : Prise de mesures sur les gousses(a), les graines(b), pédoncule (c) de <i>Ceratonia siliqua</i> L. (Cliché Chabane, 2017) .....	56
<b>Figure 16</b> : Variabilité dans la morphologie (forme et couleur) des gousses collectées de: (A) Chiguer, (B) Sidi Bel Abbes,(C) Berkache (Cliché Chabane, 2017).....	58
<b>Figure 17</b> : morphométrie des fruits de <i>Ceratonia siliqua</i> L. des trois provenances (Sidi Bel Abbes, Tlemcen, Ain Témouchent) .....	61
<b>Figure 18</b> : Variabilité dans la morphologie (couleur et taille) des graines du caroubier provenant de trois provenances: (Cliché Chabane, 2017). (A) Sidi Bel Abbes, (B) Chiguer, (C) Berkache .....	64
<b>Figure 19</b> : comparaison entre les concentrations en oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines de <i>C. siliqua</i> L.....	68
<b>Figure 20</b> : Analyses des composantes principales (ACP) des oligo-éléments et des métaux lourds des gousses et des graines de <i>Ceratonia siliqua</i> L. G1 (Ca-Cu-Mg-Mn-Fe-Cr-Pb), G2 (Al-K-Si), G3 (Na-Cd).....	70
<b>Figure 21</b> : dendrogramme de classification ascendante hiérarchique (CAH).....	72

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Classification classique et phylogénétique de <i>Ceratonia siliqua</i> L. selon le système de Cronquist (1981) et APG II (2003).....	10
<b>Tableau 02</b> : production mondiale des gousses et des graines de caroubier en tonnes .....	13
<b>Tableau 03</b> : Composition chimique de la gousse de <i>C. siliqua</i> L. en M.S .....	16
<b>Tableau 04</b> : Principaux produits dérivés de la graine de caroube et leurs applications .....	20
<b>Tableau 05</b> : Composition des réserves de quelques graines d'espèces cultivées. (Bewley et Black, 1994) .....	29
<b>Tableau 06</b> : Ressources fourragères en Algérie (Ziani, 2002) .....	34
<b>Tableau 07</b> : La composition chimique des gousses du caroubier (Calixto et Cañellas, 1982; Markis, 1996, Avallone <i>et al.</i> , 1997; Yousif et Alghzawi, 2000, Chabane <i>et al.</i> ,2012).....	37
<b>Tableau 08</b> : Principales classes des composés phénoliques (El Gharras, 2009).....	40
<b>Tableau 09</b> : Caractéristiques morphométriques des fruits de <i>C. siliqua</i> (gousses et graines) selon les trois provenances (Sidi bel Abbes, Tlemcen (Chiguer), Ain Témouchent (Berkache)).....	60
<b>Tableau 10</b> : Concentration totale des oligo-éléments et des métaux lourds des fruits de <i>C. siliqua</i> L. par Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP/MS), comparées aux normes chez les plantes citées par différents auteurs. ....	69
<b>Tableau 11</b> : corrélation bi-variée de Pearson entre les oligo-éléments et les métaux lourds des gousses et des graines de <i>C. siliqua</i> L. ....	71

## Liste des abréviations

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**ACH** : Analyse ascendante hiérarchique

**ACP** : Analyse en composantes principales

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ANOVA** : Analyse de variance

**Cm** : Centimètre

**Da**: Dalton

**DS**: Déviation Standard

**FAO**: Food and Agricultural Organization

**GGC**: Gomme de graines de caroube

**Ha**: Hectare

**Kg** : kilogramme

**Kg N ha-1** : kilogrammes d'azote par hectare

**km<sup>2</sup>** : kilomètre carré

**m** : Mètre

**mm** : Millimètre

**N** : Azote

**Na Cl** : Chlorure de sodium

**NDF**: Neutral Detergent Fiber

**OH**: Hydroxyde

**pH** : Potentiel hydrogène

**SDS** : Sodium Dodecyl Sulfate

**T** : Tonnes

**UF** : Unité Fourragère

**UF/ha** : Unité fourragère par hectare

**USD** : Dollar Américain

## *Table des matières*

Résumés	
Introduction .....	1
<i>Chapitre I : Considérations bibliographiques sur le taxon Ceratonia siliqua</i>	
1. Description botanique et ecologie du caroubier : <i>Ceratonia siliqua</i> L. ....	5
1.1. Description botanique .....	5
1.2. Ecologie du caroubier.....	9
1.2.1. Climat .....	9
1.2.2. Sols.....	9
1.3. Taxonomie.....	10
2. Répartition géographique et origine .....	12
2.1. Répartition géographique du caroubier .....	12
2.2. Origine du caroubier.....	13
3. Aire de Production .....	13
4. Composition de la caroube .....	14
4.1. Sucres .....	15
4.2. Polyphénols .....	16
4.3. Fibres .....	17
4.4. Protéines et lipides .....	17
4.5. Cendres .....	18
4.6. Minéraux .....	18
4.7. Humidité.....	19
5. Usages du caroubier .....	19
6. Effets indésirables des produits de caroube .....	21
7. Procédés de régénération du caroubier.....	21
8. Constitution de la graine de caroubier.....	22

8.1. Cuticule .....	22
8.2. Endosperme .....	22
8.3. Germes .....	23
9. Germination des graines de caroubier .....	23
10. Notion de polymorphisme chez le caroubier.....	24
10.1. Polymorphisme phénotypique.....	25
10.2. Polymorphisme biochimique.....	26

*Chapitre II : Usages et valorisation des espèces à caractères fourragères : cas des légumineuses*

1. Les légumineuses .....	28
1.1. Présentation générale des légumineuses .....	28
1.2. Principales caractéristiques des légumineuses .....	29
1.2.1. Intérêt de la fixation symbiotique d'azote.....	29
1.2.2. Métabolites secondaires .....	30
1.2.3. Haute teneur en protéines .....	31
1.2.4. Importance des légumineuses dans les systèmes de culture .....	31
1.2.5. Importance écologique du Caroubier .....	32
1.2.6. Importance économique du Caroubier .....	32
2. Situation des fourrages en Algérie .....	33
2.1. Les ressources fourragères en Algérie .....	33
2.2. Caractéristiques nutritionnelles des arbustes fourragers .....	35
3. Usage et valorisation des espèces fourragères : cas du <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	35
3.1. La valeur nutritionnelle du caroubier .....	36

*Chapitre III : Valorisation des substances naturelles et des molécules bioactives chez les légumineuses*

1. Les composés phénoliques .....	39
1.1. Les acides phénoliques .....	41
1.2. Les lignanes .....	43
1.3. Les stilbènes .....	43
1.4. Les saponines .....	44
1.5. Les flavonoïdes .....	45
1.5.1. Les flavonols .....	45
1.5.2. Les flavones.....	46
1.5.3. Les flavanones .....	46
1.5.4. Les isoflavones .....	46
1.5.5. Les flavanols .....	46
1.5.6. Les anthocyanes .....	46
1.6. Les tanins.....	48
1.6.1. Définition, rôle et toxicité des tanins .....	48
1.6.2. Classification des tanins .....	49
1.6.2.1. Les tanins hydrolysables .....	49
1.6.2.2. Les tanins condensés .....	50
1.7. Les Phytostérols et les phytostanols.....	51
2. Les composés terpéniques .....	52
3. Les alcaloïdes .....	52

*Chapitre IV : Etude du polymorphisme phénotypique du caroubier*

1. Matériels et méthodes.....	54
1.1. Matériel végétal.....	54
1.2. Marqueurs morfo-agronomiques .....	55

2. Résultats et discussions .....	57
2.1. Diversité agro-morphologique inter-provenances.....	57
2.1.1. Observation de l'aspect des gousses .....	57
2.1.2. Mesure des variables agro-morphologiques .....	59

*Chapitre V: Quantification des oligo-éléments et des métaux lourds dans les fruits de C. siliqua*

1. Matériels et méthodes.....	66
2. Résultats et discussion.....	67
2.1. Résultats .....	67
2.2. Discussions.....	72
Conclusion.....	82
Annexes .....	85
Références bibliographiques .....	99

*Introduction* 

---

### ***Introduction générale***

La région méditerranéenne figure parmi les régions les plus riches du monde. Elle est considérée par les écologues comme étant un « hotspot » régional très important (Médail et Quézel, 1997 ; Vela et Benhouhou, 2007).

En raison de sa situation particulière en région méditerranéenne, l'Algérie offre des opportunités exceptionnelles pour l'évaluation et la compréhension des mécanismes impliqués dans la diversification et l'adaptation des plantes en relation avec l'évolution de leurs environnements (Médail et Quézel, 1997 ; Quézel et Médail, 2003 ; Vela et Benhouhou, 2007).

Les écosystèmes méditerranéens sont soumis à l'effet des conditions climatiques particulières caractérisées par des précipitations rares ou irrégulières et par de longues périodes estivales sèches. Ces contraintes climatiques combinées avec une pression anthropique conduisent généralement à une perturbation du couvert végétal couplée à une érosion rapide des sols.

En Algérie, comme dans plusieurs pays méditerranéens, le caroubier croît dans les conditions naturelles à l'état sauvage sous des bioclimats de type sub-humide, semi aride et aride. Il est généralement en association avec l'olivier et le lentisque (Benmahioul, 2011).

Plusieurs programmes de développement forestier ont été entrepris dans de nombreuses régions du monde. Certains pays ont opté pour l'usage des arbres et arbustes appartenant à la famille des légumineuses car bénéfique à la fois pour le maintien des sols et la production d'aliments pour le bétail (Nuti, 1989 ; Brewbaker *et al.*, 1990).

Le caroubier fait partie de ces légumineuses essentiellement méditerranéenne, c'est une espèce agro-sylvo-pastorale ayant d'énormes intérêts socioéconomiques et écologiques (Batlle et Tous, 1997; Gharnit *et al.*, 2001). C'est un arbre xérophyte montrant quelques caractéristiques particulières telles la rusticité, la résistance à la sécheresse, la fertilisation du sol et la lutte contre l'érosion des sols. Par ailleurs, elle est d'une importance économique considérable, puisque ses gousses qui sont plus riches en sucre que la canne à sucre et la betterave sucrière. Elles sont utilisées en industrie alimentaire et pharmacologique (NAS, 1979; Batlle, 1997; Markis et Kefalas, 2004). Ainsi, sa valeur commerciale a été récemment remarquée et appréciée créant ainsi un nouvel intérêt pour la plantation de caroubiers (Sidina *et al.*, 2009; Yousif et Alghzawi, 2000). L'intérêt de planter les caroubiers a été augmenté

dans les régions méditerranéennes en raison du développement de l'industrie alimentaire et l'augmentation de la demande pour les produits à base de caroube (Gubbuk et *al.*, 2010).

Toutes les composantes de l'arbre (feuillage, fleur, fruit, bois, écorce, racine) sont utiles et ont de la valeur dans plusieurs domaines en plus de sa valeur ornementale et paysagère. Ainsi, il est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers qui représente le plus grand potentiel de valorisation. Cette espèce est de plus en plus demandée par les industries agro-alimentaires, pharmaceutiques et diététiques comme antidiarrhéique, grâce à son contenu en composées phénoliques qui lui confèrent différents rôles : antioxydant, facilité de la digestion, baisse du taux de cholestérol (Owen, 2003 ; Makris, 2004; Hariri et *al.*, 2009).

Elle est très riche en sucres (40-60%) en particulier, saccharose (27-40%), fructose (3-8%) et glucose (3-5%) mais pauvre en lipides (0,4-0,6%) ou protéines (2-6%) (Leroy, 1929; Avallone et *al.*, 1997). Elle présente également une teneur très élevée en fibres (27-50%) et une quantité non négligeable de tanins (Saura-Calixto, 1988). La pulpe est souvent grillée et broyée pour obtenir une poudre de couleur marron à arôme de chocolat qui est utilisée comme substituant de cacao. La pulpe de caroube, après broyage, peut être utilisée aussi dans l'extraction de jus sucrés, la préparation d'alcools, la production de farine de chocolat et dans l'alimentation animale. En général, la caroube est principalement exploitée pour la production de la gomme de caroube E 410 provenant de l'endosperme des graines de caroubier et utilisée dans la formulation des aliments (alimentation, confiserie,...) la cosmétique et l'industrie pharmaceutique comme agent épaississant, gonflant, liant et stabilisant dans les préparations des émulsions (Calixto et Canellas, 1982; Sandolo et *al.*, 2007).

Le caroubier, bien que très fréquent en Algérie du Nord, n'a jamais fait l'objet d'une attention. La plantation de cet arbre était longtemps négligée, malgré le grand intérêt écologique économique de cette espèce végétale au pays. Sa production est utilisée soit pour l'industrie soit pour la mise au point d'alimentation de bétail (Chouaki et *al.*, 2006).

Récemment, l'intérêt écologique et socio-économique a permis d'encourager la culture du caroubier en Algérie (Direction Générale des Forêts, 2017) (Annexe 1,4). Mais cette culture est affrontée à l'absence d'orientation et d'informations sur l'importance de la sélection des espèces les plus productifs, sur la variation de la composition chimique de différentes variétés Algérienne (gousses et graines) en fonction de leur localisation géographique. Ce manque d'information entraîne de mauvais choix et de sélection des variétés à cultiver dans les nouveaux vergers de caroubiers. En effet, jusqu'à maintenant les critères de choix se basent

uniquement sur des aspects morphologiques et physiologiques pour discriminer les différents types de caroubier en Algérie et pour choisir et gérer les différents cultivars à implanter.

Peu d'études sont disponibles sur les caractérisations morphologiques et chimiques de la gousse et la graine et aucune information, à notre connaissance, n'est disponible sur le fruit hermaphrodite de caroube Algérienne.

De nos jours, la composition en éléments minéraux et les produits à base de plantes présentent un intérêt de plus en plus grandissant. Vue leurs importances dans la nutrition, l'agriculture et la santé humaine (Sanchez-Castillo, 1998). La composition en éléments organiques et inorganiques de plusieurs espèces est aujourd'hui déterminée par différentes techniques analytiques très avancées.

Dans le cadre d'une démarche visant à développer une stratégie rationnelle d'amélioration et de gestion cette ressource renouvelable et vue l'importance économique et agro-alimentaire de ce taxon, cette thèse a été consacrée à la caractérisation et à l'évaluation de la valeur nutritive des fruits hermaphrodites de caroubier. Ainsi, les principaux objectifs du présent travail sont:

1. Evaluer la diversité des accessions Algériennes de caroubier par la diversité phénotypiques.
2. Valoriser les coproduits du *Ceratonia Siliqua* L. par la quantification des oligo-éléments et des métaux lourds de ses fruits (gousses et graines séparément) par la méthode de spectrométrie de masse à plasma couplé par induction (ICP/MS).

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur l'espèce de *C. siliqua* L. sa taxonomie, sa répartition géographique, ses propriétés et son usage, Procédés de régénération du caroubier, le polymorphisme chez le caroubier.

Le deuxième comporte l'Usage et valorisation des espèces à caractère fourragère : cas des légumineuses.

Le troisième chapitre comporte la Valorisation des substances et molécules bioactives chez les légumineuses.

Le chapitre IV comporte une étude du polymorphisme phénotypique de *C. siliqua* L. basée sur l'analyse des caractères morpho-agronomiques liés aux fruits des différentes provenances.

| *Introduction générale*

Le cinquième chapitre est consacré à une valorisation des coproduits de *C. siliqua* L. par la quantification des oligo-éléments et des métaux lourds de ses fruits hermaphrodites (gousses et graines séparément) par la méthode de spectrométrie de masse à plasma couplé par induction (ICP/MS).

*Chapitre I*

---

*Considérations bibliographiques sur le taxon*

*Ceratonia siliqua*

## 1. Description botanique et ecologie du caroubier : *Ceratonia siliqua* L.

### 1.1. Description botanique

D'après Emberger (1938) et Quezel et Santa, (1962 ; 1963), le caroubier est un arbre à croissance lente, à feuillage persistant pouvant atteindre une quinzaine de mètres de hauteur (Fig.1). Sa longévité est très élevée ou il peut atteindre jusqu'à 500 ans (Lientaghi, 2004).

Cet arbre développe un système racinaire pivotant, qui peut atteindre 18m de profondeur (Aafi, 1996 ; Gharnit, 2003).



**Figure 1 :** Habitus du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) (Cliché Chabane, 2017).

Les feuilles de *Ceratonia*, de 10 à 20 cm de longueur, sont composées, persistantes, coriaces, alternes et caractérisées par un pétiole sillonné. Elles sont composées de 4 à 10 folioles, avec ou sans foliole terminale. Les folioles ont de 3 à 7 cm de longueur, de forme ovale ou elliptique, opposées, de couleur vert luisant sur la face adaxiale et vert pâle sur la face abaxiale (Rejeb et al., 1991 ; Batlle et Tous, 1997 ; Ait Chitt et al., 2007). Le caroubier perd ses feuilles tous les deux ans, au mois de juillet.

L'arbre est dioïque et parfois hermaphrodite (Chabane et al., 2012) et rarement monoïque (Linskens et Scholten, 1980 ; Batlle et Tous, 1988), dont on distingue trois formes de fleurs (fleurs mâles, fleurs femelles et fleurs hermaphrodites) (Fig. 2) qui sont portées sur différents pieds. Initialement, les fleurs sont bisexuées, mais durant le développement de la fleur (ontogenèse florale), il y a suppression d'un sexe (Rejeb, 1995 ; Konate, 2007).

Les fleurs sont verdâtres, de petite taille (6 à 16 mm de longueur), spiralées et réunies en un grand nombre pour former des grappes droites et axillaires plus courtes que les feuilles à l'aisselle desquelles elles sont développées (Batlle et Tous, 1997). Les fleurs femelles sont constituées d'un pistil court et recourbé avec un petit ovaire (5 à 7mm) bicarpellé.

Les stigmates sont bilobés et couvertes par des papilles. A la base, le disque nectarifère est entouré de 5 à 6 sépales rudimentaires. Par contre, la corolle est absente et les fleurs mâles portent 5 étamines (Aafi, 1996).

La floraison a lieu d'août à Novembre et la maturation à la fin du printemps de l'année suivante (Batlle et Tous, 1997 ; Gharnit, 2003), la pollinisation dépend de l'activité des insectes et du vent (Russo, 1954).

Le fruit du caroubier, appelé caroube ou carouge. C'est une gousse indéhiscente à bord irrégulier, de forme allongée, rectiligne ou courbée, de 10 à 20 cm de longueur, 2 à 3,5 cm de largeur et de 1 à 2,5 cm d'épaisseur. Il est vert puis brun et au moment de la maturité, brun foncé à noir (Fig.3). Le développement du fruit est lent et nécessite généralement entre 9 à 10 mois pour arriver à maturité et donner un fruit brun foncé à noir entre juillet et septembre.

La gousse est composée de trois parties : l'épicarpe, le mésocarpe et les graines, elle est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses transversales et renferme de 4 à 16 graines brunes dont la longueur et la largeur sont respectivement de 8 à 10 mm et de 7 à 8 mm (Rejeb, 1995 ; Batlle et Tous, 1997 ; Ait Chitt et al., 2007 ; Chabane et al., 2012).

La croissance du fruit passe par trois stades (Ilahi et Vardar, 1976 ; Rejeb *et al.*, 1991 ; Battle et Tous, 1997):

- Croissance lente avec une légère augmentation du poids (janvier-avril) ;
- Croissance rapide (avril-juin) ;
- Croissance lente et maturation du fruit (juin-septembre).

Les graines de caroube (Planche II. Fig. c), vu leur uniformité, sont appelées « carats » et ont servi pendant longtemps aux joailliers comme unité de poids pour peser les diamants, les perles et d'autres pierres précieuses (1 carat = 205,3mg) (Rejeb, 1995 ; Battle et Tous, 1997, Dakia, 2003).

Il a une écorce lisse et grise-brune lorsque la plante est jeune puis rugueuse à l'âge adulte. Son bois de couleur rougeâtre est très dur (Boudy, 1950 ; Ait Chitt *et al.*, 2007).



**Figure 2 :** Inflorescence de *Ceratonia siliqua* L. (Cliché Chabane, 2017)

- a- Inflorescence femelle
- b- Inflorescence mâle
- c- Inflorescence hermaphrodite



**Figure 3:** Fruit (gousse et graine) de *Ceratonia siliqua* L. (Cliché Chabane, 2017)

a- Fruit de *Ceratonia siliqua* L. avant maturité

b- Fruit de *Ceratonia siliqua* L. après maturité

c- Graines de *Ceratonia siliqua* L.

## 1.2. Ecologie du caroubier

### 1.2.1. Climat

D'un point de vue écologique, Le caroubier est une espèce typique de la flore méditerranéenne, bien définie dans l'étage humide, subhumide et semi aride. Dont l'aire de répartition s'étend dans les secteurs des hauts plateaux et en moyennes montagnes jusqu'à 1700 m d'altitude, entre les latitudes 30° et 45° au nord (Bassin méditerranéen, Californie et Arizona), et 30° et 40° au sud (Australie, sud d'Afrique et Chili) (Battle et Tous, 1997).

Le caroubier peut être endommagé par des températures basses atteignant -4°C et ne peut survivre à -7°C. En revanche, il peut subir des températures estivales de 40°C accompagnées de vents secs et chauds sans être visiblement affecté (Battle et Tous, 1997).

Notons que pour une maturation complète, les caroubes ont besoin d'une exposition de 5000 à 6000 heures à des températures supérieures à 9°C et donc des températures inférieures peuvent sérieusement affecter la production (Battle et Tous, 1997).

La sécheresse cyclique a révélé que le caroubier résiste mieux au manque d'eau que le chêne vert, le thuya et l'oléastre qui lui sont associés. C'est une essence, très plastique, héliophile, thermophile, très résistante à la sécheresse, car il n'a besoin que de 350mm de pluies annuelles (Coit, 1949 ; Ticho, 1958 ; Crescimanno, 1982).

### 1.2.2. Sols

Le caroubier est indifférent à la nature du substrat, il tolère les sols pauvres, sableux, limoneux lourds, rocaillieux et calcaires, schisteux, gréseux et des pH de 6,2 jusqu'à 8,6, mais il craint les sols acides et très humides (Baum, 1989 ; Zouhair, 1996 ; Sbay et Abrouch, 2006).

Selon Rebour (1971), le caroubier tolère aussi la salinité. Ainsi, Winer (1980) a reporté que la tolérance est liée à la salinité du sol qui est de plus de 3% en NaCl. Il joue un rôle important dans la protection des sols contre la dégradation et l'érosion et dans la lutte contre la désertification (Zouhair, 1996).

### 1.2.3. Cortège floristique

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) croît généralement à l'état disséminé dans l'étage du thuya et du genévrier de Phénicie, dans les peuplements de chêne vert et en association avec *Olea europea* et *Pistacia lentiscus* (Boudy, 1950 ; Rejeb et al. 1991).

En Algérie, il se retrouve dans l'ensemble du pays, relevant essentiellement de l'étage semi-aride et très exceptionnellement de l'étage aride, sous forme de peuplements sauvages ou cultivés. Il est localisé, en association avec l'olivier (*Olea europea*), le chêne vert (*Quercus ilex*), le thuya (*Tetraclinis articulata*) et le lentisque (*Pistacia lentiscus*).

### 1.3. Taxonomie

Scientifiquement, le caroubier a pour nom *Ceratonia siliqua* L. Ce nom dérive du grec *keras* et du latin *siliqua*, faisant allusion à la forme de son fruit qui ressemble à la « corne » de bouc (Bolonos, 1955). Par ailleurs, le nom dialectal *kharouv*, originaire de l'hébreu, a donné lieu à plusieurs dérivés tels *Kharroub* en arabe, *algarrobo* en espagnol, *carroubo* en italien, *caroubier* en français, etc. Il est aussi appelé Carouge, Pain de saint Jean-Baptiste, figuier d'Égypte, fève de Pythagore (Batlle et Tous, 1997).

Cette espèce appartient au genre *Ceratonia*, à la sous-famille des *Caesalpinioideae*, à la famille des *Fabaceae* (Légumineuses), qui fait partie de l'ordre des *Fabales* (Rosales), Classe des *Magnoliopsida* (Tab.1) (Boudy, 1950). C'est l'unique parmi les césalpinées vivant à l'état spontané au sud de l'Europe (Gharmit, 2003). Certains auteurs ont désigné *Ceratonia* comme étant l'un des genres les plus archaïques des légumineuses (Tucker, 1992a) et qui serait complètement isolé des autres genres de sa famille (Zohary, 1973).

La seconde espèce du genre est : *Ceratonia oreothauma* décrite par Hillocot et al., (1980). Il contient selon leurs origines deux sous-espèces distinctes : la sous-espèce *oreothauma* qui est native d'Arabie (Oman) et la sous-espèce *somalensis* qui est native du nord de la Somalie (Batlle et Tous, 1997).

**Tableau 1** : Classification classique et phylogénétique de *Ceratonia siliqua* L. selon le système de Cronquist (1981) et APG II (2003).

Classification pré- phylogénétique Cronquist (1981)		Classification phylogénétique APGII (2003)	
Règne	<i>Plantae</i>	Regnum	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>	Subregnum	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphyte</i>	Phylum	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophyta (Angiosperme)</i>	Subphylum	Eu-Angiospermes
Classe	<i>Magnoliopsida (dicotylédones)</i>	Classis	Eudicotyledones Triaperturées
Sous-classe	<i>Rosidae</i>	Ordo	<i>Rosidés</i>
Ordre	Rosales	Subordo	<i>Rosidés I</i> ((hypogyne dialycarpique)
Famille	<i>Leguminosae</i>	Familia	<i>Fabaceae</i>
Sous-famille	<i>Caesalpinioideae</i>	Subfamilia	<i>Caesalpinioideae</i>
Genre	<i>Ceratonia</i>	Genus	<i>Ceratonia</i>
Espèce	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Species	<i>Ceratonia siliqua</i> L.

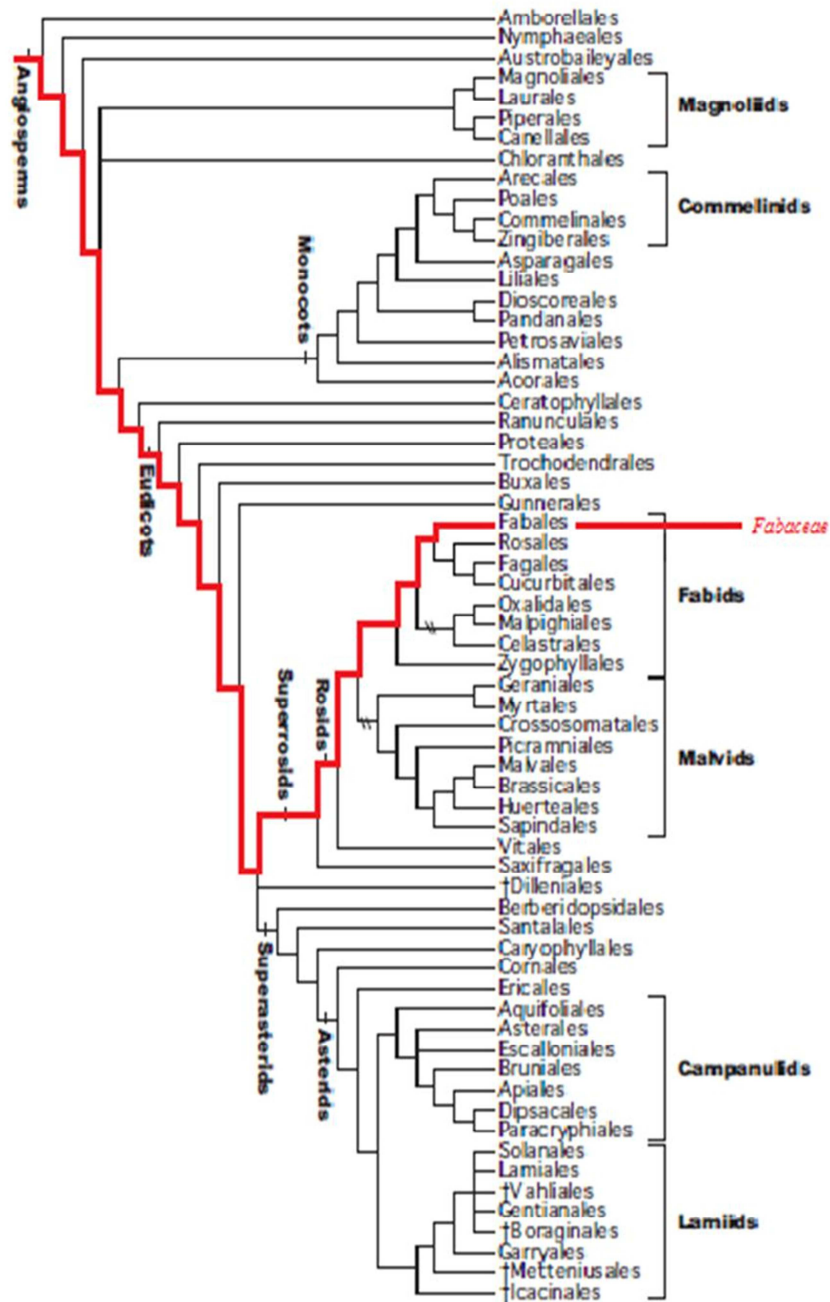


Figure 4 : Classification de APG IV (2016) (Chase et al., 2016).

## 2. Répartition géographique et origine

### 2.1. Répartition géographique du caroubier

L'aire du caroubier est étendue. On le trouve à l'état sauvage, en Turquie, Chypre, Syrie, Liban, Israël, Sud de la Jordanie, Egypte, Arabie, Tunisie et Libye avant d'atteindre l'Ouest de la méditerranéen. Il a été disséminé par les grecs en Grèce et en Italie et par les arabes le long de la côte Nord de l'Afrique, au Sud et à l'Est de l'Espagne. Dès lors, il a été diffusé au Sud du Portugal et au Sud-est de France (Hillocaot et *al.*, 1980).

Le caroubier a été également, introduit avec succès par les espagnols et les anglais dans plusieurs autres pays ayant un climat méditerranéen. C'est le cas en Australie, en Afrique du Sud, aux Etats Unis (Arizona, Californie du Sud), aux Philippines et en Iran (Fig.5) (in Battle et Tous, 1997, Estrada et *al.*, 2006).



**Figure 5 :** Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde (Battle et Tous, 1997)

Généralement, la distribution des espèces arborescentes, telle que *Ceratonia siliqua* est limitée par des stress liés aux froids (Mitrakos, 1981). Dans les zones basses méditerranéennes (0-500m, rarement 900m d'altitude), le caroubier constitue une essence dominante et caractéristique du maquis des arbres sclérophylles (Zohary et Orsham, 1959 ; Folch I Guillen, 1981).

En Algérie, le caroubier est fréquemment cultivé dans l'Atlas Saharien et il est commun dans le tell (Quezel et Santa, 1962). On le trouve à l'état naturel en association avec

l'amandier, *Olea Europea* et *Pistacia Atlantica* dans les étages semi-arides chauds, subhumides et humides, avec une altitude allant de 100m à 1300m dans les vallons frais qui le protègent de la gelée, avec une température de 5°C jusqu'à 20°C et une pluviométrie de 80mm à 600mm/an (Rebour, 1968).

## 2.2. Origine du caroubier

Le lieu d'origine du caroubier demeure problématique. Toutefois, De Candolle (1983) et Vavilov (1951) ont rapporté qu'il serait native de la région Est méditerranéenne (Turquie et Syrie). Par contre, Schweinfurth (1894) a insinué qu'il est originaire des pays montagneux du Sud d'Arabie (Yémen). Tardivement, il a été considéré, par Zohary (1973), comme originaire de la flore d'Indo-Malaisie, groupé avec *Olea*, *Laurus*, *Myrtus* et d'autres plantes.

## 3. Aire de Production

La production mondiale des caroubes est estimée à 310 000 tonnes par an, produites dans une superficie d'environ 210 000 ha (Batlle et Tous, 1997), soit 1,55 tonne/ha. Cette production est concentrée principalement en Espagne, Italie, Portugal, Maroc, Grèce, Chypre, Turquie, Algérie etc....(Tab.2) (Zografakis et Dasenakis, 2002 ; Sbay et Abrouch, 2006 ; Ait Chitt et al., 2007, FAOSTAT, 2010).

**Tableau 2** : production mondiale des gousses et des graines de caroubier en tonnes.

Pays	1997		2007			
	Production	%	Gousses	%	Graines	%
<b>Espagne</b>	300 000	73	90 000	36	9 000	28
<b>Maroc</b>	24 000	6	60 000	24	12 000	38
<b>Italie</b>	19 000	5	25 000	10	2 500	8
<b>Portugal</b>	15 000	4	25 000	10	2 500	8
<b>Grèce</b>	20 000	5	19 000	8	1 900	6
<b>Turquie</b>	14 000	4	14 000	6	1 400	4
<b>Chypre</b>	7 000	2	7 000	3	700	2
<b>Algérie</b>	4 000	1	10 000	4	1 000	3
<b>Liban</b>	3 000	<1	1 000	<1	100	<1
<b>Tunisie</b>	1 000	<1	3 000	<1	300	1
<b>Autres pays</b>	1 000	<1	1 000	<1	100	<1
<b>Total</b>	408 500	100	250 000	100	31 500	100

Source : Données FAO. STAT (FAO, 2011)

Les productions des gousses et des graines dans les différents pays ne sont pas en parallèles, car il existe des différences dans les rendements en graines entre les cultivars et les variétés de type sauvage (Batlle et Tous, 1997). Durant le siècle dernier, la production mondiale de

caroube a connu une chute dramatique, elle est passée de 650.000t en 1945 (Orphanos et Papaconstantinou, 1969) à 205.589 t en 2011. La grande perte a été enregistrée en Espagne où la production a chuté de 364.000 t en 1945 (MAPA, 1994) à 56.000t en 2011. En Algérie, la production de la caroube s'est vue réduite de 83% entre 1961 (24.000 t) et 2011 (4000 t) (FAOSTAT).

La différence en rendement dépend de la récolte, de la région et des pratiques de culture (Makris et Kefalas, 2004). Ainsi, La grande variabilité phénotypique au sein et entre les cultivars a d'importantes implications pour la sélection, la création de nouvelles plantations et l'optimisation de la productivité de cette culture (Batlle et Tous, 1997).

Selon Batlle et Tous (1997), la régression accusée dans la production du caroubier, a été principalement liée à la baisse des prix et aux programmes du développement des zones côtières au dépend des plantations de caroubier.

Dans de nombreux pays arabes, le fruit est utilisé pour préparer des boissons populaires et des confiseries. Dans les pays occidentaux, la poudre de caroube est produite par égrenage des gousses et la caroube concassés ainsi obtenu est enfin grillée et broyée (Yousif & Alghzawi, 2000).

L'Algérie a un important potentiel de production en caroubes, selon la FAO, l'Algérie produit 4000 tonnes par an dont 800 tonnes de graines et 3200 tonnes de gousses par an. Une partie de cette production est exportée, l'autre partie est perdue car elle pousse souvent sur des reliefs accidentés rendant la récolte de la caroube très difficile, ceci explique le taux faible des exportations. Ces dernières années, un travail de sensibilisation et une logistique importante ont été mis en œuvre pour récolter ce produit et l'exporter ou le transformer localement.

#### **4. Composition de la caroube**

La caroube est employée depuis longtemps comme nourriture pour les bétails (Ait Chitt et al., 2007; Manso et al., 2010). Le fruit de caroube contient des glucides sucrés, ainsi que des fibres alimentaires, des tanins et des polyphénols (Papagiannopoulos et al., 2004 , Makris et Kefalas, 2004).

La caroube broyée est traitée industriellement et vendus dans les grands magasins et les marchés locaux comme un substitut du cacao (Yousif et Alghzawi, 2000 ; Kumazawa et al., 2002 ; Ayaz, 2007 ; Bengoechea et al., 2008). Les gousses contient des teneurs élevées en sucre (saccharose, fructose et glucose) et peut être utilisé comme matière première pour la

production des sirops (Petit et Pinilla, 1995) et du saccharose cristallisé (Lafuente, 1961) pour l'industrie alimentaire. La composition chimique de la gousse varie en fonction des cultivars, de l'origine géographique, du temps de la récolte et des facteurs environnementaux (Batlle et Tous, 1997; Owen *et al.*, 2003; Biner *et al.*, 2007). Ainsi, Thomson (1971) a trouvé dans 40 cultivars un taux de sucres de 37 à 62%, des protéines brutes de 2,2 à 6,6%, des fibres brutes de 4,2 à 9,6% et une teneur en cendre de 1.5 à 2.4%. Alors que d'autres auteurs ont rapporté un contenu riche en polyphénols (16-20% essentiellement des tanins) et en fibres alimentaires (jusqu'à 39,8%) (Batlle et Tous, 1997; Yousif et Alghzawi, 2000; Owen *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2005; Biner *et al.*, 2007 ; Youssef *et al.*, 2009).

Avallone *et al.*, (1997), et Bengoechea *et al.*, (2008) ont rapporté des taux élevés en glucides (>50%) avec une faible quantité de protéines (1-2 %) et des teneurs négligeables en matières grasses (0,5-0,7), et environ 18% de cellulose et de l'hémicellulose, et une teneur appréciable en minéraux.

#### 4.1. Sucres

Les gousses de caroube sont caractérisées par une teneur élevée en sucres (environ 500 g/kg) plus élevée que celle présente dans la betterave ou dans la canne (environ 200g/kg) (Petit et Pinilla, 1995). Il est bien connu que le saccharose est le sucre le plus abondant dans la gousse de caroube (Calixto et Canellas, 1982; Gubbuk *et al.*, 2010), suivi par le glucose et le fructose. Les teneurs des autres sucres (xylose, maltose) sont plus faibles et la cellulose et l'hémicellulose représente de l'ordre de 18% (Tab. 3). Cependant, ces proportions varient selon les auteurs (Karkacier et Artik, 1995; Kumazawa *et al.*, 2002 ; Biner, 2007). Ces différences au sein de la littérature sont attribuées à de nombreux facteurs tels l'origine géographique, les conditions climatiques, la diversité entre les variétés, la récolte et le stockage, et les facteurs technologiques tels que l'extraction et les méthodes d'analyse (Owen *et al.*, 2003; Papagiannopoulos *et al.*, 2004).

Par ailleurs, Chabane *et al.*, (2012) ont enregistré des taux élevés en sucres et environ entre 16 à 21 % de cellulose, et des faibles teneur en polyphénols de 0,3 à 1,17%.

**Tableau 3** : Composition chimique de la gousse de *C. siliqua* L. en M.S.

Constituants	Poudre de caroube	Références
Saccharose (%)	65-75	Petit et Pinnila, 1995; Albanell <i>et al.</i> , 1991; Avallone <i>et al.</i> , 1997; Battle et Tous, 1997; Biner <i>et al.</i> , 2007; FAO, 1991; Gubbuk <i>et al.</i> , 2010; Iipumbu <i>et al.</i> , 2008; Yousif et Alghzawi, 2000.
Glucose (%)	1,5-17,4	Avallone <i>et al.</i> , 1997; Battle et Tous, 1997; Biner <i>et al.</i> , 2007; FAO, 1991; Gubbuk <i>et al.</i> , 2010; Iipumbu <i>et al.</i> , 2008.
Fructose (%)	1,8 - 17,9	Avallone <i>et al.</i> , 1997; Battle et Tous, 1997; Biner <i>et al.</i> , 2007; FAO, 1991; Gubbuk <i>et al.</i> , 2010; Iipumbu <i>et al.</i> , 2008
Polyphénols totaux	16-20%	wursh <i>et al.</i> , 1984; Avallone <i>et al.</i> , 1997; Ayaz <i>et al.</i> , 2007; Iipumbu <i>et al.</i> , 2008; Sahin <i>et al.</i> , 2009; Youssef <i>et al.</i> , 2009 ; Battle et Tous, 1997; Gubbuk <i>et al.</i> , 2010
Fibre (%)	7,6- 10,8	Shawakfeh et Ereifej, 2005
Humidité (%)	6 – 16,7	Avallone <i>et al.</i> , 1997; Calixto <i>et al.</i> , 1982; FAO, 1991; Iipumbu <i>et al.</i> , 2008; Yousif et Alghazwi, 2000; Youssef <i>et al.</i> , 2009 ; Chabane <i>et al.</i> , 2012
Cendre (%)	2,7- 6	Albanell <i>et al.</i> , 1991; Bravo <i>et al.</i> , 1994; petit et pinilla, 1995; Avallone <i>et al.</i> , 1997; Battle et Tous, 1997; Iipumbu <i>et al.</i> , 2008; Yousif et Alghzawi <i>et al.</i> , 2000; Shawakfeh et Ereifej, 2005; Youssef <i>et al.</i> , 2009 ; Chabane <i>et al.</i> , 2012
Protéine (%)	3- 7,6	Albanell <i>et al.</i> , 1991; Avallone <i>et al.</i> , 1997; Ayaz <i>et al.</i> , 2007; FAO, 1991; Bravo <i>et al.</i> , 1994; Yousif et Alghzawi, 2000; Shawakfeh et Ereifej, 2005; Iipumbu <i>et al.</i> , 2008; Youssef <i>et al.</i> , 2009

#### 4.2. Polyphénols

Les polyphénols naturels regroupent l'ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques comme l'acide gallique, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tanins (acide tannique) (Dewick, 1995).

Les polyphénols sont présents dans toutes les plantes mais leur nature et teneur varient largement d'une espèce à l'autre, et donc d'un aliment à l'autre (Grolier *et al.*, 2001).

La caroube est une bonne source de polyphénols (16-20%) (Bamforth, 1999; Dewick, 1995).

Cependant, les résultats sont très différents au sein de la littérature, non seulement en fonction des facteurs technologiques tels que les méthodes d'extraction et d'analyse, mais aussi de l'origine géographique, des conditions climatiques, de la récolte et du stockage (Papagiannopoulos *et al.*, 2004 ; Markis et Kefalas, 2004).

Les composés phénoliques que contiennent les caroubes sont à l'origine de leur propriété antioxydante (Hariri *et al.*, 2009).

Kumazawa *et al.* (2002) ont montré que cette activité antioxydante du polyphénol brut de la gousse de caroube est plus élevée par rapport aux composés polyphénoliques authentiques.

Dans ce cadre, Kumazawa *et al.* (2002) montrent que les polyphénols bruts de la gousse ont un effet fort contre la décoloration de  $\beta$ -carotène. En outre, El Hajaji *et al.* (2010) a signalé que les feuilles de caroubier contiennent des quantités élevées en composés polyphénoliques.

#### 4.3. Fibres

Les fibres sont des substances résiduelles, constituées des polysaccharides non amidonnés et se trouvant dans la paroi (cellulose, hémicellulose, pectine, lignine) et dans le cytoplasme des cellules (gomme, par exemple gomme arabique, gomme de guar et gomme de caroube, agaragar, alginate et carraghénanes ...). Les fibres de caroube contiennent une quantité remarquable de tanins condensés et d'autres polyphénols (Owen *et al.*, 2003). La fibre de caroube est un des fibres alimentaires ayant la plus forte teneur en polyphénols (Papagiannopoulos *et al.*, 2004). Certains chercheurs ont rapporté la quantité de fibres comme étant les fibres alimentaires totales (Bravo *et al.*, 1994; Iipumbu *et al.*, 2008) tandis que d'autres l'ont qualifiée des hémicelluloses, des cellulose ou simplement des fibres brutes (FAO, 1991).

En outre, d'autres auteurs ont divisé la teneur en fibres de poudre de caroube en fibres solubles et en fibres insolubles (Bravo *et al.*, 1994) ou en fibres détergentes (Albanell *et al.*, 1991). La quantité de fibres au détergent acide en poudre de caroube se situe entre 24,13% et 49,47%, mais elle est significativement affectée par la variété de caroube (Albanell *et al.*, 1991; Iipumbu *et al.*, 2008). Par conséquent, la différence dans la quantité de fibres rapportés dans la poudre de caroube est très probablement dû aux différentes méthodes appliquées pour calculer les différentes fractions de fibres (Iipumbu *et al.*, 2008).

Chez l'homme, la consommation de fibres de caroube a démontré un pouvoir antioxydant élevé (Kumazawa *et al.*, 2002) et un abaissement du taux de cholestérol et des triglycérides sérique (Zunft, 2003).

#### 4.4. Protéines et lipides

La farine de gousse de caroube broyée contient à peu près 4,45% de protéines: aspartique (acide aspartique + asparagine), alanine, acide glutamique (acide glutamique + glutamine), leucine et valine; ensemble, elles représentent 57% de la teneur en acides aminés total des

gousses (Ayaz, 2007). L'embryon ou la farine de germe est riche en protéine (52% avec une teneur élevée en lysine et arginine) et en carbohydrates (27 %).

La teneur en protéines de la farine de germe de caroube obtenue à partir des graines est plus élevée que celle observée pour les autres haricots comme la féverole (*Vicia faba L.*), pois (*Pisum sativum L.*) et le soja (*Glycine max. Merrill.*). Maza et al. (1989) ont trouvé des valeurs de 48,4% pour la teneur en protéines du germe de caroube (lipides éliminés), tandis que Marcone, Kakuda, et Yada (1998) ont déterminé une teneur en protéines de 18,83% et 34,35% pour les graines de pois et de soja, respectivement. La caroubine est une protéine insoluble dans l'eau isolée à partir d'embryons de caroub. C'est un mélange composé d'un grand nombre de protéines polymérisées de taille différente (Wang et al., 2001, Bengoechea et al., 2008). Certains auteurs (Wang et al., 2001 ; Smith, 2010) indiquent que ce système de protéine possède les mêmes propriétés rhéologiques que le gluten, mais la caroubine a une structure plus ordonnée, avec des changements mineurs dans la structure secondaire lorsqu'elle est hydratée. Il est bien connu que les protéines de germe de caroube ont une composition bien équilibrée en acides aminés (Bengoechea et al., 2008).

Ces protéines pourraient être utilisées comme ingrédients sains dans les aliments nutraceutiques et peut constituer une nouvelle source de nourriture pour les différents secteurs de population. Par ailleurs, la farine de germe est utilisée dans l'alimentation diététique humaine (Dakia et al., 2007) ou comme ingrédient potentiel dans les aliments dérivés des céréales pour les personnes coeliaques (Feillet et Roulland, 1998).

#### **4.5. Cendres**

Selon plusieurs auteurs (Albanell et al., 1991; Avallone et al., 1997; Batlle et Tous, 1997; Bravo et al., 1994; Yousif et Alghzawi., 2000; Iipumbu et al., 2008; Yousef et al., 2009 ; Chabane et al., 2012), la teneur en cendres présentes dans la poudre de caroube variait entre 2% et 6% selon le type de caroube (Avallone et al., 1997; Iipumbu et al., 2008).

#### **4.6. Minéraux**

D'après Ozcan et al. (2007) et Petit et pinilla (1995) la gousse est une bonne source de potassium (802 mg/100g), de calcium (440.05 mg/100g), de sodium (10.1 mg/100g). De même, les oligo-éléments sont présents à des quantités importantes : fer (2.34 mg/100g), magnésium (66.9 mg/100g), de manganèse (0.56 mg/100g), de zinc (0.70 mg/100g), du cuivre (0,62 mg/100g), et du phosphore P (31,58 mg/100g).

#### 4.7. Humidité

La poudre de caroube contient une humidité qui varie selon les auteurs de 6% à 15,6% (Avallone et *al.*, 1997; FAO, 1991; Yousif et Alghazwi, 2000; Iipumbu et *al.*, 2008; Youssef et *al.*, 2009 ; Chabane et *al.*, 2012 ). Batlle et Tous (1997) et Iipumbu et *al.* (2008) ont expliqué que cette variabilité est due aux conditions environnementales (pluie et humidité), aux cultivars de caroubier, à la durée de maturation, au moment de la récolte et à la durée de stockage. (Albanell et *al.*, 1991; Avallone et *al.*, 1997; Iipumbu et *al.*, 2008).

#### 5. Usages du caroubier

Le caroubier est un arbre d'importance écologique, socio-économique, industrielle et ornementale indiscutable. En terme de produits, l'arbre et toutes ses composantes (feuilles, fleurs, fruits, graines, bois, écorce et racine) sont utiles et particulièrement le fruit. Une gamme de produits est dérivée de la caroube à partir des graines et des gousses (Santos et *al.*, 2005) (Tab.4).

En raison de sa rusticité et de son adaptation aux contraintes de l'environnement, le caroubier est souvent utilisé, pour le reboisement et la reforestation des zones affectées par l'érosion et la désertification (Boudy, 1950 ; Rejeb et *al.*, 1991 ; Biner et *al.*, 2007). Il est également utilisé comme plante ornementale en bordure des routes et dans les jardins (Batlle et Tous, 1997).

Le fruit du caroubier ou la caroube, se compose d'une pulpe enveloppant des graines régulières. En effet la pulpe sucrée de la caroube ainsi que les feuilles sont employées depuis longtemps, comme nourriture de bétail à côté d'autres aliments comme la farine d'orge (Baytop, 1984 ; Ait Chitt et *al.*, 2007). Elle est utilisée dans l'industrie alimentaire humaine, grâce à sa teneur élevée en sucres et en composés phénoliques. Elle est également employée pour la production d'alcool (éthanol), d'acide citrique et comme substituant du cacao pour la fabrication de chocolat, car elle ne contient ni caféine ni théobromine (alcaloïdes). La farine de la pulpe entre dans la composition de plusieurs aliments comme, les biscuits, les farines lactées, etc.... (Rejeb et *al.*, 1991; Makris et Kefalas, 2004 ; Dakia et *al.*, 2007).

En pharmacopée traditionnelle, la pulpe, les extraits des feuilles et les racines sont utilisées comme remède anti-diarrhéique (Baytop, 1984) et pour le traitement de certaines maladies comme la gastrite, l'entérite, les angines, les rhumes, le cancer etc.... (Crosi et *al.*, 2002; Gharnit, 2003 ; Ait Chitt et *al.*, 2007). Les extraits foliaires ont été également désignés comme étant porteurs des activités cytotoxiques et antimicrobiennes (Kivçak et Mart, 2002).

Tous les constituants de la graine du caroubier (tégument, endosperme et cotylédon), jouent un rôle industriel et médical important, mais la gomme (endosperme) reste la plus importante, puisqu'elle est utilisée, comme agent stabilisateur, gélifiant, fixateur dans différents domaines comme l'agroalimentaire (fromage, mayonnaise, salades, etc...), le domaine des cosmétiques (crèmes, dentifrices, etc...), l'industrie pharmaceutique (médicaments, sirops etc...), la tannerie et le textile etc... (Battle et Tous, 1997 ; Biner et *al.*, 2007 ; Dakia et *al.*, 2007). Les fleurs du caroubier sont très riches en nectar, elles ont une grande valeur dans l'apiculture, particulièrement en automne (la saison de leur floraison) (Baytop, 1984 ; Ortiz et *al.*, 1996).

L'écorce et les racines sont utilisées en tannerie, particulièrement dans l'achèvement et l'émaillage des peaux (Battle, 1997).

Le bois du caroubier, dur de couleur rouge, est estimé dans la charbonnerie et la menuiserie (Rejeb et *al.*, 1991 ; Gharnit, 2003).

**Tableau 4** : Principaux produits dérivés de la graine de caroube et leurs applications.

Applications	Dérivés	Produits	Références
Alimentaire	Gomme de graines de caroube purifiée (GGC) (ou poudre d'endosperme purifié)	<b>Endosperme</b>	
		E410 : Additif alimentaire en industrie agroalimentaire (agent gélifiant, Liant, agent d'adhésion..)	Battle et Tous, 1997; Gonçalves et <i>al.</i> , 2005
Industrielle	GGC de moindre pureté	Pharmaceutiques (pommade, anticoagulant..) Cosmétiques (Mousses, gels...) Textiles (Epaississant de couleurs Papier (produits de flottaison, épaississant) Chimiques (couleurs, pesticides) Des explosifs (agent absorbant de l'humidité)	Calixto et Canellas, 1982; Sandolo et <i>al.</i> , 2007
<b>Germe</b>			
Médicinale	Farine de germe	L'alimentation diététique humaine (couper la sensation de faim lors des régimes pour mincir en bonne santé) Farine de germe Ingrédient potentiel dans les aliments dérivés des céréales pour les personnes coeliaques.	Dakia et <i>al.</i> , 2007 Feillet et Roulland, 1998

## 6. Effets indésirables des produits de caroube

Les fibres de caroube utilisées pour épaissir les préparations des nourrissons peuvent réduire la disponibilité des minéraux tels que le calcium et le fer (Bosscher, 2001). En ce qui concerne le germe de graine de caroube, certains chercheurs affirment que des extraits de germe de graine de caroube ont été trouvés pour diminuer l'activité trypsique (Filioglou et Alexis, 1987) et la digestibilité des protéines (Filioglou et Alexis, 1989). Toutefois, les substances antinutritives, comme les inhibiteurs de la trypsine, généralement contenue dans les graines des légumineuses (Weder, 1986) peuvent être désactivée par chauffage.

Selon Martinez-Herrera et *al.*, (2006), un traitement à 121°C pendant 25 minutes de la farine du germe de caroube est adaptés aux denrées et aux produits alimentaires des animaux. De même l'utilisation de la caroube entière dans la consommation humaine est limitée en raison du niveau élevé de tanins provoquant son astringence limitée (Bate-Smith, 1973; Karkacier et Artik, 1995). Le germe de graine de caroube contient également des tanins qui pourraient créer des problèmes de palatabilité en raison de leur goût astringent, et pourrait également réduire la digestibilité des aliments. Il a été suggéré que la digestibilité des protéines est réduite par des tannins, soit par liaison directe à certaines parties de la molécule ou par l'inhibition non compétitive des enzymes digestives (Filioglou et Alexis, 1989).

## 7. Procédés de régénération du caroubier

La multiplication du caroubier peut se faire par semis, bouturage, greffage, marcottage, ou par micropropagation. Le semis est la méthode classique la plus utilisée pour la multiplication du caroubier. En effet la germination par semis est facilement réalisable, mais elle est entravée par l'impossibilité de connaître le sexe de la plante avant la maturation et la production tardive, qui peut prendre plus de 8 ans (Rejeb, 1995 ; Gharnit, 2003). Le bouturage est moins utilisé, car il demande des soins très minutieux et une température édaphique élevée (Rejeb, 1995).

Le greffage consiste à greffer les pieds mâles par les femelles, il s'agit de transférer les bourgeons prélevés sur des pieds femelles et de les greffer sur des pieds mâles. Les 1<sup>ers</sup> rameaux apparaissent au bout de la 3<sup>ème</sup> semaine. Cette méthode permet aux arbres mâles de donner des fruits à partir de la troisième année, de produire des races garantissant la fructification et la préservation de la conformité des caractères sélectionnés chez la plante mère (Gharnit, 2003 ; Ait Chill et *al.*, 2007).

La micropropagation ou la culture *in vitro* du caroubier est une technique prometteuse, qui permet d'obtenir une plante conforme à la plante d'origine, elle a été réalisée à partir de plantules et de plantes adultes (Sebastian et Mc Comb, 1986 ; Batlle et Tous, 1997).

## **8. Constitution de la graine de caroubier**

La graine est composée essentiellement d'antioxydants et de polysaccharides. Elle est utilisée depuis l'antiquité comme mesure des pierres précieuses et semble également, avoir été utilisée par les pharmaciens pour peser leurs ingrédients (le carat) (Battle, 1997). Les graines de caroube sont constituées de trois différentes parties mais fortement liées. Il s'agit, de l'extérieur vers l'intérieur, une enveloppe (cuticule marronne, 30-33%), un endosperme (blanc et translucide, 42-46%) un embryon ou un germe (23-25%) (Andrade et *al.*, 1999; Neukom, 1988; Gharnit, 2006).

### **8.1. Cuticule**

La cuticule ou l'enveloppe contient des antioxydants (Batista et *al.*, 1996). Ces antioxydants naturels n'est autre que les polyphénols naturellement présentes dans l'enveloppe de la graine, qui sont valorisables dans l'industrie alimentaire (Makris et Kefalas, 2004).

### **8.2. Endosperme**

La partie la plus intéressante de la graine de caroube est l'endosperme qui est constitué de 2 téguments enrobant un germe (Fig.6). Sa composition chimique est pauvre en minéraux en fibres et en protéines. Par contre elle contient une quantité appréciable de lipides (Bouzouita et *al.*, 2007).

Cette partie de la graine est obtenue par décorticage afin de séparer les enveloppes et le germe des graines. Une fois broyés, les téguments donnent la gomme de caroube non purifiée (Martindale, 1989).



**Figure 6 :** Graines de caroube décortiquées et séparées.

### 8.3. Germes

La farine de germes est très riche en protéines (50%), en glucides (27%). Elle est principalement utilisée dans les aliments pour les enfants (Lizardo et *al.*, 2002). Elle est également utilisée dans l'alimentation diététique humaine (Dakia et *al.*, 2007) ou comme ingrédient potentiel dans les aliments dérivés des céréales pour les personnes coeliaques (Feillet et Roulland, 1998).

### 9. Germination des graines de caroubier

D'après Goor et Barney (1968) et Hong et *al.*, (1996), les graines de caroubier peuvent se maintenir intactes, pendant plusieurs années et à basse température, il serait judicieux d'utiliser celles provenant de la dernière récolte et de semer très tôt, au début du printemps. Les graines sont dotées d'une enveloppe tégumentaire épaisse et dure, ce qui nécessite une scarification préalable pour faciliter la germination. Un prétraitement avec de l'eau bouillante, l'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) ou l'acide gebberelline ( $AG_3$ ) peut améliorer considérablement le taux de germination (Batlle et Tous, 1997). Avec l'acide sulfurique, le résultat de la germination est spectaculaire (Frutos, 1988), mais la durée de scarification est variable en fonction des cultivars et des provenances des graines (Konate, 2001).

#### 10. Notion de polymorphisme chez le caroubier

Dans son document intitulé la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Quezel et Santa (1962) donne la clé de détermination suivante du caroubier:

- Arbre de 5-15 m feuilles paripennées à 2-5 paires de folioles coriaces, vert foncé et luisantes au dessus, ovales, entières, grandes (2-5 x 1.5-4 cm).
- Grappes axillaires ou fasciculées sur le vieux bois, multiflores, courtes (1-3 cm), les une mâles, les autres femelles, 5 sépales, 5 étamines.
- Gousses grandes (8-15 x 2-2.5 cm), brunâtres, pendantes, à 12-16 graines brunes et ovoïdes.

Dans notre cas, nous avons remarqué que sur le taxon étudié le nombre de folioles est au nombre impair (9 folioles de 6.4-7.6 x 4.8-5.2 cm) (Fig.7) et qu'il s'agit d'un sujet hermaphrodite. Le caroubier est une espèce plastique dans sa sexualité. Les individus dioïques sont les plus répandus, mais les génotypes hermaphrodites ou polygames (typiquement avec masculin et hermaphrodite les fleurs dans la même inflorescence) sont occasionnellement rencontrés dans les populations naturelles et dans les populations cultivées (Caruso et *al.*, 2008).



**Figure 7** : polymorphisme foliaire (Folioles au nombre impaires) de *Ceratonia siliqua* L.  
(Cliché Chabane, 2017).

Le polymorphisme est une caractéristique souvent étudiée en biologie. Que ce soit pour différencier des populations d'organismes, cibler des populations naturelles pour en apprécier les relations et donc les distances génétiques ou déterminer l'écotype (Bertheau *et al.*, 1993). Les critères utilisés peuvent être phénotypiques, biochimiques (capacité à utiliser un substrat, information d'une enzyme) ou moléculaires (Konate, 2007).

Mouton (1966), a caractérisé les phénomènes de polymorphisme et d'hétérophyllie comme étant des difficultés qui surmontent l'étude de la systématique foliaire.

Il définit le polymorphisme comme une propriété à l'espèce d'avoir différents types morphologiques, ce qui est rare chez les arbres (toutes les feuilles d'un même arbre ont la même physionomie).

Cependant, il attribue les différentes formes de polymorphisme foliaire à deux cas :

- Ecotypes, variétés.
- Variation suivant la strate de végétation (hauteur et l'âge de l'arbre).

#### **10.1. Polymorphisme phénotypique**

Les caractéristiques phénotypiques constituent un outil incontournable dans la classification et la taxonomie des micro et macro organismes et continue, à nos jours, d'être utilisée (Stuessy, 1990). Elles servent entre autre à repérer d'éventuelle contamination ou encore d'étiquetage ultérieur.

Les caractères morphologiques sont très importants et révèlent de la caractérisation. Ils sont généralement quantitatifs et ont un déterminisme mono et polygénique. Toutefois, ils peuvent être influencés par des facteurs environnementaux et comprennent d'une part des mesures biométriques portant sur la plante (taille et forme des gousses, des feuilles, longueur d'inflorescence, nombre de fleurs, etc....) et d'autre part des données qualitatives comme la couleur des gousses, le taux de graines (Batlle et Tous, 1997 ; Gharnit *et al.*, 2004).

L'analyse de diverses données morphologiques permet d'identifier et de caractériser des groupes de diversité et de préciser leur constitution. Cette description a été utilisée pour caractériser les types sauvages et cultivés du caroubier (Crossa-Raynaud, 1960 ; Navaro, 1992 ; Tous *et al.*, 1996). Par ailleurs, les traits liés à la taille d'inflorescence et au nombre de fleurs par inflorescence, qui sont indépendants des conditions environnementales, ont servi d'outils, dans plusieurs pays, pour caractériser et étiqueter les pieds mâles et femelles du caroubier (Linskens et Scholten, 1980 ; Retana *et al.*, 1994; Gharnit *et al.*, 2004).

## 10.2. Polymorphisme biochimique

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

On peut citer en premier lieu, la recherche de composés synthétisés lors d'un stress hydrique (Rejeb et al., 1991; Ledoigh et Courdert, 1992). De composés de métabolisme secondaire (flavone, polyphénol, terpène) ont été trouvés chez *Triticum*, *Aegilops* et *Ceratonia* (Cooper et al., 1994; Min et Hart, 2003; Makris et Kefalas, 2004). En second lieu, il y a des protéines possédant des propriétés amphotères et qui peuvent être séparées par électrophorèse sur gel. Différentes méthodes d'électrophorèse sont utilisées selon l'espèce: les protéines de réserve, les isozymes ou les empreintes protéiques (Weber et Wirke, 1994).

Les protéines de réserve de graine (gliadines, glutenines) sont facilement séparées par électrophorèse mono-dimensionnelle sur gel de polysaccharide. Souvent polymorphes, elles se sont avérées un moyen rapide d'identification de diverses espèces ou cultivars, en particulier chez les plantes céréalières (Metakostvsky et Baboer, 1992). Une autre technique, permettant de séparer les protéines totales par électrophorèse bi-dimensionnelle après dénaturation, a été mise au point par O'Farrell (1975). La première migration s'effectue sur un gradient de pH (électrofocalisation) induisant la séparation des protéines selon leur point isoélectrique et la seconde favorise la séparation des protéines selon leur poids moléculaire en présence d'agents dénaturants (SDS et  $\beta$ -mercaptoéthanol) (Pernès, 1984). Cette dernière méthode est lourde et coûteuse d'où rarement utilisée pour les études de diversité; mais plutôt complément des techniques moléculaires pour cartographier des gènes de structure exprimés et traduits dans un organe donné (De Vienne et al., 1995; dans Belkadi, 2003).

Les isozymes sont l'ensemble de multifformes, d'une même enzyme résultant génétiquement de différences dans la structure primaire, issues de même organisme. Les échantillons sont déposés sur un gel d'amidon (support poreux) et grâce à un tampon chimique, la migration s'effectue sous l'action d'un champ électrique, et les enzymes, étant chargées négativement, vont migrer vers le pôle positif. Ainsi, les différentes molécules sont

séparées selon leur charge et secondairement selon leur poids moléculaire. Ces isozymes ont les mêmes propriétés catalytiques induisant, après l'addition d'un substrat spécifique naturel ou artificiel, l'apparition d'un produit terminal coloré (visible) et insoluble (Westman et Kresovich, 1997).

Ces marqueurs, bien qu'ils soient co-dominant, sont accusés d'une sous estimation du polymorphisme réel, seule la partie codant est détectable (Gottlieb, 1977). Les marqueurs enzymatiques ont été utilisés afin de caractériser et comparer le caroubier de types sauvages et cultivars issus de différentes (Tous et *al.*, 1992; Batlle et *al.*, 1996) ou de mêmes origines (Barracosa et *al.*, 1996). Vu le faible niveau du polymorphisme révélé par les marqueurs biochimiques et sa variabilité en fonction des conditions environnementales, il est souvent nécessaire d'utiliser les marqueurs moléculaires pour compléter l'évaluation et l'étiquetage des ressources génétiques.

*Chapitre II* \_\_\_\_\_

*Usages et valorisation des espèces à caractères  
fourragères: cas des légumineuses*

La forêt méditerranéenne qui couvre 65 millions d'hectares (Tolera, 1997), est caractérisée par sa flore typique. La forêt algérienne qui appartient à cet ensemble, présente un élément essentiel de l'équilibre écologique, climatique et socio-économique de différentes régions du pays (Berchiche, 1986).

La partie nord de l'Algérie est constituée par des terres à vocation forestière qui occupent 250 000 km<sup>2</sup>, soit un peu plus de 10% de la superficie totale, les conditions pédoclimatiques étant favorables au développement des forêts (Ouelmouhoub, 2005). Ces dernières produisent des ressources végétales qui peuvent constituer un pâturage pour les animaux : herbe, fruits, feuilles d'arbres et d'arbustes. D'ailleurs, le recours à ces arbres et arbustes fourragers est une pratique ancienne bien connue des éleveurs. Ce type de fourrage constitue en effet une partie importante et souvent indispensable dans l'alimentation du bétail dans les pays en voie de développement.

L'Algérie connaît un déficit fourrager important dû à la dégradation des parcours. Pour remédier à ce déficit, La plantation d'arbustes fourragers constitue une ressource renouvelable qui peut fournir une biomasse sur pied régulière tout au long de l'année, comme elle peut constituer un investissement à moyen et à long terme, vue les prix élevés des fourrages et des aliments concentrés (Mebirouk et al., 2014).

## 1. Les légumineuses

### 1.1. Présentation générale des légumineuses

La famille des légumineuses est très diverse avec 3 sous familles: Mimosoideae, Caesalpinioideae, et Papilionoideae (Doyle et Luckow 2003) et compte environ 20.000 espèces (Gepts et al. 2005).

Les légumineuses sont cultivées principalement comme source de protéines pour la consommation humaine (haricot, pois, fève,...) ou l'alimentation animale (soja, luzerne,...) grâce à la fixation symbiotique de l'azote. Elles sont aussi une source importante d'huiles végétales (arachide) et de bois de qualité (bois de rose, ébène).

Les légumineuses à graines constituent toujours une part importante de l'alimentation du monde, particulièrement dans les Pays en Développement où elles sont la principale source de protéines pour l'homme. Citons le Haricot (*Phaseolus vulgaris*) en Amérique Latine, le Pois Chiche (*Cicer arietinum*), la lentille (*Lens culinaris*) et la Fève (*Vicia faba*) dans le bassin

méditerranéen, le Soja (*Glycine max*) en Asie sans oublier l'Arachide (*Arachis hypogea*) et le Pois (*Pisum sativum*) dans le monde entier (Lazrek - Ben friha, 2008).

Les graines de légumineuses sont plus riches en protéines et moins riches en glucides que celles de céréales (Tab.5): on distingue les espèces à graines riches en protéines et en huile, sans amidon, classées comme oléagineux (soja, arachide) et les espèces à graines riches en protéines, classées comme protéagineux (pois, féverole) ou légumes secs (haricot, lentille, pois chiche).

**Tableau 5:** Composition des réserves de quelques graines d'espèces cultivées. (Bewley et Black, 1994)

Céréales	Composition moyenne en %		
	Protéines	Huiles	Carbohydrates (amidon)
Orge	12	3	76
Maïs	10	5	80
Avoine	13	8	66
Seigle	12	2	76
Blé	12	2	75
<b>Légumineuses</b>			
Haricot	23	1	56
Petit pois	25	6	52
Arachide	31	48	12
Soja	37	17	26

Les légumineuses fourragères sont une autre source de protéines pour l'alimentation du bétail (luzerne, trèfle) soit sous la forme de foin ou bien consommées dans les prairies ou les parcours, la luzerne représente le fourrage le plus répandu dans les zones à climat tempéré (Russelle, 2001), l'avoine, le pois fourrager et l'orge. Ce dernier est composé de 85,7% de matière sèche, 9,4% de matière azoté totale, 2,1% de matières grasses, 3,9% de cellulose et 2,5 % de matières minérales (Puccini, 1965).

La valeur nutritionnelle du caroubier est considérée similaire à celle de la plupart des céréales et des légumineuses, elle est comparable à l'orge et supérieure à l'avoine (Bailey, 1947 ; Coit 1962; NAS 1979).

## 1.2. Principales caractéristiques des légumineuses

### 1.2.1. Intérêt de la fixation symbiotique d'azote

La déficience d'azote minéral dans le sol constitue un facteur limitant de la croissance des plantes. On estime que la réduction biologique de l'azote atmosphérique N<sub>2</sub> en ammonium fournit environ 65% de l'azote disponible dans la biosphère (Lodwig et al., 2003).

La majorité de cet azote est apporté par la symbiose Rhizobium-légumineuses (Zahran, 1999a), avec un apport annuel d'azote dans les terres estimé de 200–300 kg N ha<sup>-1</sup> (Peoples et al., 1995).

Pour les 3 plus importants céréales cultivées: blé, riz et maïs, il est nécessaire de prélever entre 20 et 40 kg N ha<sup>-1</sup> du sol dans une période de culture de 3 à 5 mois pour chaque tonne de graines produit (Peoples et al., 1995).

Selon Danso (1995), l'azote de la fixation symbiotique a une contribution plus importante pour la croissance des plantes par rapport à celui des engrais azotés appliqués dans l'agriculture des pays en développement. L'azote fixé dans l'atmosphère contribue pour 50 à 60 % du N des légumineuses à graines, 55 à 60 % du N des arbres fixateurs d'azote, 70 à 80% du N des légumineuses fourragères.

Cette réserve d'azote, étant stockée dans les feuilles, les nodules ou bien les autres organes, reste plus longtemps disponible dans les sols comparativement à l'azote minéral fortement lessivé par les eaux.

Malgré son appartenance aux légumineuses, le caroubier a suscité des débats et des positions divergentes en ce qui concerne son rapport avec les rhizobiums. Il a été considéré par Martins-Loução et Rodriguez-Barrouceco (1982), Martins-Loução (1985) et Martins-Loução et al., (1996b) non nodulable par rhizobia, donc incapable de fixer en symbiose l'azote atmosphérique. Par contre, Missbah et al., (1996) ont rapporté sa nodulation, en caractérisant phénotypiquement les rhizobiums isolés à partir des nodosités racinaires des plantes natives de la région d'Oujda. Dans la même période, Bryan et al., (1996) ont rapporté la détection de l'activité de la nitrogénase dans les racines et bourgeons du caroubier. Récemment, il a été affirmativement révélé susceptible d'abriter des bactéries endophytes au niveau des tissus racinaires et même épicyotylaires (Konate, 2001).

### 1.2.2. Métabolites secondaires

Les légumineuses constituent une source d'éléments minéraux essentiels requis pour l'alimentation humaine (Sandberg, 2002) et de métabolites secondaires comme les isoflavonoïdes bénéfiques pour la santé qui peuvent prévenir contre les cancers chez l'Homme (Messina, 1999) et d'autres comme les phénylpropanoïdes ayant un rôle défensif pour les plantes contre les attaques de pathogènes et d'insectes (Dixon et al., 2002; Ndakidemi et Dakora 2003).

Les légumineuses sont connues par leur effet de réduction du cholestérol dans le sang (Messina, 1999), leur effet hypoglycémiant, et elles réduisent l'augmentation de la pression du sang après la prise de repas (Messina, 1999). Par contre, certaines légumineuses produisent des facteurs anti-nutritionnels comme des inhibiteurs de la Trypsine (enzyme digestive), des phytohématagglutinines, et des allergènes (cas de l'arachide) (Messina, 1999).

### 1.2.3. Haute teneur en protéines

Dans l'alimentation humaine, les légumineuses et les céréales constituent deux sources de protéines complémentaires. En effet les protéines provenant des céréales sont déficientes en Lysine, et les légumineuses à graines sont déficientes en acides aminés sulfurés et en tryptophane (Wang *et al.*, 2013). C'est pour cette raison que dans la majorité des centres de domestication, les légumineuses et les céréales ont été associées (Gepts, 2004). Graham et Vance (2003) estiment que les légumineuses fournissent pour l'Homme environ le 1/3 des protéines alimentaires.

Pour le cheptel, les légumineuses fourragères représentent une source d'alimentation riche en protéines, fibres et énergie. Elles sont à la base de la production de lait et de viande (Russelle, 2001). La luzerne (*Medicago sativa*) représente le fourrage le plus répandu dans les zones à climat tempéré (Russelle, 2001). Cette plante apporte de nombreux éléments à la ration donnée aux animaux. Elle leur fournit d'abord une part importante des protéines nécessaires à leur croissance, de la Bétacarotène et des fibres indispensables à la digestion chez le ruminant.

D'autres espèces sont aussi importantes pour le pâturage dans les zones tempérées comme les trèfles (*Trifolium* spp.), le lotier (*Lotus corniculatus*), le melilot (*Melilotus* spp.) et la vesce (*Vicia* spp.). Elles sont largement représentées autour du Bassin Méditerranéen.

Certaines de ces espèces peuvent jouer un rôle important dans l'amélioration de la production pastorale et/ou fourragère. *Lotus creticus* présente une bonne résistance au sel et peut supporter les eaux saumâtres (Foury, 1954).

### 1.2.4. Importance des légumineuses dans les systèmes de culture

Utilisées en rotation ou en association dans les systèmes de culture, les légumineuses apportent une certaine contribution en azote en fixant et en intégrant une partie de l'azote atmosphérique. Les résidus des légumineuses sont plus riches en azote et contribuent à enrichir le sol en cet élément. Les cultures succédant aux légumineuses peuvent aussi

bénéficier indirectement de l'azote fixé par l'entremise des résidus laissés par la légumineuse (Chalck, 1998).

Il est maintenant bien établi que les précédentes légumineuses augmentent généralement les rendements des cultures non fixatrices d'azote mais cet apport d'azote atmosphérique n'explique pas toujours les rendements souvent très élevés des cultures succédant aux légumineuses. D'autres effets bénéfiques des légumineuses semblent intervenir dans l'accroissement des rendements et certains auteurs comme Chalck (1998) préfèrent le terme 'effet rotation' pour désigner cet effet positif des légumineuses sur la culture suivante.

Certains auteurs attribuent l'effet bénéfique des rotations à l'amélioration des propriétés physiques et biologiques des sols et à la capacité de quelques légumineuses à solubiliser des phosphates de calcium et le phosphore par leurs exsudats racinaires.

#### **1.2.5. Importance écologique du Caroubier**

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est une espèce agro-sylvo-pastorale ayant d'énormes intérêts socio-économiques et écologiques, grâce à son aptitude à développer différentes stratégies d'adaptation aux contraintes hydriques (Saidi et al., 2007). Ainsi, Il peut être utilisé dans le reboisement des zones arides et dégradées, comme étant une ressource précieuse de reforestation pour gérer l'érosion sur les terres marginales non adaptés à d'autres espèces agricoles (sols pauvres et salins et résistant à la sécheresse), pour limiter contre la propagation des incendies (Barracosa et al., 2007), comme plante ornementale en bordure des routes et dans les jardins (Batlle et Tous, 1997) et comme brise-vent compte tenu de sa couronne sphérique, et de son feuillage (Winer, 1980; Yousif et Alghzawi, 2000; Sidina et al., 2009).

#### **1.2.6. Importance économique du Caroubier**

Le caroubier est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers les plus performants puisque toutes ses parties (feuilles, fleurs, fruits, bois, écorces et racines) sont utiles et ont des valeurs dans plusieurs domaines (Aafi, 1996). Ainsi, il pourrait constituer des plantations de choix dans les programmes réguliers de reboisement pour assurer un développement durable des zones rurales et à l'économie de montagne (Rejeb, 1995; Batlle et Tous, 1997).

En fait, la culture du Caroubier et l'industrialisation de ses produits ont connu un développement remarquable en raison des multiples utilisations de ses graines en industrie agro-alimentaire (amélioration de la texture des aliments), diététiques, pharmaceutique, cosmétique et en d'autres applications (Correia et Martins-Loucao, 1995, 2005). La gomme de caroube obtenue à partir des graines de gousses est d'une grande importance dans

l'industrie alimentaire (Gonçalves et *al.*, 2005). Selon des études récentes, la caroube est une source de bon marché d'hydrates de carbone actuellement explorées comme matériaux pour la production de bioéthanol, avec plusieurs avantages par rapport à d'autres cultures agricoles riches en sucre (Vourdoubas et *al.*, 2002 ; Sanchez et *al.*, 2010 ; Turhan et *al.*, 2010).

Par ailleurs, ses gousses utilisées en industrie alimentaire et pharmacologique sont plus riches en sucre que la canne à sucre et la betterave sucrière (NAS, 1979; Batlle, 1997; Markis et Kefalas, 2004). Le bois du caroube est très apprécié en ébénisterie et pour la fabrication du charbon. L'écorce et les racines sont employées dans le tannage.

## **2. Situation des fourrages en Algérie**

De tout temps, l'élevage en Algérie a gardé un caractère traditionnel, basé avant tout sur le nomadisme et l'exploitation des ressources naturelles de la steppe, des parcours des hauts plateaux et de la jachère pâturée (Carter 1975).

L'Algérie connaît un déficit fourrager important dû à la dégradation des parcours. Pour remédier à ce déficit, La plantation d'arbres et d'arbustes fourragers constitue une ressource renouvelable qui peut fournir une biomasse sur pied régulière tout au long de l'année, comme elle peut constituer un investissement à moyen et à long terme, vue les prix élevés des fourrages et des aliments concentrés (Mebirouk et *al.*, 2014).

L'utilisation d'arbres et d'arbustes fourragers représente un moyen potentiel pour augmenter la qualité et la disponibilité des ressources alimentaires pour le bétail, surtout pendant la saison sèche. Les espèces ligneuses indigènes fournissent du fourrage vert pour les animaux durant des périodes de l'année où l'herbe et les espèces herbacées ont de faibles valeurs nutritives (Aregawi et *al.*, 2008).

### **2.1. Les ressources fourragères en Algérie**

En Algérie la production des fourrages est marginalisée, tant du point de vue des surfaces qu'elle occupe que dans sa diversité et sa productivité (Tab.6). Ce potentiel fourrager est structuré autour de quatre ensembles d'inégale importance (Adem et Ferrah, 2002).

Les terres consacrées à la production fourragère s'étendent sur environ 33 millions d'hectares répartis entre les prairies naturelles (0,1 %), les cultures fourragères (1,6 %, 1 000 UF/ha en moyenne), la jachère (10,6%, 100 à 250 UF/ha) et les pacages et parcours (87,7 %, 100 UF/ha en moyenne) (MADR, 2003 ; CIHEAM, 2010).

**Tableau 6** : Ressources fourragères en Algérie (Ziani, 2002).

Sources fourragères	Superficie (ha)	Productivité (UF/ha)	Observations
Parcours steppiques	15 à 10 millions	100	Plus au moins dégradées
Les forêts	Plus de 3 millions	150	-
Chaumes de céréales	Moins de 3 millions	300	Nécessité d'amélioration de la qualité des chaumes
Jachères pâturées	Moins de 2 millions	250	Nécessité d'orienter la végétation
Fourrages cultivées	Moins de 500 000	1000 à 1200	Orge, avoine, luzerne, trèfle, le sorgho et vesce-avoine
Prairies permanentes	Moins de 300 000	-	Nécessité d'une prise en charge.

L'Algérie disposait en 2001 de 8 milliards d'UF, issues principalement des zones céréalières (52 %) et des parcours steppiques (44 %). Les chaumes et les pailles contribuent pour 37 % dans l'offre fourragère globale. Ces données témoignent, du caractère extensif de la production fourragère en Algérie (Adem et Ferrah, 2002). Il est attesté par une prépondérance de la vesce avoine utilisée majoritairement comme foin dans l'alimentation du bétail.

Le déficit fourrager reste encore très accentué, malgré les efforts récents dans l'argumentation de la surface irrigués à environ 600 000 ha (Kazi Tani, 2014). Les importations des aliments du bétail par l'Algérie semblaient être un moyen palliatif pour endiguer ce problème mais les prix mondiaux de ces intrants alimentaires ont augmenté au cours de ces dernières années ; les experts de l'aliment du bétail prédisent même des insuffisances pour les exportations du tourteau de soja et du maïs pour les années à venir, en raison de certains effets conjoncturels, entre autre le développement des biocarburants. Les quantités des matières importées, ainsi que les sommes versées par l'Etat ont considérablement augmenté en valeur de 2000 à 2007, passant de  $2 \times 10^9$  kg en 2000 à  $3 \times 10^9$  kg en 2007 pour 328 millions de USD en 2000, puis 750,6 millions de USD en 2007 (CNIS, 2008 ; Kali et al., 2011).

En vue du développement du secteur agro-alimentaire et la recherche des éleveurs d'un coût alimentaire réduit, le recours à la valorisation de ressources fourragères marginalisées et la recherche de sources alternatives susceptibles de combler ce déficit semblent être l'une des priorités du secteur (Chentli, 2015).

## 2.2. Caractéristiques nutritionnelles des arbustes fourragers

Comme toutes les espèces végétales destinées à l'alimentation animale, la quantité d'éléments nutritifs (énergie, protéines, vitamines, minéraux ...) par l'animal dépend de plusieurs facteurs:

- La composition chimique de l'arbuste, elle même influencée par l'espèce, le stade de développement, les conditions agronomiques et le climat;
- La digestibilité qui dépend directement de la nature chimique de l'arbuste, de la quantité ingérée et de la ration complémentaire;
- L'utilisation métabolique des éléments digérés qui est surtout fonction de l'animal et de son stade physiologique (Nefzaoui et Chermiti, 1991; Aufrere et *al.*, 2012).

La valeur nutritive de tout fourrage en général, et des arbustes en particulier dépend essentiellement de leur teneur en matières azotées totales, en fibres et en Minéraux (Otsyina et *al.*, 1999).

Durant la saison sèche, les feuilles et fruits arbustifs sont souvent plus riches en protéines, en minéraux et en NDF que les plantes herbacées disponibles. Ils fournissent des compléments importants pour les ruminants durant cette période de l'année (Oppong et *al.*, 2008).

## 3. Usage et valorisation des espèces fourragères : cas du *Ceratonia siliqua* L.

Les arbres fourragers indigènes sont très appréciés par les éleveurs qui les protègent, leur valeur nutritive notamment en protéines et en sels minéraux déjà connue empiriquement a été confirmée par les analyses, leur apport de fourrage pendant la saison sèche est souvent indispensable à la survie troupeau, il paraît donc logique de vouloir les réintroduire là où une exploitation excessive les a fait disparaître. Citons le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) une espèce pastorale, la valeur fourragère de ses feuilles et de ses fruits est respectivement de 0,29 et de 1,15 unité fourragère par kilogramme de matière sèche (Putod, 1982).

En Algérie, le caroubier reste très négligé et n'a pas encore eu la place qu'il mérite dans les programmes de reboisement et ce, malgré les retombées socio-économiques que cette plante peut avoir à l'échelle nationale (Chouaki et *al.*, 2006).

Les utilisations de *C. siliqua* sont nombreuses et sa valeur fourragère peut contribuer à l'amélioration des potentialités pastorales du pays. L'intérêt économique des fruits est incontestable et explique la culture en irriguée du caroubier dans plusieurs pays

méditerranéens, notamment en Espagne et en Grèce. En outre, cette essence assure la subsistance et la stabilisation de la population rurale et permet ainsi de limiter le phénomène de l'exode rural (DGF, 2017).

*C. siliqua* pourrait constituer des plantations de choix dans les programmes de reboisement pour garantir un développement durable des zones rurales et pour contribuer à la protection des sols et à la lutte contre la désertification. Toutefois, il est nécessaire d'intensifier les recherches et de développer les filières de production et d'industrialisation des différents produits de cette essence. Sa valorisation sur tous les plans : médicinal, agroalimentaire et industriel, jouera sans doute un rôle majeur dans l'amélioration de son réévaluation des procédés de son implantation (DGF, 2017).

### 3.1. La valeur nutritionnelle du caroubier

Le caroubier est une espèce légumineuse de la région méditerranéenne, dont les graines ont une grande valeur nutritionnelle pour les animaux, comparable à l'orge et supérieure à l'avoine (Bailey, 1947 ; Coit, 1962 ; NAS 1979). Les gousses présentent également une haute valeur nutritive (Bourbouze et Donadieu, 1987). Elle présente une valeur énergétique importante (17,5 KJ/g de M.S) (Avallone *et al.*, 1997 ; Biner *et al.*, 2007).

En raison de leurs composition riche en sucres, les gousses du caroubier ont souvent été employées comme aliment de bétail (Würsch *et al.*, 1984 ; Batlle et Tous, 1997).

En terme d'élasticité, les gousses du caroubier ont montré des résultats semblables à ceux rapportés pour l'orge, les deux contribuent à l'augmentation de la masse corporelle de l'animal selon la quantité d'aliment consommé par jour (Marakis, 1996). Ceci peut être pris comme indication que les gousses du caroubier ont des valeurs nutritives comparables à certaines sources traditionnelles d'alimentation des animaux.

En outre, le caroubier s'adapte aux conditions de sécheresse et particulièrement au climat semi-arides est donc, il est fortement recommandé pour l'usage comme supplément d'alimentation pour les animaux de cette région (Batlle et tous, 1997). Il a été également rapportés que les chevaux, les chèvres et les moutons s'alimentent des feuilles et des branches inférieures du caroubier (Marakis, 1996).

La valeur marchande de la caroube a augmenté et la caroube est devenue une usine d'une utilité universelle (Carlson, 1986 ; Roukas, 1994 ; Crosi *et al.*, 2002; Makris et Kefalas, 2004; Sandolo *et al.*, 2007).

Le caroubier est utilisé depuis l'antiquité comme des sucreries pour les enfants aussi bien que dans les urgences nationales telles que la guerre et la famine (Berna *et al.*, 1997).

La gousse forme une poudre à haute valeur protéique qui est employée comme produit de remplacement de cacao pour la fabrication de chocolat (Nyerges, 1978 ; Brand, 1984). Elle est employé principalement comme nourriture de bétail (Ait Chitt *et al.*, 2007).

La gomme de caroube renferme de nombreuses propriétés et est utilisée dans une vaste gamme de produits alimentaires : épaississant ou dissolvant dans les confitures, sauces, nourriture pour bébés et soupes ; inhibiteur de la cristallisation dans les glaces, les surgelés et le pain ; liant et lubrifiant dans les saucisses; gélifiant dans les puddings, desserts et la confiserie (Marakis, 1996). Elle est aussi employée dans la fabrication des fromages mous, et des produits laitiers autres que les glaces. La pulpe est aussi utilisée dans la fabrication de produits diététiques (Dakia *et al.*, 2007 ; Bengoechea *et al.*, 2008), par exemple : les substituts du chocolat, le sirop de caroube etc....

Les principaux constituants chimiques de la gousse du caroubier sont : l'humidité, les cendres, les carbohydrates, les sucres, les protéines et les acides aminés, les acides gras, les sels minéraux, les vitamines, les polyphénols et les fibres. Le tableau ci-dessous montrent les principaux constituants chimiques des gousses du caroubier (Calixto et Cañellas, 1982; Marakis, 1996, Avallone *et al.*, 1997; Yousif et Alghzawi, 2000, Chabane *et al.*,2012) (Fig.7).

**Tableau 7:** La composition chimique des gousses du caroubier (Calixto et Cañellas, 1982; Markis, 1996, Avallone *et al.*, 1997; Yousif et Alghzawi, 2000, Chabane *et al.*,2012).

Constituants chimiques	Concentration (%)
Humidité	3,6 – 18,0
Cendres	1,0 - 6,0
Protéines	1,0 -7,6
Carbohydrates	48,0 -88,9
Sucres	32,0 -60,0
Fibres	2,6 – 39,8
Poly phénols	0,5 -20,0

### III.2. Utilisation en alimentation animale

En raison de leurs composition riche en sucres, les gousses du caroubier ont souvent été employées comme aliment de bétail (Würsch *et al.*, 1984 ; Batlle et Tous, 1997).

En terme d'élasticité, les gousses du caroubier ont montré des résultats semblables à ceux rapportés pour l'orge, les deux contribuent à l'augmentation de la masse corporelle de

l'animal selon la quantité d'aliment consommé par jour (Marakis, 1996). Ceci peut être pris comme indication que les gousses du caroubier ont des valeurs nutritives comparables à certaines sources traditionnelles d'alimentation des animaux.

En outre, le caroubier s'adapte aux conditions de sécheresse et particulièrement au climat semi-arides est donc, il est fortement recommandé pour l'usage comme supplément d'alimentation pour les animaux de cette région (Battle et tous, 1997). Il a été également rapportés que les chevaux, les chèvres et les moutons s'alimentent des feuilles et des branches inférieures du caroubier (Marakis, 1996).

*Chapitre III* 

---

*Valorisation des substances naturelles et des  
molécules bioactives chez les légumineuses*

Chez les organismes vivants, il existe quatre principaux types de macromolécules : les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques. Ces macromolécules sont appelées métabolites primaires, impliqués dans la croissance et le développement de toutes les cellules végétales (Macheix, 2006). Les métabolites secondaires ne sont pas présents dans toutes les cellules végétales, ni même dans toutes les espèces de plantes, mais ils jouent un rôle essentiel dans le renforcement de la structure ou la protection contre les herbivores et les maladies (Nabors, 2008). Parmi ces substances on trouve les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les huiles essentielles et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'agroalimentaire ou la pharmacologie (Macheix *et al.*, 2005).

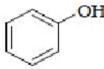
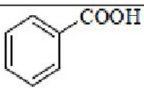
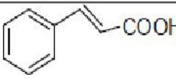
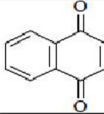
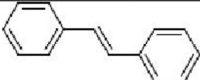
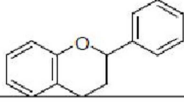
La recherche bibliographique réalisée sur cet axe montre que la majorité d'études phytochimiques effectuées sur un nombre important de légumineuses certifie la richesse ainsi que la diversité structurale de ces dernières en métabolites secondaires tels que : les composés phénoliques de type flavonoïque et isoflavonoïque, les alcaloïdes, et en petites quantités les stéroïdes et les saponosides (Ebel et Hahlbrock, 1982 ; Harborne et Williams, 2000).

### **1. Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. On les retrouve dans toutes les parties des plantes et font donc partie intégrante de notre alimentation. Ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction (Grolier *et al.*, 2001; Tsao et Yang, 2003).

Le terme phénolique est utilisé pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique. Ce nom provient du composé parent le plus simple : le phénol. Les polyphénols naturels peuvent donc être des molécules simples comme les acides phénoliques, mais aussi des composés hautement polymérisés comme les tanins. Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à ce jour dans le règne végétal. On compte, à l'heure actuelle, pas loin de 8000 composés. Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Tab.8) (Bravo, 1998).

**Tableau8 :** Principales classes des composés phénoliques (El Gharras, 2009).

Squelette carboné	Classe	Structures de base
C <sub>6</sub>	Phénols simples	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Les acides hydroxybenzoïques	
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Les acides hydroxycinnamiques coumarines	
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes	
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines	
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés	

La large variété de polyphénols peut être divisée en une dizaine de classes dont la structure chimique peut être répartie en deux grands groupes, les flavonoïdes et les autres. Les flavonoïdes, qui représentent la classe la plus abondante et la plus étudiée de cette classification, comptent plus de 4000 composés découverts à ce jour (Fig.10). Les composés de chaque sous-classe des flavonoïdes se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles ou autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et en position 3 sur l'hétérocycle central. C'est d'abord la structure de ce dernier et son degré d'oxydation qui permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes (Bruneton, 2009). Les autres possèdent une structure chimique plus simple comme les acides phénoliques et les stilbènes dont les dérivés sont parfois complexes, comme les oligomères de stilbènes, les gallotanins, et les ellagitanins (El Gharras, 2009).

Les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins et les lignanes sont majoritairement présents dans les feuilles, les fleurs et l'écorce de bois. Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents

pathogènes et des infections. La couleur des fruits, des fleurs et des feuilles est une des caractéristiques d'une sous-classe des flavonoïdes (Macheix *et al.*, 2005 ; El Gharras, 2009).

Selon Würsch *et al.*, (1984), les polyphénols se trouvent dans les gousses de caroube sous forme de granules brun clair, de taille entre 100 et 500  $\mu\text{m}$ . Ces granules se trouvent dans la fraction fibreuse de la pulpe de caroube et peuvent être extraits par des solvants polaires, à haute température. La section d'une gousse de caroube examinée au microscope électronique montre la présence de larges cellules parenchymateuses remplies de granules de tannin ressemblant à des pièces d'ambre en microscopie optique. En analyse par diffraction à rayons X, les granules ne possèdent pas de structure cristalline.

### 1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement répandus chez les plantes. On distingue deux classes appartenant à cette sous-famille. Les dérivés d'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique.

Les acides hydroxybenzoïques (gallique, salicylique, vanillique,...) sont constitués d'un squelette à sept carbones (C6-C1) et dérivent de l'acide benzoïque (Fig.8). Les acides hydroxybenzoïques sont à la base de structures complexes comme les tanins hydrolysables présents dans les mangues, et les fruits rouges comme les fraises, les framboises ou encore les mûres (Manach *et al.*, 2004).

Les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide cinnamique (Fig.9), et présentent un squelette carboné de type C6-C3. Les acides hydroxycinnamiques existent généralement dans la plante sous forme de glucosides, ou sous forme d'esters. Ils sont principalement composés d'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique (Annexe 2).

L'acide caféique se combine avec l'acide quinine pour former l'acide chlorogénique, que l'on retrouve dans de très nombreux fruits et à forte concentration dans le café (El Gharras, 2009).

Les acides phénoliques sont des composés qui ont des propriétés antioxydantes pouvant contribuer à prévenir l'apparition de plusieurs maladies (cancers, maladies cardiovasculaires et maladies liées au vieillissement) en neutralisant les radicaux libres de l'organisme (Eberhard *et al.*, 2005).

Les rôles des acides phénols dans la plante sont divers. Ils interviennent comme substrats en amont des voies de biosynthèse des flavonoïdes et des lignines et sont impliqués dans les

processus physiologiques tels que la germination, la floraison ou la croissance (Weidner et al., 1996) ainsi que dans la régulation de la voie de biosynthèse des composés phénoliques (Loake et al., 1991, Blount et al., 2000). On leur attribue une fonction antioxydante permettant de réguler la sénescence cellulaire. Chez les céréales, ils exercent une fonction de «ciment» intercellulaire, engendrant une association étroite entre les polysaccharides tels que les arabinoxylanes, et d'autres molécules non osidiques comme les lignines (Iiyama et al., 1994), ou encore les pectines entre elles ou à d'autres polysaccharides.

De telles interactions pourraient contribuer à «compacter» le réseau par un maillage resserré au niveau des parois du péricarpe (Chesson et al., 1997). De plus, elles seraient impliquées dans l'adhésion des cellules entre elles (Waldron et al., 1997) et entre les couches cellulaires (Peyron, 2002).

Les acides phénoliques protègent également les plantes des rayons UV. Ainsi le sinapoylmalate, ester d'acide sinapique avec l'acide malique, a été démontré être impliqué dans la protection contre les effets délétères du rayonnement UV-B dans les feuilles d'arabidopsis (Landry et al., 1995, Booij- James et al., 2000, Meibner et al., 2008).

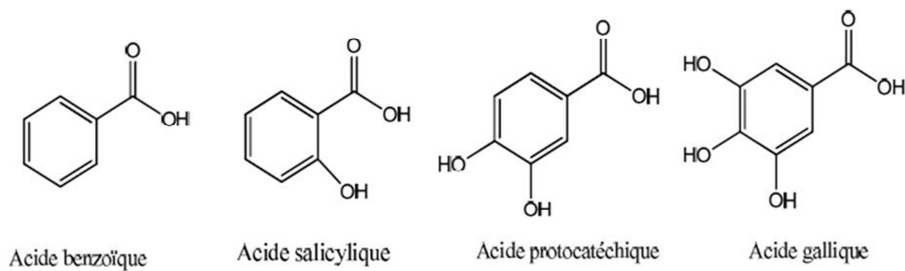


Figure 8 : Hydroxylation de l'acide benzoïque.

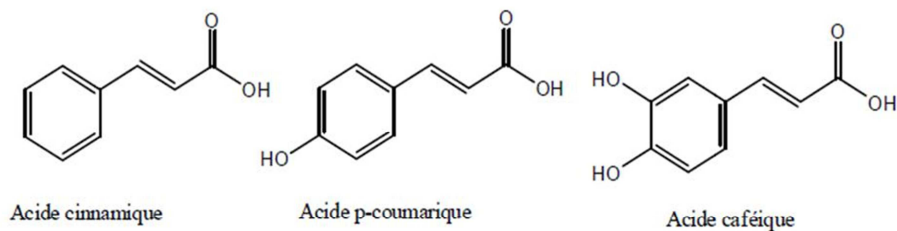
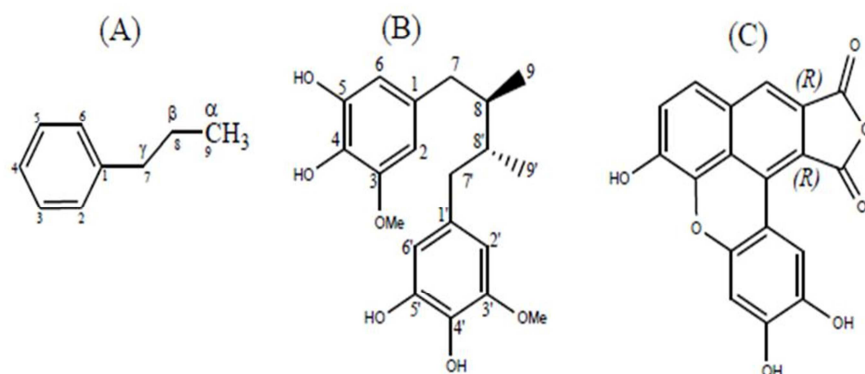


Figure 9 : Hydroxylation de l'acide cinnamique.

## 1.2. Les lignanes

Les lignanes (Fig.10) répondent à une représentation structurale de type (C6-C3)<sub>2</sub> l'unité C6 - C3) est considérée comme un propylbenzène. Ce sont des composés phénoliques bioactifs, non-nutritifs, non caloriques. On les trouve en plus forte concentration dans le lin et les graines de sésame et en faibles concentrations dans les fruits et les légumes (Peterson, 2010). Ils ont été définis comme étant les dimères des phénylpropanoïdes où deux unités de phénylpropane C6-C3 sont liées par leur carbone 8 (Sainvitu, 2012). Ils proviennent de la condensation initiale de deux molécules phénoliques de type monolignol comme l'alcool coniférylique (Muanda, 2010). Ce sont des substances phénoliques apparentées aux lignines, ils n'ont guère de valeur alimentaire humaine. Ils sont présents dans la plante sous forme de glucosides (Descheemaeker, 2003).



**Figure 10:** Exemples des structures chimiques des lignanes.

(A) unité de phénylpropane C 6-C3.

(B) Sauriol A (lien β-β' ).

(C) rufescidride.

## 1.3. Les stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison. Le resvératrol et le pterostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes, la stilbène oxydase et les peroxydases (Perret, 2001) contrairement aux flavonoïdes, ces composés sont peu répandus chez les

végétaux; le raisin et le vin rouge constituent l'apport alimentaire le plus important de ceux-ci (Krisa *et al.*, 1997).

Dans notre alimentation, les stilbènes se trouvent en très petite quantité. Le plus connu d'entre eux est le resvératrol (Annexe 2) qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques de plantes médicinales (El Gharras, 2009). Ces composés jouent un rôle de phytoalexine antifongique (Bais *et al.*, 2000).

#### 1.4. Les saponines

Les saponines ou saponosides sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal (Vincken *et al.*, 2007). Le nom «saponine» est dérivé du mot latin *Sapo*, qui signifie «savon». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante. C'est d'ailleurs sur leur tensio-activité qu'est fondée l'utilisation multiséculaire de certaines plantes qui renferment : la saponaire (*Saponaria officinalis* L.) (Bruneton, 2009).

Comme les flavonoïdes, les alcaloïdes et les antibiotiques pour en nommer seulement certains, les saponines font partie des métabolites secondaires. Ce sont des composés qui servent de défense à la plante. De nombreuses revues rapportent que les saponines existent dans les plantes sous forme biologiquement active et sont impliquées dans la phyto-protection antimicrobienne (Hostettman et Marston, 1995 ; Osbourn, 1996 a, b).

Les saponines retiennent l'attention aussi bien pour leur exploitation industrielle en lien avec leurs propriétés pharmacologiques. Plusieurs plantes à saponines sont utilisées par l'industrie pharmaceutique pour l'obtention de formes galéniques, d'autres ont des applications en phytothérapie. Les saponines trouvent également de nombreuses applications dans l'industrie alimentaire et dans l'industrie cosmétique en raison de leur propriété moussante et émulsifiante, les sources les plus importantes étant l'arbre *Quillaja saponaria* Molina et *Yucca schidigera*, et l'arbuste du Sud-Est asiatique *Camellia sinensis*, connue sous le nom de « tea plant » (Kobayashi *et al.*, 2006 ; Wojciechowski, 2013).

Les applications des saponines s'étendent à l'agriculture, avec utilisation pour l'assainissement des sols (Chen *et al.*, 2008) et pesticides naturels (Chapagain *et al.*, 2007). Ils manifestent des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides, molluscicides (Vincken *et al.*, 2007, Benhamiche *et al.*, 2015), anti-inflammatoires et antalgiques (Speroni *et al.*, 2005).

Structuralement, les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine, saponine stéroïdique et saponine triterpénique. Hostettman et Marston (1995), attribuent aux hétérosides d'amines stéroïdiques (solasolènes et solanidanes) le rang de troisième groupe dans la famille des saponines.

Cependant d'autres auteurs distinguent ce groupe comme des alcaloïdes. Certes, ce ne sont bio-génétiquement que des pseudo-alcaloïdes et, en termes de propriétés, leur comportement n'est pas sans rappeler celui des saponosides. Il n'en demeure pas moins que l'origine de leur atome d'azote les rapproche d'autres dérivés azotés du métabolisme terpénique que l'on s'accorde à considérer comme des alcaloïdes (ex. : aconitine) (Bruneton, 2009).

### 1.5. Les flavonoïdes

Parmi les molécules exsudées par les racines des légumineuses, les flavonoïdes participent au dialogue moléculaire qui s'établit entre l'hôte et les bactéries. Les flavonoïdes sont des molécules issues de la voie de biosynthèse des phenylpropanoïdes. Leur synthèse a lieu dans la plupart des organes des plantes et ont des rôles variés comme par exemple la pigmentation des fleurs (anthocyanines), la défense en réponse aux pathogènes (phytoalexines), la germination du tube pollinique, ou la signalisation symbiotique. Molécules composées de trois cycles aromatiques, il en a été découvert plus de 4000. Les flavonoïdes possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoire, anti-oxydante anti-enzymatique et hépato-protectrice ; ils jouent un rôle important dans le système de défense et anti-virales (Iserin, 2001).

Ils sont classés suivant l'arrangement des cercles aromatiques qui les composent et des substitutions qu'ils portent. Les principales classes de flavonoïdes sont les Chalcone, Flavanone, Flava-3-ol, Flavone, Isoflavone, Flavonol et Anthocyanine (Taylor et Grotewold, 2005).

#### 1.5.1. Les flavonols

Les flavonols sont les flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le kaempferol et la quercétine (Annexe 2). Cette dernière est connue pour posséder un très fort pouvoir antioxydant en raison de sa structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres. A des concentrations de l'ordre de 15 à 30 mg/kg de matière fraîche, on les rencontre dans l'oignon, les brocolis, les poireaux et les

myrtilles. La glycosylation avec un glucose ou un rhamnose est très fréquente (Manach *et al.*, 2004).

#### **1.5.2. Les flavones**

De tous les flavonoïdes, cette sous-classe est la moins abondante dans les fruits et légumes. Ils sont essentiellement constitués de lutéoline et apigénine glycosylés (Annexe 2). Les seules denrées comestibles connues à ce jour qui en possèdent sont le persil et le céleri (Manach *et al.*, 2004).

#### **1.5.3. Les flavanones**

Dans l'alimentation, les flavanones se retrouvent dans les tomates, certaines plantes comme la menthe, et sont présents des quantités importantes dans le citron. Les principaux aglycones sont la naringénine dans le pamplemousse, l'héspéridine dans l'orange et l'ériodictyol dans le citron. La position 7 est le siège de la glycosylation (El Gharras, 2009).

#### **1.5.4. Les isoflavones**

Les produits dérivés du soja sont la principale source d'isoflavones dans l'alimentation, qui peuvent être glycosylées ou non. On les rencontre aussi dans les légumineuses.

#### **1.5.5. Les flavanols**

Les flavanols existent sous forme de monomères, dont l'unité la plus simple est la catéchine et sous forme polymérique appelés les proanthocyanidines. La catéchine est présente dans de nombreux fruits comme la pomme, mais le chocolat et le thé sont les principales sources de ce composé (El Gharras, 2009).

#### **1.5.6. Les anthocyanes**

Les anthocyanes sont des pigments naturels colorés que l'on retrouve dans les plantes vasculaires. Leur aptitude à se solubiliser facilement dans les milieux aqueux offre des possibilités très larges dans le domaine industriel. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baies, raisin). Une caractéristique importante de ces composés réside dans leur aptitude antioxydante, et de nombreuses études sur leurs activités biologiques peuvent en témoigner (Castaneda-Ovando *et al.*, 2009).

### 1.5.7. Les proanthocyanidines

Connus sous le nom de tanins condensés, ils peuvent être des dimères, des oligomères et polymères de catéchine qui sont liés entre eux en position C4, C8 ou encore C6 (Tarascou et al., 2011). Ils entrent en grande partie dans la composition des raisins où ils sont localisés dans les graines et la peau. Le degré de polymérisation de ces composés varie en fonction de l'organe végétal : entre 1 et 20 pour la graine et en moyenne 30 pour la peau. L'aptitude de ces composés à s'associer avec les protéines salivaires leur confère la propriété d'astringence que l'on retrouve chez certains fruits (raisin, pomme, poire) et certaines boissons (thé, vin, bière) (Prieur et al., 1994; El Gharras, 2009).

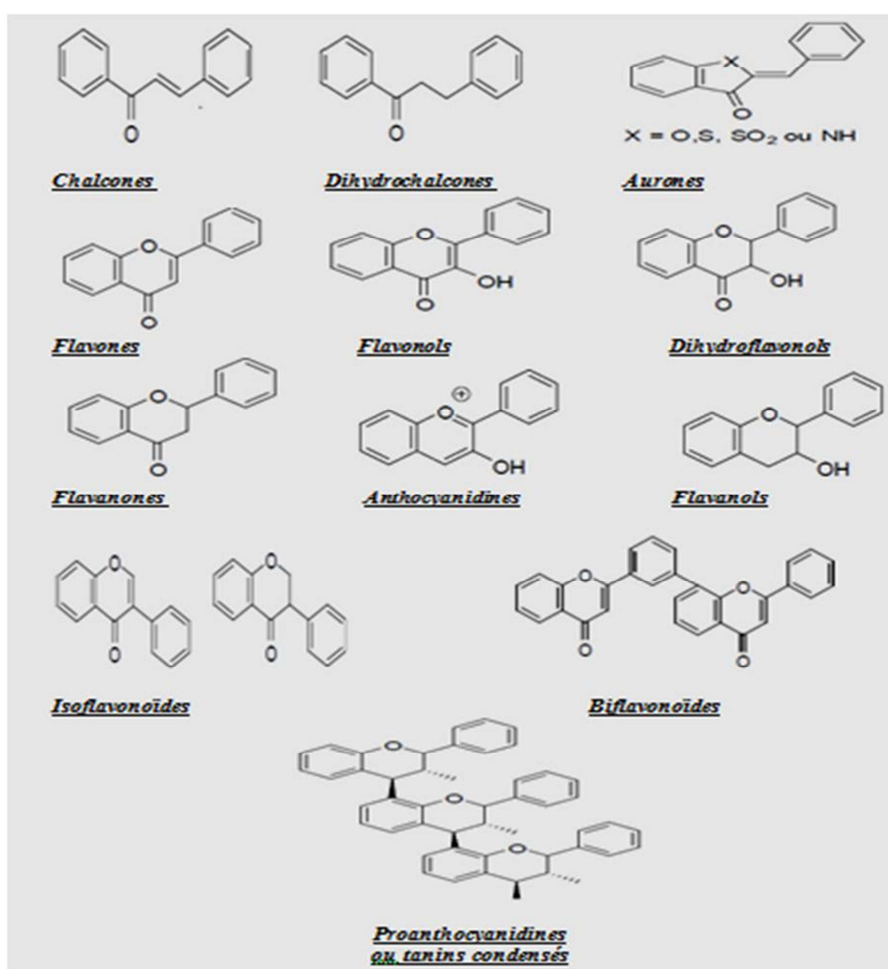


Figure 11 : Différentes classes et squelettes de flavonoïdes (Sartori-Thiel, 2003; Hallgas et al., 2004).

## 1.6. Les tanins

### 1.6.1. Définition, rôle et toxicité des tanins

Les tanins (ou tannins) sont des substances d'origine végétale, ont été utilisés depuis des temps ancestraux pour convertir la peau des animaux en cuir grâce à l'interaction des flavonoïdes avec les fibres de collagène, protéine riche en résidus proline et hydroxyproline (Haslam, 1989 ; Codorniu-Hernandez *et al.*, 2003). Ils sont caractérisés par leurs effets astringents (sensation de dessèchement en bouche), très utiles quand il y a trop de sécrétions (les bronchites, les diarrhées, les plaies saigneuses).

D'un point de vue biochimique, les polyphénols (tanins) sont très hétérogènes et peuvent être constitués de simples monomères ou de très grands polymères avec une masse molaire de 20000 Da (Loomis et Bataile, 1966 ; Haslam, 1989).

La caractéristique fonctionnelle qui décrit les tanins est leur capacité de faire précipiter les protéines (Hagerman et Butler, 1991). Cette interaction varie selon la grandeur et la structure de la protéine. Par exemple les protéines riches en proline ont tendance à être précipitées facilement par les tanins (Asano *et al.*, 1982). Ils sont solubles dans l'eau, avec des poids moléculaires très élevés contenant des groupes hydroxyles (Williams *et al.*, 1983).

Les tanins peuvent avoir un effet positif sur la réduction de la nourriture consommée (Reese *et al.*, 1982) et un effet toxique pour certaines espèces soit directement, soit par l'intermédiaire de leurs produits d'hydrolyse (Beranbaum, 1983). Si les végétaux riches en tanins peuvent être dangereux, on peut inversement les utiliser comme antidote dans les intoxications par les plantes alcaloïdes, car ils les précipitent et les rendent inoffensifs. Les effets toxiques des tannins apparaissent lors de la consommation de certaines plantes, ils sont principalement causés par les tanins hydrolysables, par contre les tanins condensés sont beaucoup moins toxiques car ils ne traversent pas la barrière intestinale (Biaye, 2002).

Les tanins des légumineuses peuvent améliorer la qualité des fourrages ensilés en empêchant la dégradation excessive des protéines diététiques. Ils jouent aussi un rôle écologique car ils réduisent la production de méthane. Ils forment aussi des précipités avec les ions métalliques, réduisant ainsi leur toxicité (Makkar, 2003).

## 1.6.2. Classification des tanins

Les tanins sont divisés selon Swain (1979) en cinq principaux groupes : tanins hydrolysable, tanins condensés, les oxytanins, les bêta-tanins et les prototanins. Les oxytanins, les bêta-tanins et les prototanins ont des poids moléculaires faibles, et on peut les considérer comme étant les précurseurs de molécules tanniques plus importantes (Bernays *et al.*, 1989). Habituellement, on distingue chez les végétaux supérieurs deux groupes de tanins par leur structure et par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés qui sont largement distribués dans différentes familles des plantes vasculaires (Haslam, 1989).

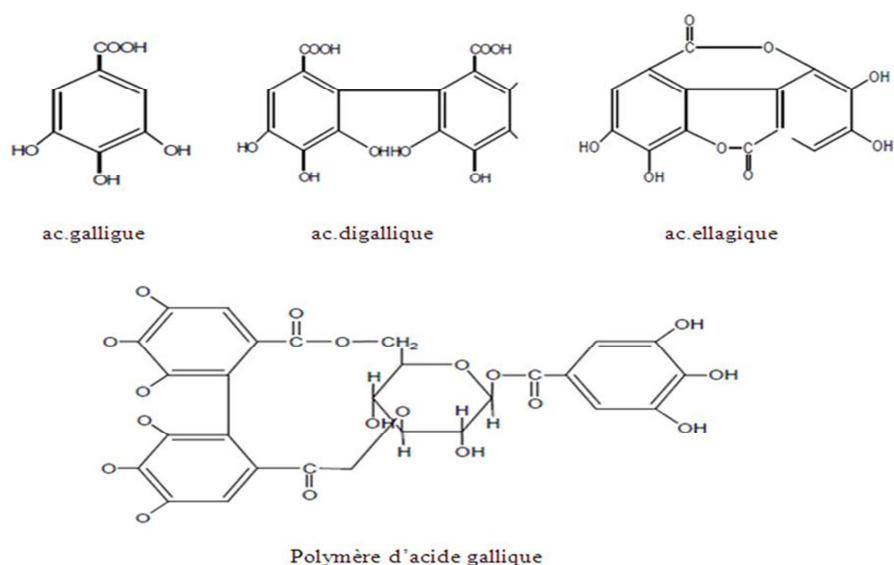
### 1.6.2.1. Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables ou tannoïdes (Fig. 12) qui sont des polymères de l'acide gallique. Ce sont des esters de glucide ou d'acides phénols, la molécule glucidique est en général un glucose, mais dans certains cas des polysaccharides (Ribereau, 1968).

Essentiellement localisés dans les dicotylédones des angiospermes, on les rencontre notamment chez les Dinelideae, les Hamamelideae et les Rosideae dans leurs organes : racines, tiges, feuilles ou fruits avant maturité (Biaye, 2002). Ce type de tanins est généralement abondant dans certaines plantes fourragères. au cours de maturation, ces plantes deviennent astringentes, ce qui leur confère une résistance aux oiseaux et à la moisissure.

Les tannins hydrolysables sont des polyesters phénoliques de dérivés de sucre (Zywicki *et al.*, 2002). Sont constitués d'un noyau central (le glucose) et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol (Guignard, 1996 ; Biaye, 2002). En fait, le glucose est estérifié par des acides hydroxyphénoliques, principalement l'acide gallique et l'acide ellagique, pour produire les gallotannins et les ellagitannins (Zywicki *et al.*, 2002).

Ces tannins sont hydrolysés par les acides doux, les bases, ou certaines enzymes (la tannase) pour libérer du glucose ou un autre alcool polyhydrique, de l'acide gallique ou l'acide phénolique correspondant (Salunkhe *et al.*, 1989).



**Figure 12** : structure biochimique des tanins hydrolysables (Zywicki *et al.*, 2002).

#### 1.6.2.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés (tannins vrais non hydrolysables), qui sont des polymères de certains flavanols, les catéchines ou catéchols et de proanthocyanidols (Deshpande *et al.*, 1986). Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seul les attaques chimiques fortes permettent de les dégrader (Macheix *et al.*, 2005). ce sont des métabolites secondaires des végétaux qui sont liés à leurs mécanismes de défense contre les mammifères herbivores et les insectes phytophages, ils sont présents dans plusieurs espèces de plantes vasculaires ( Swain,1979).

Les tanins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, prune, fraise...) ou des boissons fermentées ou non (thé, vin, cidre, etc....) (Macheix *et al.*, 2005). Ces tanins jouent un rôle important dans les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits (Haslam, 1989).

Le poids moléculaire des tanins condensés peut se situer entre 6 000 et 12 000 Da (Morris *et Robbins*, 1997). Plus le poids moléculaire des tanins condensés augmente (> 5 000 Da),

plus ces derniers deviennent insolubles dans les solutions physiologiques et perdent leur capacité à précipiter les protéines (Kumar et Vaithyanathan, 1990).

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation (Hemingway, 1992). Les formes naturelles monomériques des flavanols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétriques C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> par le niveau d'hydroxylation du noyau β (Fig.13). On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées) (Biaye, 2002).

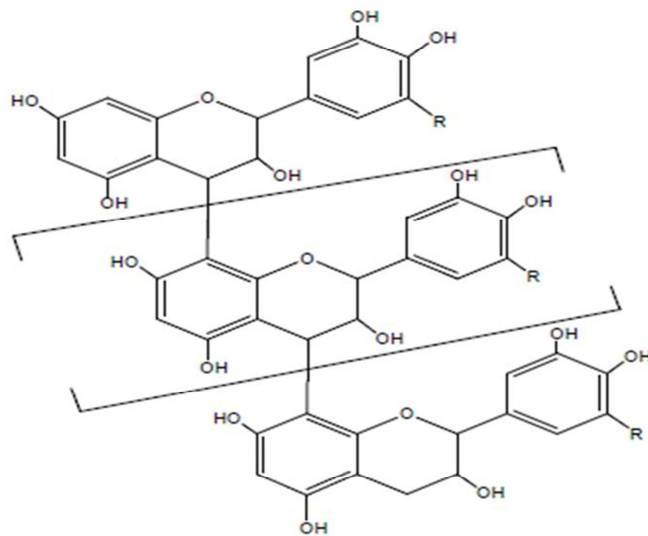


Figure 13 : Structure des tanins condensés (Macheix et al., 2005).

### 1.7. Les Phytostérols et les phytostanols

Les Phytostérols sont des stérols d'origine végétale dont la constitution est voisine de celle du Cholestérol. Les principaux phytostérols sont :

- Le β-sitostérol, qui possède à son extrémité un radical éthyle en position 24.
- Le campestérol, qui possède à son extrémité un radical méthyle en position 24.
- Le stigmastérol, dont la seule différence avec le β-sitostérol est une double liaison entre les positions 22 et 23.

Les phytostérols sont des composés naturellement présents dans les plantes. Ils ne sont synthétisés ni par l'homme ni par les animaux. Ils sont présents dans le régime alimentaire sous plusieurs formes, mais les deux formes les plus abondantes sont représentées par le  $\beta$ -sitostérol et le campestérol (Lagnika, 2005).

Parmi les phytostanols, les plus importants sont le sitostanol et le campestanol : ils se distinguent respectivement du sitostérol et du campestérol par la suppression d'une double liaison entre les positions 5 et 6 (Dacosta, 2003).

## 2. Les composés terpéniques

Les terpènes, ou isoprénoïdes, ou terpenoïdes sont l'une des classes les plus diverses de métabolites. Il a été répertorié plus de 30 000 composés dont la très grande majorité est spécifique du règne végétal et qui englobe les arômes et parfums, les antibiotiques, les hormones végétales et animales, les lipides des membranes (Goldstein et Brown 1990 ; Colby et *al.*, 1993).

Les terpènes sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone ( $C_5H_8$ ) reconnue par Wallach dès (1887). Les divers squelettes terpéniques sont classés par le nombre de chaînons isopréniques qui les composent :

- Monoterpènes  $C_{10}$  ;
- Sesquiterpènes  $C_{15}$  ;
- Diterpènes  $C_{20}$  ;
- Triterpènes  $C_{30}$ .

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%) (Padua et *al.*, 1999).

## 3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés, basiques qui s'extraient soit dans l'eau acide soit dans des solvants comme le chloroforme après alcalinisation. Ils précipitent généralement avec des réactifs iodométriques (réactif de Dragendorff) et sont très souvent biologiquement actifs (Guignard, 2000). Représentant un groupe fascinant de produits naturels, ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000

différentes structures (Stöckigt et al., 2002). On retrouve en effet des molécules comme la quinine, des drogues (cocaïne), des anticancéreux (la vincristine et le taxol), des molécules utilisées comme poisons (strychnine) et des stimulants (caféine) (Gravot, 2009).

La plupart des alcaloïdes naturels sont d'origine végétale, on les retrouve essentiellement chez les angiospermes, avec encore des exceptions (lycopodine du lycopode, palustrine chez *Equisetum*) Cette famille de métabolites secondaires a été particulièrement étudiée du fait des enjeux économiques qui y sont associés. Leurs actions biologiques les place également au cœur de phénomènes d'interactions de défense face aux pressions biotiques (herbivores, microorganismes). L'amertume – une caractéristique anti-nutritionnelle - est une caractéristique générale des alcaloïdes. Par contre très peu sont volatiles, à l'exception de la coniine à l'origine de l'odeur de souris dégagée par le froissement de feuilles de cigüe) (Grayot, 2009).

Il existe une très grande diversité de sous-familles d'alcaloïdes, qui ont été classés en fonction de leurs origines biosynthétiques et de la nature des hétérocycles azotés (dépendamment bien sûr de l'avancée des connaissances sur les voies de biosynthèse). Certains alcaloïdes complexes associent des noyaux azotés dérivés d'acides aminés, à des résidus terpènes (exemple : alcaloïdes indoliques monoterpéniques de la pervenche de Madagascar qui sont utilisés comme anticancéreux) (Iserin et al., 2007).

Au-delà des implications médicales, certains alcaloïdes sont directement au cœur de considérations agronomiques. Les graines de lupin peuvent par exemple contenir des quantités importantes d'alcaloïdes quinolizidiniques (dérivés de la lysine) qui posent à la fois des problèmes de toxicité (dans le cadre de l'alimentation animale, il existe cependant des variétés de lupin blanc pauvres en alcaloïdes) mais également d'amertume (alimentation humaine, le problème est résolu par des procédés de saumures qui permettent de s'affranchir des alcaloïdes) (Grayot, 2009).

*Chapitre IV*

---

*Etude du polymorphisme phénotypique du  
caroubier*

L'étude du polymorphisme phénotypique du caroubier a été réalisée au laboratoire de biodiversité végétale : conservation et valorisation, de l'université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbès, Algérie.

## 1. Matériels et méthodes

### 1.1. Matériel végétal

Les fruits ont été cueillis au mois de Novembre 2014 sur des sujets hermaphrodites, provenant de deux sites différents à savoir : Sidi Bel Abbès et Tlemcen (Chiguer), et d'autres sujets dioïques collectés au niveau du site d'Ain Témouchent (Berkeche) dans la région Nord Occidentale Oranaise (Fig. 14). L'ensemble de ces régions appartient à l'étage bioclimatique semi-aride avec une pluviométrie de 350 à 500 mm.

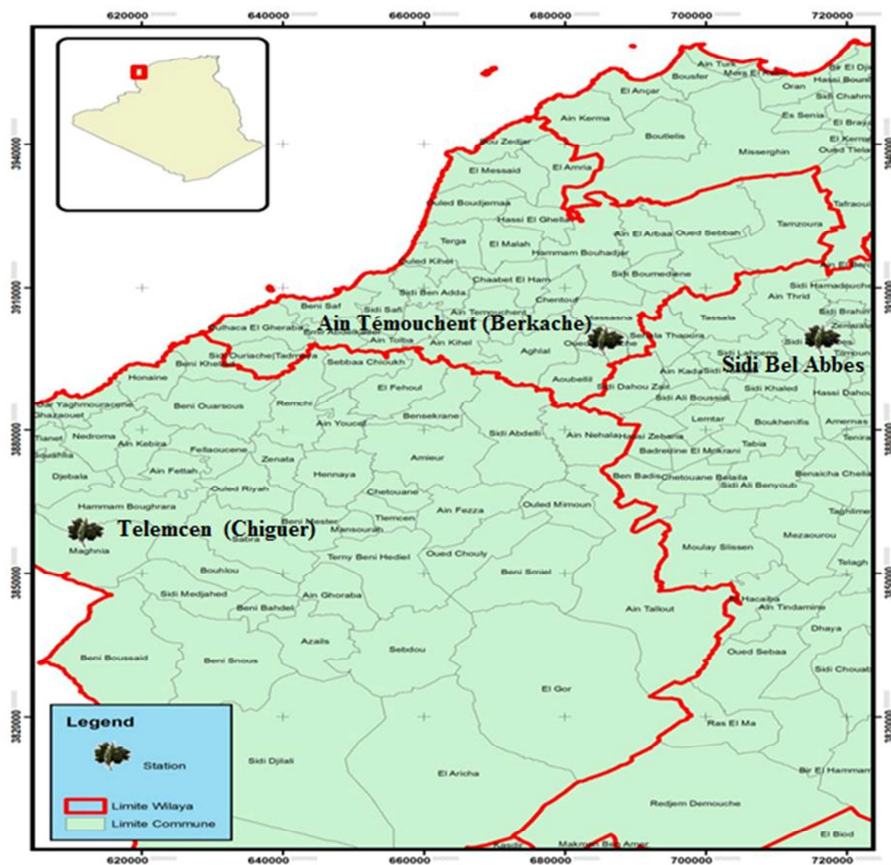


Figure 14 : Situation géographique des sites de récolte des échantillons de caroubier.

## 1.2. Marqueurs morpho-agronomiques

Cent gousses de chaque provenance ont fait l'objet d'une analyse morphométrique en se basant sur les paramètres suivants : Longueur de la gousse (LGs), largeur de la gousse (IGs), corde de la gousse (CGs), l'épaisseur de la gousse (EGs), nombre de graines par gousse (Ng/Gs), longueur du pédoncule (LP) et la largeur du pédoncule (IP) (Fig.15).

Nous avons choisis d'une manière aléatoire cent graines à partir de cents gousses préalablement concassées pour effectuer les mesures morphométriques des paramètres suivants: longueur de la graine (LG), largeur de la graine (IG), l'épaisseur de la graine (EG) et le poids de la graine (PG) (Fig.15).

Les prises de mesure ont été réalisées parallèlement à des observations faites à l'œil nu portant sur l'aspect des gousses et des graines.

Les mesures de la longueur et de la largeur des gousses ont été faites sur papier millimétrique, l'épaisseur des gousses et les mesures des graines et du pédoncule ont été réalisées avec un palmaire Digitrix II. Une balance de précision a été utilisée pour la prise de poids (graines).



**Figure 15** : Prise de mesures sur les gousses (Cliché Chabane, 2017).

- (a) les gousses,
- (b) les graines,
- (c) pédoncule de *Ceratonia siliqua* L.

## 2. Résultats et discussions

### 2.1. Diversité agro-morphologique inter-provenances

#### 2.1.1. Observation de l'aspect des gousses

L'observation à l'œil nu des gousses des différentes provenances a permis de déceler un niveau élevé du polymorphisme morphologique. En effet, un échantillon de cinq gousses représentant chacune des trois provenances, illustre parfaitement l'existence de diverses couleurs et formes des gousses (Fig.16). Nous avons relevé trois différentes couleurs de gousses : brune (gousses des sujets hermaphrodites de Sidi Bel Abbès), marron (gousses des sujets dioques de Berkache), et marron foncé (gousses des sujets hermaphrodites de Chiguer).

Par ailleurs, des traits agro-morphologiques liés à la forme des gousses (forme droite, légèrement courbée et courbée) ont été observés (Fig. 16). Traditionnellement, la production et la qualité des fruits incluant sa forme, ont été largement exploitées comme des critères fondamentaux pour sélectionner le caroubier. Pour les experts, ces traits agro-morphologiques permettent de différencier le caroubier de type sauvage du type cultivar (Marakis et *al.*, 1988; Tous et *al.*, 1995; Tous et *al.*, 1996; Batlle et Tous, 1997; Gharnit et *al.*, 2001). Bien que la forme, la couleur et la grandeur des gousses soient, en général, influencées par des facteurs environnementaux, les fruits produits par les types cultivées «cultivars» se distinguent - comparativement aux types sauvages - par leur taille et leurs graines volumineuses (Tous et *al.*, 1996; Batlle et Tous, 1997).

Selon Batlle et Tous (1997), la forme des gousses du caroubier peut être considérée comme le critère agronomique caractéristique des cultivars. En Espagne et au Maroc, trois différentes formes de gousses ont été rencontrées dans la production de certains cultivars, droite, courbée et torsadée (Konate, 2007). De même, en Chypre, deux formes de gousses, droite et courbée ont été respectivement rencontrées chez les cultivars 'Koundourka' et 'Tyllira'. Aussi, la forme courbée a été le seul critère caractérisant les gousses 'Sfax' en Tunisie et 'Santa Fe' en Californie. 'Rojal', cultivar 'Banya Cabra' (Tous et *al.*, 1996).



**Figure 16** : Variabilité dans la morphologie (forme et couleur) des gousses collectées de: (Cliché Chabane, 2017).

(A) Chiguet,

(B) Sidi Bel Abbas

(C) Berkache.

Lors de nos prospections, nous avons constaté l'existence de deux formes de gousses (droite et courbée), mais en fréquence inégale dans les échantillons de nos provenances.

Pour mieux cerner ce paramètre et avoir plus d'idée sur la forme de gousses pour chaque lot, nous avons établi un rapport d'évaluation, basé sur les valeurs mesurées de certains critères de gousses, pour calculer l'indice de courbure (IC) ou encore de droiture (ID) selon la formule suivante:  $IC = \text{valeur moyenne de corde (cm)} / \text{valeur moyenne de longueur (cm)}$ . Cet indice qui ne peut mettre en évidence que la forme droite et/ou courbée, nous a permis, en fonction des provenances, de déterminer deux catégories de forme de gousses.

- Première catégorie dite forme droite de gousses et définie par  $0.85 \leq IC$ , indique une large dominance de cette forme dans une production donnée. Elle caractérise les provenances de Berkache et Sidi Bel Abbas, dont les IC sont respectivement 0.85 et 0.87.
- Seconde catégorie dite forme légèrement courbée ou intermédiaire et définie par  $0.70 \leq IC < 0.85$ , indique une présence non négligeable de forme courbée dans une collection donnée. Elle caractérise dans la provenance de Chiguer dont l'IC est de 0.82.

D'après Battle et Tous (1997) la forme de gousses du caroubier ne comporte pas seulement un intérêt d'ordre morphologique, mais peut aussi avoir un impact positif sur les collections et ses apports commerciaux. Les gousses ayant une forme droite sont les plus appréciées et facilement commercialisées par rapport à celles qui ont une forme courbée ou torsadée (Brito de Carvalho, 1988a). Par conséquent, nos résultats laissent supposer qu'une bonne production serait dotée de fruits de très bon aspect, notamment en ce qui concerne la dominance de la forme droite. Toutefois, ce trait lié à la forme de gousses est très loin d'être le seul critère discriminant et déterminant de la qualité agro-morphologique des fruits.

### **2.1.2. Mesure des variables agro-morphologiques**

Les valeurs moyennes ainsi que la déviation standard (DS) de la totalité des variables mesurées sont assignées dans le tableau (Tab. 09). D'emblée, nous remarquons que chaque critère du fruit de caroubier (hermaphrodite ou dioïque) analysé peut être considéré comme un moyen distinctif d'une accession à l'autre.

**Tableau 09:** Caractéristiques morphométriques des fruits de *C. siliqua* (gousses et graines) selon les trois provenances (Sidi bel Abbès, Tlemcen (Chiguer), Ain Témouchent (Berkache)).

		Paramètres												Nombre de graine /gousse				
		Longueur (Cm)				Largeur (Cm)				Epaisseur (Cm)						Poids des graines (Gr)		
		gousse		Graine		Corde		pédoncule		gousse		Graine				pédoncule		Gousse
Fruit Hermaphrodite	S1	14,90 ± 0,15	0,91 ± 0,005	12,9 5 ± 0,13	1,01 ± 0,13	M DS	M DS	2,11 ± 0,06	0,64 ± 0,003	0,29 ± 0,031	0,36 ± 0,005	M DS	M DS	0,37 ± 0,003	0,17 ± 0,002	M DS	M DS	12,5 ± 2,94
	S2	10,45 ± 2,32	1,005 ± 0,083	08,61 ± 2,24	0,91 ± 0,14	M DS	M DS	2,04 ± 0,16	0,67 ± 0,07	0,25 ± 0,025	0,63 ± 0,06	M DS	M DS	0,33 ± 0,033	0,14 ± 0,036	M DS	M DS	7,8 ± 3,01
	S3	13,08 ± 0,13	0,820 ± 0,042	11,19 ± 0,12	1,23 ± 0,11	M DS	M DS	2,008 ± 0,012	0,49 ± 0,033	0,27 ± 0,040	0,73 ± 0,005	M DS	M DS	0,21 ± 0,024	0,18 ± 0,001	M DS	M DS	10,5 9 ± 0,13
Fruit Dioïque																		

S1: Sidi bel Abbès;

S2: Tlemcen (Chiguer);

S3: Ain Témouchent (Berkache);

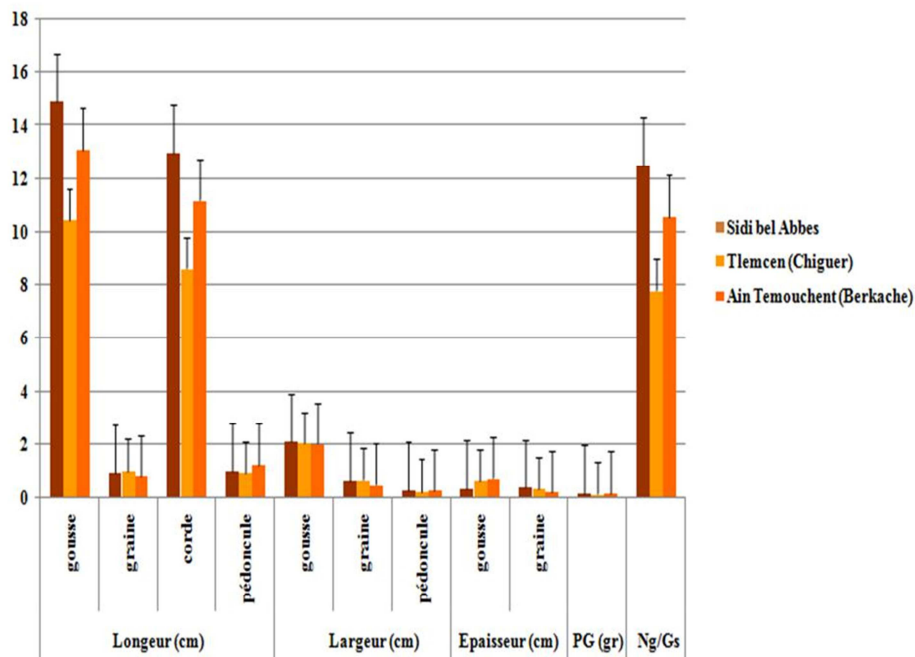
M: valeur moyenne de différents variables mesurés (n=100) ;

DS: déviation standard.

Les fruits du caroubier ont fait l'objet d'un grand nombre d'études agro-morphologiques et économiques (Batlle et Tous, 1997; Gharnit *et al.*, 2001), au même titre d'intérêt que ses inflorescences et fleurs (Linskens et Schlten, 1980; Retana *et al.*, 1994; Gharnit *et al.*, 2004) pour différencier les collections locales ou les comparer avec celles des autres pays.

Chaque caractère de gousse est discriminant, en plus de son utilité dans l'étude de la diversité, comporte un intérêt majeur dans le choix empirique pour la sélection du cultivar ou de donneurs de greffon destinés à l'établissement des vergers commerciaux.

A travers le tableau (Tab.9) et en fonction de chaque variable mesurée, nous pouvons caractériser une telle ou groupe de provenance.



**Figure 17:** morphométrie des fruits de *Ceratonia siliqua* L. des trois provenances (Sidi Bel Abbas, Tlemcen, Ain T'émouchent)

### **Taille des gousses**

Le fruit de *C. siliqua* est de grande taille. Selon Tutin et *al.*, (1993), Tous et *al.*, (1996) et Batlle et Tous (1997), la taille moyenne des gousses peut aller de 10 à 30 cm. Elles sont classées en trois catégories : taille légèrement longue ( $15 < L \leq 20$  cm), taille moyenne ( $14 \leq L \leq 15$ ) et taille légèrement courte avec  $10 \leq L < 14$ .

La taille des gousses, définie par la valeur moyenne de sa longueur. Dans le cas de nos collections, la taille moyenne (14,90 cm) caractérise la provenance de Sidi Bel Abbès. Tandis que les provenances de Berkache et Chiguer sont caractérisées par des gousses de taille courte (10,45 à 13,08 cm). Ces résultats sont en parfait accord avec ceux de Gharnit (1997) et Konate (2007).

### **Largeur des gousses**

La largeur des gousses de *C. siliqua* a une indication d'ordre agronomique importante. Elle est indépendante de la taille de gousse et peut renseigner sur le volume des graines et de pulpe. Selon Batlle et Tous (1997), elle varie entre 1,5 à 3,5 cm. Par ailleurs, Tutin et *al.*, (1993) ont rapportés que la largeur des gousses du caroubier est variée de 1,5 à 2,5 cm.

Les trois stations Sidi Bel Abbès, Chiguer et Berkache sont distinguées par des gousses assez larges (2,11cm, 2,04cm et 2,008cm respectivement).

### **Épaisseur des gousses**

L'épaisseur des gousses est également très variable d'une provenance à l'autre constitue un critère de distinction entre les gousses comprimées ou volumineuses. Elle peut atteindre 1cm notamment chez les gousses charnues (Batlle et Tous, 1997). Selon Konate (2007), l'épaisseur de gousse est variée entre 0,33 à 0,81cm.

Cette variable nous a permis de distinguer les provenances caractérisées par des gousses charnues et volumineuses à savoir Chiguer et Berkache (épaisseur de 0,63cm et 0,73cm respectivement). Par ailleurs, la provenance de Sidi Bel Abbès ayant des gousses aplaties avec une épaisseur de 0,36cm.

### **Aspect des graines**

Comme les gousses, l'observation visuelle de l'aspect des graines de différentes provenances, a révélé une grande diversité morphologique. En effet, des échantillons de cents graines de trois provenances différentes, montrent clairement l'existence de diverses couleurs de graines (Fig.18).

Par ailleurs, nous avons remarqué que la taille des graines est très variable, selon les provenances. Elle est grande comme le cas des graines de Chiguer, petite telle que celles de Berkache et intermédiaire comme c'est le cas des graines de Sidi Bel Abbès (Tab.9). Les variables mesurées, longueur, largeur et épaisseur, influencent beaucoup le poids des graines. Les résultats obtenus s'accordent avec ceux de Batlle et Tous (1997).

#### **Nombre des graines par gousse**

Comme la plupart des caractères, le nombre des graines par gousse est très variable. Selon nos provenances, le plus grand nombre de graines par gousse est celui de Sidi Bel Abbès (12,5). Par contre, celles caractérisées par un faible nombre de graines par gousse sont Chiguer (7,8) et Berkache (10,59). Tandis que certains auteurs ont rapporté que la gousse du caroubier peut renfermer entre 12 à 16 graines (Tutin et *al.*, 1993; Gharnit, 1997, Chabane et *al.*, 2012).

Bien que le fruit soit le principal critère pour sélectionner le caroubier, notamment sa grandeur, le poids de pulpe, rendement en graines et sa teneur en sucre. En conséquence, les planteurs se sont plus penchés sur le trait lié au rendement des gousses en graines et surtout sur ses qualités qui sont plus convoitées et rentables sur le plan économique (Brito de Carvalho, 1988a ; Tous et *al.*, 1996 ; Batlle et Tous, 1997). En effet, la graine comporte plusieurs valeurs. Elle est largement et diversement utilisée en industrie alimentaire et technologique (Batlle, 1997).

L'Algérie a un important potentiel de production en caroubes, selon la FAO, l'Algérie produit 4000 tonnes par an dont 800 tonnes de graines et 3200 tonnes de gousses par an.

Selon Batlle (1997), la régression accusée dans la production du caroubier a été principalement liée à la baisse des prix et aux programmes du développement des zones arides et semi arides au dépend des plantations de caroubier.

Dans l'Algérie la production de caroube ainsi que la surface cultivée ont baissé par rapport aux données de la FAO, car il n'est plus utilisé comme plante fourragère pour l'aliment de bétails au profit de l'orge et c'est dû à son coût élevé et son rendement lent (10 à 15 ans après sa plantation).



**Figure 18:** Variabilité dans la morphologie (couleur et taille) des graines du caroubier provenant de trois provenances: (Cliché Chabane, 2017).

(A) Sidi Bel Abbas,

(B) Chiguer,

(C) Berkache.

Selon Gharnit (2003) les facteurs environnementaux semblent avoir une influence sur la morphométrie des gousses et des graines du caroubier. Selon les travaux antérieurs de Chabane *et al.*, 2012, les températures minimales et les précipitations, influent sur le poids des graines et l'épaisseur des gousses. Ceci peut être expliqué par l'effet des facteurs du milieu qui ont une influence sur la croissance des plantes (Hopkins, 2003). Les précipitations annuelles sont étroitement liées à la productivité (Papanastasis *et al.*, 1997) alors que, la température est considérée comme un facteur écologique fondamental et un élément vital pour les formations végétales (Peguy, 1970). Elle intervient dans la fabrication de la matière sèche (Hopkins, 2003). La pluie et la température sont la charnière du climat (Bary-Lenger *et al.*, 1979). Selon Battle et Tous (1997), le caroubier supporte des températures supérieures à 40 °C, et des vents chauds et secs. Il tolère bien la sécheresse, car il n'a besoin que de 350mm de pluies annuelles pour produire des fruits (Coit, 1949 ; Ticho, 1958 ; Crescimanno, 1982).

Les valeurs agro-alimentaires et industrielles du caroubier résident, principalement, dans la composition chimique de caroube. Il est devenue une usine d'une utilité universelle (Makris et Kefalas, 2004; Sandolo *et al.*, 2007).

*Chapitre V* \_\_\_\_\_

*Quantification des oligo-éléments et des  
métaux lourds des fruits du C. siliqua*

Le présent travail, concerne la quantification des oligo-éléments et des métaux lourds des fruits (gousses et graines séparément) du *Ceratonia siliqua* L. par Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP/MS).

Cette partie a été réalisée au laboratoire de chimie organique appliquée par l'équipe d'analyse et contrôle de qualité, département de chimie de l'université Cadi Ayyad, faculté des sciences Semlalia, Marrakech, Maroc.

## 1. Matériels et méthodes

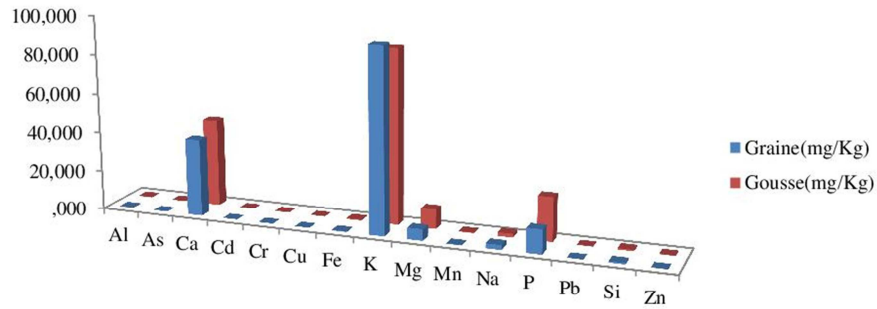
### Quantification des oligo-éléments et des métaux lourds des fruits (gousses et graines séparément) du Caroubier par Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP/MS)

L'analyse ou la quantification des oligo-éléments et des métaux lourds des fruits (gousses et graines séparément) de *C. siliqua* a été réalisée par ICP-MS (Jobin-Yvon 70 ICP, ULTIMA AND JY70) (Fig.18). Cette méthode instrumentale d'analyse qualitative et quantitative multi-élémentaire, associée à un spectromètre de masse (MS), une source d'ions formée d'une torche à plasma entretenue par couplage inductif avec un générateur électromagnétique à haute fréquence (ICP), dont le succès fut et reste très grand (Tyler et Jobin-Yvon, 2003). Elle s'applique à l'analyse simultanée de nombreux éléments métalliques et métalloïdiques (80 environ). Sa sensibilité est en général beaucoup plus grande que celle des techniques spectrométriques antérieures, qui gardent cependant l'avantage pour certains éléments de faible masse atomique. Avec une gamme dynamique très étendue, elle permet la quantification de concentrations élémentaires très diverses dans un même échantillon (Pénicaud et *al.*, 2006). Elle est donc précieuse en géochimie et en métallurgie comme en biochimie et analyse alimentaire, en toxicologie et en analyse environnementale. Elle autorise l'utilisation du marquage isotopique non radioactif, essentiel pour les études nutritionnelles des oligo-éléments, et l'emploi des méthodes de dilution isotopique. Cette technique utilise le fait que des ions peuvent être séparés les uns des autres par applications de champs électromagnétiques, en fonction de leur masse atomique, de leur charge électrique et de leur vitesse.

Une petite quantité de matière sèche (0.5 g) a été minéralisée par 2 ml d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ), 6 ml d'acide nitrique ( $HNO_3$ ) et 6 ml d'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ). Ce mélange a été chauffé pendant 30 minutes. Après refroidissement et déposition des minerais le mélange a été filtré sur papier Wattman, puis ajouté à 25 ml d'acide nitrique ( $HNO_3$ ) à 0.1M. Toutes les



La comparaison entre les concentrations en oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines du caroubier montrent que les gousses sont plus riches que les graines en calcium (Ca), en phosphore (P), en magnésium (Mg) et en sodium (Na). A l'inverse les graines sont plus riches en potassium (K) que les gousses (Fig. 19).



**Figure 19:** comparaison entre les concentrations en oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* L.

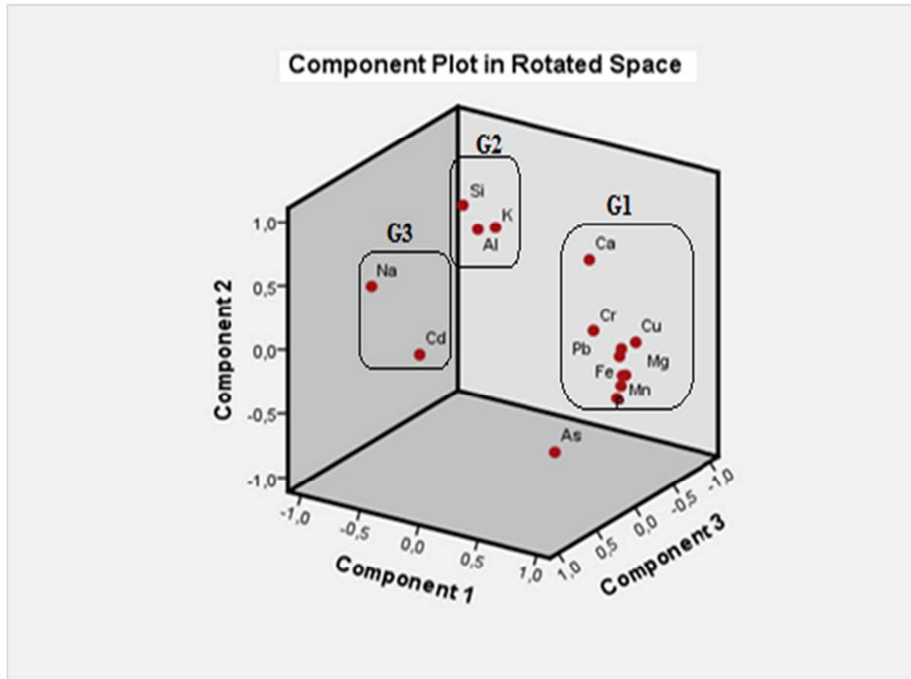
Le tableau 10 regroupe les résultats de la quantification et le dosage des oligo-éléments et des métaux lourds des fruits (gousses et graines séparément) du *Ceratonia siliqua* L. entre une espèce hermaphrodite et autre dioïque par Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP/MS). Il a été révélé que le potassium (K) est le composé majoritaire, suivi du calcium (Ca) et du phosphore (P). Les résultats sont conformes aux normes citées par différents auteurs.

**Tableau 10 :** Concentration totale des oligo-éléments et des métaux lourds des fruits de *C. siliqua* L. par Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP/MS), comparées aux normes chez les plantes citées par différents auteurs.

Oligo-éléments et métaux lourds	Espèces hermaphrodite		Espèces dioïque		Normes chez les plantes (mg/kg)	Références
	Graines (mg/kg)	Gousses (mg/kg)	gousses (mg/kg) Battle & Tous, 1997, Shawakfeh et Erefej, 2005	gousses (mg/kg) Iipumbu, 2008		
<b>Al</b>	0,188 ± 0,055	0,183 ± 0,008	/	/	200 ≥ 1000	Jansen <i>et al.</i> , 2002
<b>As</b>	0,043 ± 0,013	0,046 ± 0,007	/	/	5	British Herbal Medicine Association, 1996
<b>Ca</b>	<b>39,075 ± 8,499</b>	<b>44,715 ± 7,862</b>	9-35	13-30	1830.2-2042.5	Xu <i>et al.</i> , 2010
<b>Cd</b>	0,071 ± 0,001	0,069 ± 0,0004	/	/	2	Codex Alimentarius, 2001a
<b>Cr</b>	0,054 ± 0,008	0,080 ± 0,032	/	/	0,006-18	Zayed & Terry, 2003
<b>Cu</b>	0,0036 ± 0,000	0,026 ± 0,020	0,1-0,3	0,007-0,02	0,4-45,8	Kabata-Pendias & Pendias, 1984
<b>Fe</b>	0,326 ± 0,0264	0,490 ± 0,226	0,3-2,9	0,04-0,09	640-2486	Lavilla <i>et al.</i> , 1999
<b>K</b>	<b>93,946 ± 39,244</b>	<b>88,861 ± 10,302</b>	60-86	85-109	/	/
<b>Mg</b>	<b>5,864 ± 1,203</b>	<b>10,024 ± 5,582</b>	1-5	5-10	0,73-1,41	Witkowski & Lamont, 1996
<b>Mn</b>	0,160 ± 0,026	0,255 ± 0,113	0,760-0,152	0,06-0,123	15-100	Misra & Mami, 1991
<b>Na</b>	<b>2,442 ± 0,251</b>	<b>1,846 ± 0,379</b>	4-8	0,4-1,5	/	/
<b>P</b>	<b>12,444 ± 4,202</b>	<b>22,607 ± 13,538</b>	69.1-79.0	85-109	/	/
<b>Pb</b>	0,057 ± 0,005	0,075 ± 0,016	/	/	3	Codex Alimentarius, 2001b
<b>Si</b>	0,709 ± 0,074	0,704 ± 0,058	/	/	/	/
<b>Zn</b>	0,072 ± 0,051	0,151 ± 0,120	0,5-1,4	0,01-0,07	1-160	Kabata-Pendias & Pendias, 1984

Al: Aluminium, As: Arsenic, Ca: Calcium, Cd: Cadmium, Cr: Chrome, Cu: Cuivre, Fe: Fer, K: Potassium, Mg: Magnésium, Mn: Manganèse, Na: Sodium, P: Phosphore, Pb: Plomb, Si: Silicium, Zn: Zinc

L'analyse des composantes principale (ACP) (Fig.20) tridimensionnelle des oligo-éléments et des métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* L. a révélé la formation de trois groupes selon l'axe 1 (Facteur1) qui représente le plus d'inertie. Le groupe G1 (Ca-Cu-Mg-Mn-Fe-Cr-Pb) et le groupe G2 (Al-K-Si) sont corrélés positivement. Alors que sur le côté négatif apparaît le groupe G3 et qui est composé par le Na et le Cd.



**Figure 20** : Analyses des composantes principales (ACP) des oligo-éléments et des métaux lourds des gousses et des graines de *Ceratonia siliqua* L. G1 (Ca-Cu-Mg-Mn-Fe-Cr-Pb), G2 (Al-K-Si), G3 (Na-Cd).

#### Analyse de la variance à un seul facteur ANOVA I

L'application de l'analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA I), a indiqué une différence significative entre les concentrations des oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* L.

**Tableau 11** : corrélation bi-variée de Pearson entre les oligo-éléments et les métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* L.

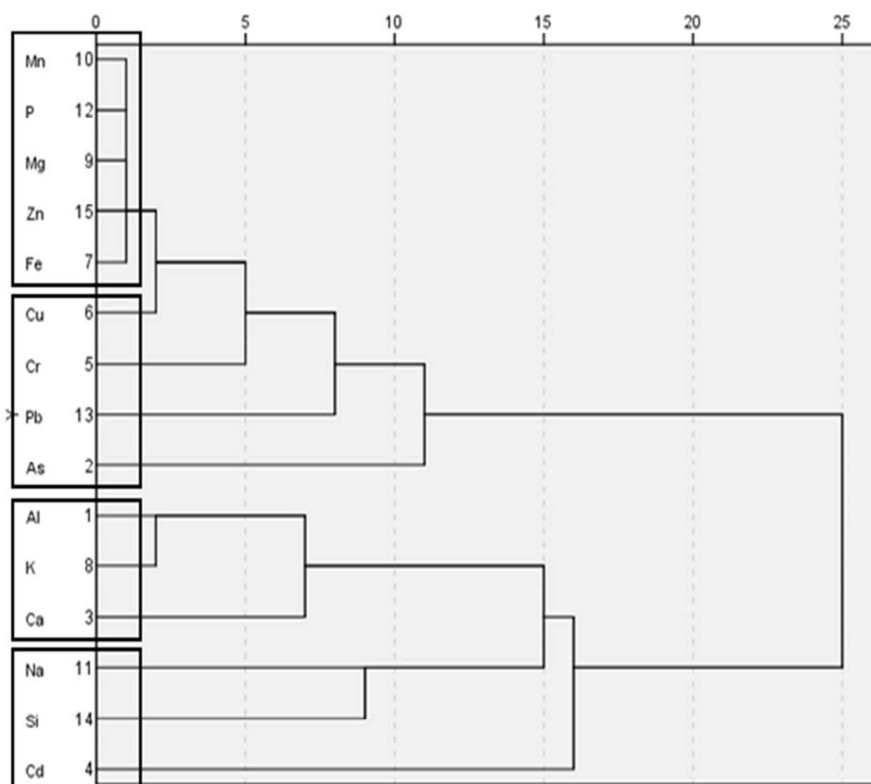
	Al	As	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Si	Zn
<b>Al</b>	1														
<b>As</b>	-0,668	1													
<b>Ca</b>	0,605	-0,22	1												
<b>Cd</b>	0,454	0,036	-0,022	1											
<b>Cr</b>	0,276	0,108	0,682	-0,077	1										
<b>Cu</b>	-0,025	0,436	0,722	-0,293	0,764	1									
<b>Fe</b>	0,05	0,462	0,722	-0,071	0,838*	0,964**	1								
<b>K</b>	0,945**	-0,595	0,729	0,42	0,217	0,1	0,15	1							
<b>Mg</b>	-0,125	0,591	0,605	-0,133	0,776	0,960**	0,984**	-0,015	1						
<b>Mn</b>	-0,152	0,57	0,59	-0,2	0,803	0,961**	0,977**	-0,058	0,996**	1					
<b>Na</b>	0,393	-0,63	-0,401	0,498	-0,629	-0,916*	-0,842*	0,299	-0,904*	-0,923**	1				
<b>P</b>	-0,205	0,635	0,535	-0,16	0,765	0,940**	0,966**	-0,106	0,995**	0,996**	-0,918**	1			
<b>Pb</b>	-0,263	0,591	0,402	-0,39	0,273	0,803	0,669	-0,086	0,719	0,7	-0,829*	0,699	1		
<b>Si</b>	0,65	-0,828*	0,202	-0,035	-0,355	-0,386	-0,49	0,649	-0,603	-0,614	0,576	-0,67	-0,232	1	
<b>Zn</b>	-0,309	0,708	0,451	-0,156	0,686	0,904*	0,931**	-0,193	0,979**	0,977**	-0,915*	0,992**	0,703	-0,733	1

\*\* La corrélation est significative à  $\alpha < 0.01$ .

\* La corrélation est significative à  $\alpha < 0.05$ .

A travers le tableau ci-dessus, les résultats de la corrélation entre les concentrations en oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines de *Ceratonia siliqua* L. ont indiqué une corrélation positive et négative très significative à  $\alpha < 0.05$  et  $\alpha < 0.01$ .

On a observé une corrélation positive à  $\alpha < 0.01$  pour les assemblages suivants: Cu- Mg- Mn-P-Zn, Cr-Fe-Mg-Mn-P, et K-Mn-P-Zn. D'autres parts, Mn-P-Zn ont été négativement corrélés et certains éléments n'ont pas été corrélés comme le Fe-Mg-Mn- P-Zn et K-Al.



**Figure 21:** dendrogramme de classification ascendante hiérarchique (CAH).

Le dendrogramme de classification ascendante hiérarchique (CAH) des oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* a révélé la formation de quatre groupes. Le premier groupe regroupe le manganèse (Mn), le phosphore (P), le magnésium (Mg), le zinc (Zn) et le fer (Fe). Le deuxième groupe est composé par le cuivre (Cu), le chrome (Cr), le plomb (Pb) et l'arsenic (As). Le troisième groupe formé d'aluminium (Al), de potassium (K) et de calcium (Ca). Le quatrième groupe englobe le sodium (Na), le silicium (Si) et le cadmium (Cd) (Fig. 21).

## 2.2. Discussions

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est une espèce légumineuse de la région méditerranéenne, dont le fruit a fait l'objet d'un grand nombre d'études morphologiques et économiques (Crossa-Raynaude, 1960; Marakis *et al.*, 1988 ; Navaro, 1992; Tous *et al.*, 1996; Batlle et Tous, 1997; Gharnit *et al.*, 2001).

Les gousses et les graines marquent des variabilités importantes en matière de composition chimique (Binder *et al.*, 1958; Calixto et Cañellas, 1982; Blenford, 1988; Bravo *et al.*, 1994; Petit et Pinilla, 1995; Marakis, 1996, Avallone *et al.*, 1997; Owen *et al.*, 2003 ; Markis et Kefalas, 2004 ; Dakia, 2008) . L'USDA (2006) et Biner *et al.* (2007), attribuent ces différenciations à plusieurs facteurs comme la variété de l'espèce, les conditions climatiques et la méthodologie adoptée ...etc.

Cet arbre est d'une importance économique considérable, ses gousses sont plus riches en sucre que la canne à sucre et la betterave sucrière, elles sont utilisées en industrie alimentaire et en pharmacologique ainsi dans le domaine de l'alimentation de bétail (NAS, 1979; Batlle et Tous, 1997; Markis et Kefalas, 2004).

En Algérie, la situation du caroubier demeure méconnue, en particulier dans la région Nord-ouest et cela malgré l'engouement et l'intérêt qui lui sont portés depuis quelques décennies par des industriels, notamment de Tlemcen, pour fins d'exportation à destination du marché Européen. La cératoniculture peut jouer un rôle important dans la mise en valeur des terrains en montagne ainsi que des sols des régions steppiques à condition de prendre en considération le caractère frileux de l'espèce. En effet, connaître la situation d'une espèce donnée est une étape primordiale vers la proposition de perspectives en vue de son amélioration.

Le fruit du caroubier, se compose d'une pulpe enveloppant des graines régulières. En effet la pulpe sucrée de la caroube est employée depuis longtemps comme nourriture de bétail à côté d'autres aliments comme la farine d'orge (Ait Chitt *et al.*, 2007).

Selon les travaux d'Avallone *et al.*, (1997) ; Bengoechea *et al.*, (2008), la gousse de caroube est riche en hydrates de carbone et en fibres, elle contient une faible quantité de protéines et des teneurs négligeables en lipides ; quant à la teneur de la caroube en minéraux elle est appréciable. La composition chimique de la graine a été évaluée par Bouzouita *et al.*, (2007), qui a démontré que la graine était pauvre en minéraux en fibres et en protéines, par contre elle contient une quantité appréciable de lipides.

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de ce taxon, nous avons réalisé une évaluation complète des éléments minéraux des gousses et des graines par Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP/MS), cette analyse est devenue une technique très populaire depuis les années 1980. Cette dernière forme un outil très efficace pour le dépistage rapide. De plus, cette technique ne nécessite pas la présence d'étalon de calibrage (Woods *et al.*, 2004), ce qui facilite l'analyse des échantillons inconnus.

La quantification des oligo-éléments et métaux lourds des échantillons de gousses et de graines de *C. siliqua* par la technique citée montrent que les concentrations en oligo-éléments et métaux lourds dans les fruits de *C. siliqua* (gousses et graines séparément) sont classées dans l'ordre suivant: K > Ca > P > Mg > Na > Si > Fe > Al > Mn > Zn > Cd > Pb > Cr > As > Cu (Tab.10). Cependant, la teneur de chaque élément sont connus pour changer (Petit et Pinilla ; 1995, Shawakfeh et Erefej ; 2005).

L'analyse de ces résultats montre que le potassium présente une prédominance remarquable avec 93.94 mg/Kg et 88,61mg/Kg dans les graines et les gousses respectivement (Tab. 10). Selon Iipumbu (2008), les gousses de *C. siliqua* présentent entre 85 à 109mg/Kg. D'autre part, des études ont montré que les gousses du *Ceratonia* contiennent entre 60 à 86 mg/kg (Battle et Tous, 1997; Shawakfeh et Erefej, 2005). D'après Petit et pinilla (1995) et Ozcan *et al.* (2007) la gousse est une bonne source de potassium avec 80 mg/Kg.

Le potassium est un macronutriment essentiel pour la croissance des plantes, utile à la circulation de la sève et à l'assimilation des éléments nutritifs par les plantes (Schachtman et Shin, 2007, Amtmann et Armengaud, 2009). Il joue également un rôle primordial au niveau cellulaire, il maintient le port de la plante par son effet majeur sur la turgescence des cellules et la constitution de parois cellulaires résistantes (Benito *et al.*, 2014). Le potassium améliore leur résistance au gel, aux ravageurs et maladies, la couleur et la qualité gustative des fruits, ainsi que la conservation des légumes racines, il intervient sur la composition et la qualité de nombreuses productions (équilibre sucre/acidité, teneur en vitamine C, composés aromatiques, qualité des fibres...) (Leigh et Wyn Jones ; 1984).

Le calcium est le deuxième élément le plus abondant dans les graines et les gousses de *C. siliqua* avec 39.07 mg/kg et 44.71 mg/kg respectivement. Les résultats obtenus pour les gousses se rapprochent de ceux cités dans la bibliographie (Yousif et Alghzawi, 2000 ; Ozcan *et al.*, 2007 ; Biner *et al.*, 2007). D'autres études montrent que les graines et les gousses de *Ceratonia* représentent entre 9 à 35 mg/kg respectivement (Battle et Tous,

1997; Shawakfeh et Erefej, 2005; Iipumbu, 2008).

Le calcium fait partie des éléments minéraux essentiels à la croissance d'une plante. Il a de nombreux rôles physiologiques et est absolument nécessaire dans de nombreux processus biochimiques. Il joue son principal rôle à l'extérieur des cellules. L'une des fonctions premières du calcium est de créer des liens entre les parois des cellules. Il maintient donc la structure entre les cellules en les cimentant les unes aux autres (Achille, 2006). Le calcium contribue à maintenir la qualité des fleurs, des fruits et des légumes à la suite de la récolte et durant l'entreposage. Il augmente également la valeur alimentaire des fourrages (Easterwood, 2002).

Les graines et les gousses de *Ceratonia* sont également très riches en phosphore, ils représentent environ 12, 44 mg/kg et 22, 60 mg/kg respectivement.

Le phosphore est un élément qui est largement distribué dans la nature (FAO, 2004). Il est considéré, comme un constituant fondamental de la vie des plantes et des animaux. Le phosphore a un rôle dans une série de fonctions du métabolisme de la plante et il est l'un des éléments nutritifs essentiels nécessaires pour la croissance et le développement des végétaux. Il a des fonctions à caractère structural dans des macromolécules telles que les acides nucléiques et des fonctions de transfert d'énergie dans des voies métaboliques de biosynthèse et de dégradation, A la différence du nitrate et du sulfate, le phosphore n'est pas réduit dans les plantes mais reste sous sa forme oxydée la plus élevée (Marschner, 1993).

Les résultats obtenus montrent aussi que les graines de *C. siliqua* comportent 10.024 mg/kg de magnésium. Tandis que, les gousses ne contiennent que la moitié (5.864 mg/kg).

Le magnésium est un élément crucial dans la photosynthèse, il forme l'atome central de la chlorophylle, (Sarma et al., 2014). Son niveau dans les chloroplastes régule l'activité de certaines enzymes impliquées dans ce phénomène. Il favorise l'absorption du phosphore et son transport dans les graines où il favorise la synthèse des lipides (Sarma et al., 2014 ; Shaul, 2002). En plus de son rôle dans la photosynthèse, ce cation est primordial pour l'agrégation des ribosomes et aussi pour le bon fonctionnement de certaines enzymes responsables de différentes activités cellulaires (Shaul, 2002).

Les métaux lourds sont définis comme étant les éléments métalliques ayant une densité supérieure à 5 g/cm<sup>3</sup> : manganèse, cadmium, mercure, plomb, cuivre, nickel, zinc, cobalt, chrome... (Adriano, 2001). Ceux-ci sont présents le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces. Les plus toxiques d'entre eux sont le cadmium, l'arsenic, le plomb et le

mercure. Ces éléments sont présents naturellement dans la croûte terrestre et dans tout organisme vivant, à des concentrations variables suivant les milieux et les organismes.

Chez les végétaux, certains métaux lourds sont indispensables aux processus physiologiques majeurs, en particulier la respiration, la photosynthèse ou l'assimilation des macronutriments (Cu, Zn, Ni, Fe, Co) (Kabata-Pendias et Pendias, 2001).

Certains de ces métaux sont aussi impliqués dans les processus moléculaires tels que le contrôle de l'expression des gènes, la biosynthèse des protéines, des acides nucléiques, des substances de croissance, de la chlorophylle et des métabolites secondaires, le métabolisme lipidique ou la tolérance au stress (Rengel, 1999). Pour autant, les métaux lourds n'ont pas tous une fonction connue à ce jour dans le métabolisme de la plante et certains sont considérés comme des éléments toxiques (Hg, Cr, Ni, Pb et Cd) (Kabata-Pendias et Pendias, 2001). Tous les métaux lourds peuvent, à partir d'une concentration seuil, induire une toxicité chez les plantes.

L'exposition excessive aux métaux lourds peut conduire à des effets très néfastes sur la santé humaine. Or les produits végétaux sont à la base de la chaîne alimentaire donc ils contribuent à l'imprégnation de l'homme par ces métaux lourds, d'où l'intérêt d'étudier et de contrôler l'accumulation des métaux lourds dans les végétaux.

Le fer (Fe) est un élément essentiel pour la croissance et le développement des plantes. Il est, que ce soit en tant que cofacteur ou élément structural des molécules organiques, intervient dans un grand nombre de voies métaboliques essentielles à la vie cellulaire, telles que la photosynthèse, la respiration, le métabolisme de l'azote ou encore les processus de détoxification. Une carence en cet élément affecte donc l'ensemble des processus physiologiques d'un végétal (Ulrike, 2010). Les résultats indiqués sur le Tableau ci-dessous montrent que la concentration en fer dans les graines et les gousses de *C. siliqua* L. est de 0.326 mg/kg et 0.490 mg/kg respectivement.

Le manganèse (Mn) est le deuxième micronutriment le plus important pour les plantes, immédiatement après le fer. Comme tout autre élément, il peut avoir un facteur limitant sur la croissance des plantes s'il est en quantité insuffisante ou excessive dans les tissus végétaux. Il est comme contributeur majeur à divers systèmes biologiques, incluant la photosynthèse, la respiration et l'assimilation d'azote. Le manganèse est également impliqué dans la germination du pollen, la croissance des tubes polliniques, l'élongation des cellules racinaires et la résistance aux maladies racinaires (Schäfer, 2004). Nos résultats montrent que le manganèse

se concentre dans les gousses de *Ceratonia* (0.255 mg/kg) plus que dans les graines (0.160 mg/kg) (Tab.10).

Le zinc est un composant essentiel d'un grand nombre d'enzymes participant à la synthèse et la dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques ainsi que dans le métabolisme des autres micronutriments (McCall *et al.*, 2000). De ce fait le zinc est impliqué dans l'expression des gènes, la croissance et la division cellulaire et de reproduction (Prasad, 2009). Le zinc protège aussi la plante des stress oxydants en conditions de forte lumière et de sécheresse. La teneur en zinc est relativement élevée dans les graines, les légumineuses et les céréales complètes et est plus faible dans les tubercules, les céréales raffinées, les fruits et les légumes (Brown *et al.*, 2001 ; IZINCG, 2004). D'après le tableau 10, les graines de *C. siliqua* comportent 0.072 mg/kg de zinc. Ce pendant, les gousses contiennent 0.151 mg/kg.

La plupart des végétaux contiennent de l'aluminium (Al). Les plantes en absorbent des quantités limitées à partir des sols sous forme soluble (Al<sup>3+</sup>). Bien qu'on ne lui attribue pas de rôle physiologique spécifique, on constate que l'apport de cet élément est responsable d'un effet, soit bénéfique, soit toxique, se traduisant sur la croissance végétale (Aimi et Murakami, 1964 ; Guerrier et Morard, 2012). Cette toxicité se manifesterait par l'inhibition de la division cellulaire (Curkson, 1966) et de la croissance racinaire (Aimi et Murakami, 1964).

Le cadmium n'est pas essentiel au développement des organismes animaux ou végétaux. L'effet toxique du cadmium sur la croissance de la plante se manifeste par une réduction de la croissance des parties aériennes et des racines (Ghnaya *et al.*, 2005 ; Zorrig *et al.*, 2010) affectant ainsi dramatiquement la production de la biomasse. Ces effets peuvent être liés, entre autres, à la perturbation de l'équilibre de certaines hormones de croissance, notamment l'auxine (Hasenstein *et al.*, 1988), à la perturbation de l'homéostasie des éléments minéraux essentiels pour la croissance des plantes (Das *et al.*, 1997), à une action délétère du cadmium sur la composition des parois cellulaires (Chaoui et El Ferjani, 2005), ainsi qu'à des perturbations de la machinerie photosynthétique, notamment la structure des chloroplastes et la biosynthèse de la chlorophylle (Mobin et Khan, 2007 ; Ebbs et Uchil, 2008).

Aucun intérêt du sélénium n'a été démontré pour les plantes. C'est pour cela que la complémentation des sols n'est pas une pratique courante et que les concentrations sont très variables. L'incorporation du sélénium dans les végétaux se fait sous forme organique. Il en est de même pour les aliments riches en protéines dans lesquels il est lié aux acides aminés soufrés que sont la méthionine et la cystéine.

D'après Underwood et Suttle (2004), les concentrations présentes dans les céréales varient largement suivant les endroits, allant de 0,006 mg/kg de matière sèche dans les aires déficientes de Suède et de Nouvelle-Zélande à 3,06 mg/kg de matière sèche au Canada, par exemple. Pour les fourrages, la concentration est inférieure à 0,05 mg Se/kg de matière sèche, voire à 0,02 mg Se/kg de matière sèche dans les zones où les carences s'expriment cliniquement. Enfin les légumineuses sont moins riches en sélénium que les graminées.

Les éléments traces suivants : fer, manganèse, zinc et cuivre ; concernant les gousses nos résultats sont inférieurs à ceux de Battle et Tous (1997) et Shawakfeh et Erefej (2005), supérieurs à ceux de Lipumbu (2008). Cependant, les concentrations de l'aluminium, le cadmium et le sélénium, des graines et des gousses de *Ceratonia* sont très inférieure aux normes (Tab.10).

Selon les valeurs de références (Tab.10), nos résultats des concentrations en oligo-éléments et métaux lourds dans les graines et les gousses de *C. siliqua* mesurées par Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP/MS) n'ont pas atteint les concentrations cytotoxiques. En outre, les résultats ont montré que les graines sont plus riches en oligo-éléments et métaux lourds que les gousses. Ceci explique le rôle de la graine dans l'accumulation des réserves.

L'analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA I), a indiqué une différence significative entre les concentrations des oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines de *Ceratonia* à  $\alpha < 0.001$  pour le potassium (K), l'Aluminium (Al) et de silicium (Si). En outre, les résultats de la corrélation bi-variée de Pearson entre les concentrations de ces éléments de fruits *C. siliqua* (gousses et graines séparément) de ont indiqué une corrélation positive et négative très significative à  $P < 0.05$  et  $P < 0.01$  (Tab.10). Les résultats des corrélations entre les concentrations de ces éléments ont indiqué une corrélation positive à  $\alpha < 0.01$  pour les assemblages suivants : Cu- Mg-Mn-P-Zn, Cr-Fe-Mg-Mn-P et K-Mn-P-Zn. D'autre part, Mn-P-Zn ont été négativement corrélés et certains éléments n'ont pas été corrélés comme le Fe-Mg-Mn- P-Zn and K-Al.

Pour confirmer nos résultats, deux autres traitement statistiques ont été réalisés ; l'analyse en composantes principales (ACP) et le dendrogramme de classification hiérarchique HAC des éléments minéraux.

L'analyse des composantes principale (ACP) tridimensionnelle des oligo-éléments et des métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* L. a révélé la formation de trois groupes selon l'axe 1 (Facteur1) qui représente le plus d'inertie avec 60.04%. Le groupe G1 (Ca-Cu-Mg-Mn-Fe-Cr-Pb) et le groupe G2 (Al-K-Si) sont corrélés positivement. Alors sur le côté négatif apparaît le groupe G<sub>3</sub> et qui est composé de la Na et Cd (Fig.20).

Le dendrogramme de classification ascendante hiérarchique (CAH) des oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* a révélé la formation de quatre groupes (Fig.21). Le premier groupe regroupe le manganèse (Mn), le phosphore (P), le magnésium (Mg), le zinc (Zn) et le fer (Fe). Le deuxième groupe est composé par le cuivre (Cu), le chrome (Cr), le plomb (Pb) et l'arsenic (As). Le troisième groupe formé d'aluminium (Al), de potassium (K) et de calcium (Ca). Le quatrième groupe englobe le sodium (Na), le silicium (Si) et le cadmium (Cd).

Selon Mazid et *al.* (2011), le mode de conduite, les conditions biotiques et abiotiques de l'environnement peuvent être en effet déterminants du comportement biochimique des plantes et de leur effet sur les organismes en interaction. Leur composition biochimique est également susceptible de varier en fonction du stade de développement de la plante et de son état physiologique (âge, plante saine ou malade) (L'ETANG, 2012).

Les facteurs environnementaux et le type de plante ont une influence directe sur la bioaccumulation des oligoéléments et des métaux lourds. Ainsi, la concentration de ces éléments essentiels et non essentiels dans les plantes au-delà de la limite autorisée par les normes, est une question de grande préoccupation pour la sécurité publique partout dans le monde. Une évaluation de la tolérance des éléments minéraux (oligoéléments et métaux lourds) devrait être fondée sur une analyse complète de l'interaction entre leur accumulation dans les plantes et leur statut dans le sol (Erna Wati Ibnu Hajar et *al.*, 2014). Les valeurs maximales pour les métaux lourds dans les médicaments à base de plantes et d'extraits ont été discutées par plusieurs auteurs. Une évaluation d'une base de données détaillée sur les métaux lourds a été publiée par Kabelitz (1998), cette dernière comprenait plus de 12 000 échantillons provenant des analyses de contrôle et de la qualité faites par plusieurs sociétés pharmaceutiques.

La composition chimique du caroubier varie en fonction des cultivars, de l'origine géographique, du temps de la récolte et la durée de stockage et des facteurs environnementaux (Batlle et Tous, 1997; Biner et *al.*, 2007; Iipumbu et *al.*, 2008).

Au vue des résultats obtenus sur la valorisation biochimique du fruit (gousses et graines) du caroubier, une perspective peut s'ouvrir sur son utilisation comme arbre de reboisement et source d'aliments fourrager.

Parmi les espèces utilisées en alimentation de bétail, la luzerne représente le fourrage le plus répandu dans les zones à climat tempéré (Russelle, 2001), l'avoine, le pois fourrager et l'orge. Ce dernier est composé de 85,7% de matière sèche, 9,4% de matière azoté totale, 2,1% de matières grasses, 3,9% de cellulose et 2,5 % de matières minérales (Puccini, 1965).

La valeur nutritionnelle du caroubier est considérée similaire à celle de la plupart des céréales et des légumineuses, elle est comparable à l'orge et supérieure à l'avoine (Bailey, 1947 ; Coit 1962; NAS 1979).

Comparé au févier d'Amérique (*Gleditsia triacanthos* L.) qui est une légumineuse arborescente introduite en Algérie (Putod, 1982), le caroubier fait partie de légumineuse essentiellement méditerranéenne présente un intérêt de plus en plus grandissant en valeur pour des raisons ornementales car résistant à la sécheresse et de croissance rapide.

Bien connu pour sa qualité fourragère, cette espèce a été largement préconisée comme aliment du bétail au début du 20<sup>ème</sup> siècle (Gold, 1997). Les graines de quelques cultivars contiennent pas moins de 12 à 13 % de protéines, et les gousses contiennent jusqu'à 42 % de glucides (Blair, 1990). Les concentrations des oligo-éléments et métaux lourds dans les fruits de *G. triacanthos* (gousses et graines) sont classées dans l'ordre suivant: K> P> Ca> Mg> Na> Fe> Si> Zn> Mn> Al> Cu> Cd> Pb > As> Cr (Benhamiche et al., 2016). Le potassium est le composé majoritaire avec 178.68 mg.kg<sup>-1</sup> et 164.27 mg.kg<sup>-1</sup> respectivement pour les graines et les gousses. le phosphore est le deuxième élément le plus abondant dans les graines de *G. triacanthos* avec 75.027mg.kg<sup>-1</sup>; suivi du calcium dans les gousses le calcium est plus abondant que le phosphore avec 60,64 mg.kg<sup>-1</sup> et 13,06 mg.kg<sup>-1</sup> respectivement.

Comme le caroubier est assez riche en éléments de base (Protéines, sucres, lipides et matières minérales), il peut être utilisé en association avec le fruit du févier d'Amérique pour la fabrication d'un aliment de bétail équilibré et contribuer ainsi à alléger la facturation élevée de l'importation.

La valorisation des coproduits de *C. siliqua* jugée aussi par l'évaluation du pouvoir molluscicide des saponines (saponosides) issues des gousses et des graines de *C. siliqua* sur le mollusque terrestre *Cochlodina fimbriata fimbriata*. Cette partie a été réalisée au laboratoire de biodiversité végétale : conservation et valorisation, département des sciences de l'environnement à l'université Djilali Liabès de Sidi Bel Abbes, Algérie.

La poudre des gousses et des graines séparément du fruit de *C. siliqua* a été utilisée dans cette partie pour déterminer en premier lieu l'indice de mousse qui permet de mettre en évidence le pouvoir aphrogène d'un matériel végétal puis de confirmer sa richesse en saponosides (Annexe 5). En suite, pour préparer les extraits aqueux utilisés dans l'évaluation du pouvoir molluscicide des saponosides de cette espèce sur le mollusque terrestre *Cochlodina fimbriata fimbriat* (Annexe 5).

Selon l'organisation mondiale de la santé WHO (1983), les légumineuses, les euphorbiacées, les rubiacées, les polygonacées et les astéracées présentent la proportion la plus élevée d'espèces montrant une activité molluscicide.

Notons que les saponines sont absents chez de *C. siliqua* et n'ont aucun effet sur les mollusques (Annexe 5), par contre d'autres légumineuses comme le genre *Gleditsia* présentent un effet molluscicide très efficaces contre les mollusques nuisibles même à faibles concentrations (Yoshikawa et *al.*, 2007 ; González-Cruz et San Martín, 2013). Selon la publication de l'organisation mondiale de la santé (WHO, 1983) et Benhamiche et *al.*, 2015, l'extrait aqueux des gousses du févier d'Amérique (*G. triacanthos*) peut être considéré comme molluscicide actif puisque les résultats ont montré 75% de mortalité.

*Conclusion* \_\_\_\_\_

### ***Conclusion et perspectives***

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), une légumineuse typiquement méditerranéenne, cultivé depuis longtemps pour divers usages. Comparativement aux essences forestières, cette espèce agro-sylvo-pastorale, ayant d'énormes intérêts socio-économiques et écologiques, reste encore très peu étudiée.

Au cours de ces travaux de recherche, nous avons pu, en premier lieu, catégoriser les trois différentes provenances du caroubier en se basant sur l'analyse des traits morpho agronomiques liés aux fruits hermaphrodites et dioïques dans la région Nord Occidentale Oranaise (polymorphisme phénotypique). En second lieu la quantification des oligo-éléments et des métaux lourds des fruits hermaphrodites de *C. siliqua* (gousses et graines séparément) par Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP/MS).

L'étude phénotypique basée sur les traits des gousses de trois différentes provenances de caroubier a permis de révéler un niveau élevé de polymorphisme morphologique, diverses couleurs allant du brun clair au brun foncé (différence entre espèce dioïque et hermaphrodite) et une différence entre les formes de gousses (deux formes de gousses droite et courbée).

Les résultats obtenus montrent que les graines et les gousses de *C. siliqua* L. sont très riches en éléments de base comme le potassium (K), le calcium (Ca), le phosphore (P) et le magnésium (Mg). En même temps, les concentrations des métaux lourds comme le chrome (Cr), le plomb (Pb) et le cadmium (Cd) qui sont considérés comme éléments toxiques, sont très inférieurs par rapport aux normes, citées par différents auteurs chez les plantes.

Cependant, nous avons noté que les concentrations de quelques éléments tels que le calcium ( $44,715 \pm 7,862$  mg/kg pour les gousses et  $39,075 \pm 8,499$  mg/kg pour les graines), le phosphore ( $22,607 \pm 13,538$  mg/kg pour les gousses et  $12,444 \pm 4,202$  mg/kg pour les graines), et le magnésium ( $10,024 \pm 5,582$  mg/kg pour les gousses et  $5,864 \pm 1,203$  mg/kg pour les graines), sont plus importantes dans les gousses que les graines ; tandis que la concentration du potassium est plus élevée dans les graines ( $88,861 \pm 10,302$  mg/kg pour les gousses et  $93,946 \pm 39,244$  mg/kg pour les graines).

L'analyse des composantes principale (ACP) tridimensionnelle des oligo-éléments et des métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* L. a révélé la formation de trois groupes selon l'axe 1 (Facteur1) qui représente le plus d'inertie. Le groupe G1 (Ca-Cu-Mg-

Mn-Fe-Cr-Pb) et le groupe G2 (Al-K-Si) sont corrélés positivement. Alors que sur le côté négatif apparaît le groupe G<sub>3</sub> et qui est composé par le Na et le Cd.

L'analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA I), a indiqué une différence significative entre les concentrations des oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines de *Ceratonia* à  $\alpha < 0.001$  pour le potassium (K), l'Aluminium (Al) et de silicium (Si). En outre, les résultats de la corrélation bi-variée de Pearson entre les concentrations de ces éléments de fruits *C. siliqua* (gousses et graines séparément) de ont indiqué une corrélation positive et négative très significative à  $P < 0.05$  et  $P < 0.01$  (Tab.10). Les résultats des corrélations entre les concentrations de ces éléments ont indiqué une corrélation positive à  $\alpha < 0.01$  pour les assemblages suivants : Cu- Mg-Mn-P-Zn, Cr-Fe-Mg-Mn-P et K-Mn-P-Zn. D'autre part, Mn-P-Zn ont été négativement corrélés et certains éléments n'ont pas été corrélés comme le Fe-Mg-Mn- P-Zn and K-Al.

En fin, le dendrogramme de classification ascendante hiérarchique (CAH) des oligo-éléments et métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* a révélé la formation de quatre groupes. Le premier groupe regroupe le manganèse (Mn), le phosphore (P), le magnésium (Mg), le zinc (Zn) et le fer (Fe). Le deuxième groupe est composé par le cuivre (Cu), le chrome (Cr), le plomb (Pb) et l'arsenic (As). Le troisième groupe formé d'aluminium (Al), de potassium (K) et de calcium (Ca). Le quatrième groupe englobe le sodium (Na), le silicium (Si) et le cadmium (Cd).

Les résultats obtenus demeurent ainsi équilibré. Ce qui milite en faveur de l'utilisation des fruits du caroubier notamment le fruit hermaphrodites (graines et gousses) dans plusieurs domaines industriels comme l'industrie agroalimentaire, pharmaceutiques, et pour la production d'alimentation du bétail.

Au vu de la demande internationale et de l'importation de certains dérivés de la caroube, nous souhaitons que ces chiffres décident quelques investisseurs à investir dans la Ceratoniculture et des propriétaires marginaux à utiliser cet arbre d'avenir.

Comme perspectives, nous envisageons de compléter l'étude sur l'évaluation biochimique (acides aminés, vitamines...), afin de pouvoir atteindre un régime nutritionnel équilibré entre deux légumineuses : existante en Algérie en l'occurrence le Caroubier et le févier d'Amérique et ce, pour subvenir d'une part à l'alimentation du bétail, et d'autre part réduire la facture exorbitante de l'importation des aliments du bétail. Ce qui pourrait donner au caroubier un essor dans le contexte socio-économique.

| *Conclusion et perspectives*

L'introduction massive de l'espèce hermaphrodite dans les reboisements augmentera la production de caroube car on limite au maximum les pieds male improductifs dans les plantations.

*Annexes*





MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DU DÉVELOPPEMENT RURAL ET DE  
LA PÊCHE  
DIRECTION GÉNÉRALE DES FORÊTS

NOTE D'ORIENTATION  
RELATIF ATELIER SOUS RÉGIONAL PORTANT SUR LA  
VALORISATION DES PRODUITS FORESTIERS NON LIGNEUX  
(LE GREFFAGE DE PIN PIGNON ET DE CAROUBIER)

**Contexte**

Un atelier portant sur la valorisation des produits forestiers non ligneux a été organisé, conjointement par l'Organisation des Nations Unies Pour l'Alimentation et l'Agriculture (F.A.O), la Direction Générale des Forêts, et l'Institut National de la Recherche Forestière, les **16 et 17 Novembre 2016** à l'Institut National de la Recherche Forestière à Bainem. Cet atelier fait partie «d'un programme d'action et s'inscrit dans le cadre de la coopération entre le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural et de la Pêche (MADRP) et l'Organisation des Nations Unies Pour l'Alimentation et l'Agriculture (F.A.O).

L'objectif recherché étant le renforcement des capacités techniques régionales de greffage de pin pignon et du caroubier permettant aux scientifiques et aux personnes exerçant au niveau des pépinières d'acquérir les techniques d'amélioration de la production tant quantitative que qualitative en fonction des besoins des marchés.

L'atelier a vu la participation, au niveau national, des représentants appartenant aux structures forestières, le secteur privé (pépinières privées, SARL BOUBLENZA) et étatique (EAGR) ainsi que les Participants internationaux issus du centre de recherche forestière et des stations régionales de semences du Maroc; et de la Direction Générale des Forêts tunisienne ;

L'encadrement technique a été assuré par les experts et chercheurs espagnols de l'Institut de Recherche et Technologie Agroalimentaire et du Centre Technologique Forestier de Catalogne (IRTA, CTFC) ;

A l'issue de cet atelier, il a été jugé utile, de développer ces deux espèces qui présentent un intérêt tant sur le plan écologique par leur adaptation à la sécheresse, leur Indifférence au sol et leur tolérance à la salinité que biologique par leur résistance aux incendies et aux maladies.

Elles présentent également un Intérêt socioéconomique car elles constituent une source de revenu stable pour les populations rurales par l'exploitation des graines qui font l'objet de transactions commerciales.

En Algérie, ces 02 espèces se trouvent en état dispersées et leur répartition spatiale est mal connue. Les techniques de greffage de pin pignon et de caroubier notamment pin pignon sur pin d'Alep ne sont pas à la portée des techniciens forestiers voir non maîtrisées, l'exploitation des graines de ces deux espèces et leur utilisation ne sont pas contrôlées et non réglementées par l'administration des forêts;

Il est à signaler qu'un intérêt est porté par des industriels pour ces deux espèces notamment le Caroubier au niveau de Tlemcen et de Bejaia, à des fins d'exportation.

Compte tenu de la situation actuelle qui prévaut pour ces deux espèces, il a été jugé utile de mettre place un programme d'action permettant de valoriser le potentiel existant et de créer des peuplements forestiers à base de ces deux espèces par les différentes techniques qui se résument à travers les points suivants :

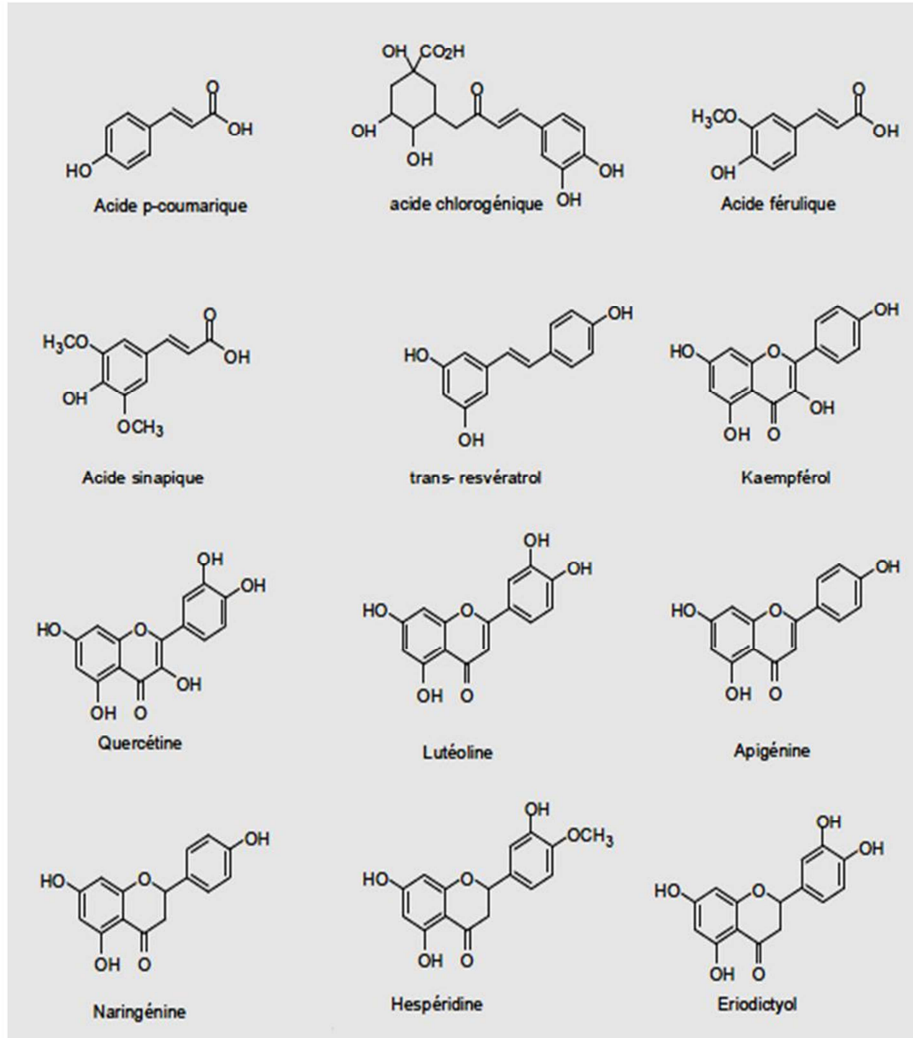
- Etablir un état des lieux de la ressource et reconstituer toutes les informations disponibles en matière de répartition sur support cartographique, nombre d'arbre, son utilisation (exploitation par les entreprises à des fins d'exportation ou utilisé comme aliment de bétail par la population) ;
- Identifier les peuplements de pin d'Alep pouvant faire l'objet de greffage ;
- Identifier les investisseurs potentiels aptes à financer les projets de plantations et de greffage de ces espèces ;
- Vu leur importance économique, il est souhaitable d'orienter les programmes de reboisement en privilégiant ces deux espèces dans le cadre de l'adaptation du plan national de reboisement;
- La technique de greffage de ces deux espèces n'étant pas maîtrisé par les techniciens forestiers, des programmes de formation, de vulgarisation et d'assistance technique seront organisée par la DGF en collaboration avec l'INRF au profit des techniciens des conservations de forêts concernées ;
- Il est souhaitable de créer des sites expérimentaux pour ces deux espèces au niveau de chaque circonscription ayant une superficie ne dépassant pas 2 ha. Ces sites expérimentaux seront mis en œuvre par les forestiers avec un encadrement technique de l'INRF ;

- L'INRF assistera techniquement les pépinières de l'administration des forêts dans le domaine de greffage afin de produire des plants greffés destinés à la mise en œuvre des sites expérimentaux ;
- Créer un module spécifique sur les techniques de greffage des plants forestiers afin de l'intégrer dans le programme pédagogique au niveau des centres de formation forestières et l'école nationale des forêts ;
- Tenir des journées nationales pour la promotion de ces espèces impliquant toutes les parties concernées y compris le secteur privé dans le but de la création et l'organisation de ces deux filières ;



عن الوزير وبتكليف منه  
مكلف بمهام مدير عام الغابات بالنيابة  
عبد المالك عيسى الفتح

Annexe 2 : Structures chimiques de quelques Polyphénols



**Annexe 3: Coordonnées des variables des oligo-éléments et des métaux lourds des gousses et des graines de *C. siliqua* L.**

<b>Variables</b>	<b>Facteur 1</b>	<b>Facteur 2</b>	<b>Facteur 3</b>
<b>Al</b>	0,000	0,926	0,339
<b>As</b>	0,503	-0,785	0,107
<b>Ca</b>	0,688	0,704	-0,057
<b>Cd</b>	-0,099	0,136	0,948
<b>Cr</b>	0,825	0,233	0,100
<b>Cu</b>	0,969	0,057	-0,233
<b>Fe</b>	0,998	0,048	0,025
<b>K</b>	0,099	0,935	0,262
<b>Mg</b>	0,992	-0,121	-0,023
<b>Mn</b>	0,986	-0,134	-0,070
<b>Na</b>	-0,869	0,295	0,391
<b>P</b>	0,977	-0,205	-0,028
<b>Pb</b>	0,694	-0,140	-0,468
<b>Si</b>	-0,519	0,783	-0,263
<b>Zn</b>	0,946	-0,309	-0,021

Annexe 4 : les instructions de l'investissement dans le domaines forestier.

36  
nulis

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة الفلاحة والتنمية الريفية و الصيد البحري  
Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche  
المديرية العامة للغابات  
Direction Générale des Forêts

COUVERTURE IMPRIMÉE  
Le 25 JAN 2018  
N° 33

رقم 23 JAN 2018 ..... الجزائر في N° 114 - B. G. E. G. F. D. M. F. M. A. N. 2018

Messieurs les Conservateurs des Forêts - Tous  
INSTRUCTION N° 01

Notre pays a enclenché en 2016, une stratégie nationale à travers un nouveau modèle de croissance pour l'économie algérienne. Ce nouveau modèle économique vise à promouvoir la croissance, diversifier l'économie et créer de l'emploi, pour une équité sociale affranchie de la dépendance des hydrocarbures.

Le secteur des forêts a un rôle considérable à faire valoir pour contribuer à la relance économique nationale à travers la conservation, la restauration, l'exploitation et l'utilisation durable des ressources naturelles.

Les produits forestiers ligneux et non ligneux représentent un élément important de l'économie de notre pays. Les forêts sont une source indispensable d'aliments, de médicaments, de matières premières et de revenus.

La loi 84-12 portant régime général des forêts stipule en son article 3 que la protection et le développement des forêts sont une exigence fondamentale de la politique nationale de développement économique et social. A ce titre, la loi autorise plusieurs usages dans le domaine forestier national et prévoit son exploitation.

Dans ce contexte, la Direction Générale des Forêts a organisé le Salon National de l'Investissement Forestier, dont l'objectif est de partager des expériences et les bonnes pratiques dans le but de sensibiliser et de montrer au grand public ainsi qu'aux investisseurs, les possibilités qu'offre le patrimoine forestier en matière d'investissement et de sa participation à l'économie nationale.

L'économie forestière doit trouver sa place dans tous les territoires à travers, l'appui, l'encouragement, voire l'incitation à la création d'activités forestières nouvelles indispensables pour répondre aux attentes des investisseurs potentiels.

Suite aux instructions données par Monsieur le Ministre de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche, lors du salon national, il vous est demandé à tous de vous engager pleinement à travers des efforts continus afin de favoriser l'émergence d'investisseurs pour développer un partenariat économique au sein de la forêt et de traduire les recommandations ci-dessous en plan d'action.

#### Pour les wilayas de Nord

- Assainir et octroyer tous les périmètres d'autorisation d'usage pour les plantations d'espèces rustiques et à hautes valeurs économiques tels que le caroubier, l'amandier, le pistachier, le noyer, le châtaigner, le cerisier, le merisier etc....;
- Conforter les bénéficiaires ayant consenti un investissement et obtenu des résultats positifs en matière de mise en valeur dans le cadre de l'autorisation d'usage conformément aux textes réglementaires;
- Encourager la création de pépinières dédiées à la production notamment de plantes aromatiques et médicinales;
- Créer de nouveaux périmètres dans le domaine public dans le souci de planter des espèces à croissance rapide et économique pour la création de forêts de protection ou de production ;
- Identifier et quantifier les principales espèces aromatiques et médicinales susceptibles d'être exploités et les mettre à la disposition des investisseurs ;
- Faciliter, encourager et accompagner l'accès à l'investissement privé notamment pour l'exploitation des plantes aromatiques et médicinales ;
- Créer de nouveaux périmètres pour la domestication de plantes aromatiques et médicinales ;
- Proposer un programme de développement de l'écotourisme en concertation avec la direction du tourisme ;
- Accélérer les procédures d'autorisation d'usage pour la création des forêts récréatives tout en respectant les conditions exigées dans le décret et ce conformément à la circulaire fixant les modalités d'octroi ;
- Mettre en application les résultats de la recherche forestière et scientifique ;
- Axer les interventions sur la vulgarisation et la communication en collaboration avec les autorités locales, en mettant en place un système permanent d'information ;
- Exploiter au mieux le potentiel subéricole à travers les plans d'aménagement afin d'augmenter la production de liège ;
- Mettre en œuvre les plans simples de gestion pour augmenter la production de bois (Eucalyptus, Pin d'Alep, Pin Maritime, Chêne Zeen) ;
- Exploiter la filière charbon pour sa valorisation et sa modernisation ;
- Multiplier les interventions de la police forestière sur la surveillance et le contrôle des produits forestiers ligneux et non ligneux en matière de transport et de délits.

Pour les wilayas des hauts plateaux, en plus des activités énumérées pour les wilayas du nord il y a lieu de procéder à la réhabilitation et l'extension des espèces adaptées aux conditions écologiques de la région telles que le Pistachier, l'Amandier et l'olivier.

#### Pour les wilayas du Sud

- Mettre en application les résultats des études réalisées par la DGF pour la réhabilitation et l'extension des espèces adaptées à la sécheresse telles que l'Acacia, l'Arganier, le Cyprès du Tassili ;
- Accompagner et encourager les investisseurs à la création des pépinières pour la production de plants spécifiques à la région ;

Pour ce faire, chaque conservation est tenue d'établir un plan de développement ne dépassant pas le premier trimestre 2018, élaboré sur la base des potentialités existantes, qui sera validé en concertation avec les directions techniques concernées.

L'évaluation des conservations se fera sur la base de l'avancement dans la mise en oeuvre du programme tracé. Le canevas de suivi est joint à la présente instruction et sera renseigné tous les quinze (15) jours et transmis à l'inspection générale à l'adresse suivante : nedjmarahmani70@gmail.com

J'accorde une grande importance, à la stricte application de cette instruction et votre responsabilité est entièrement engagée quant à l'impulsion d'une dynamique locale, en veillant à l'accompagnement permanent des investisseurs nationaux, publics ou privés, jusqu'à la concrétisation de leurs projets et la levée de toutes les contraintes en vue de relever le défi et redynamiser l'investissement.

Copie à titre de compte rendu à  
Monsieur le Ministre de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche



محمد الموريطاني  
مكلف بضمهم مدير عام الخبايا والتنمية  
عمر الدين سكران

**Annexe 5 : Évaluation du pouvoir molluscicide des saponines (saponosides) issues des gousses et des graines de *C. siliqua* sur le mollusque *Cochlodina fimbriata fimbriata*.**

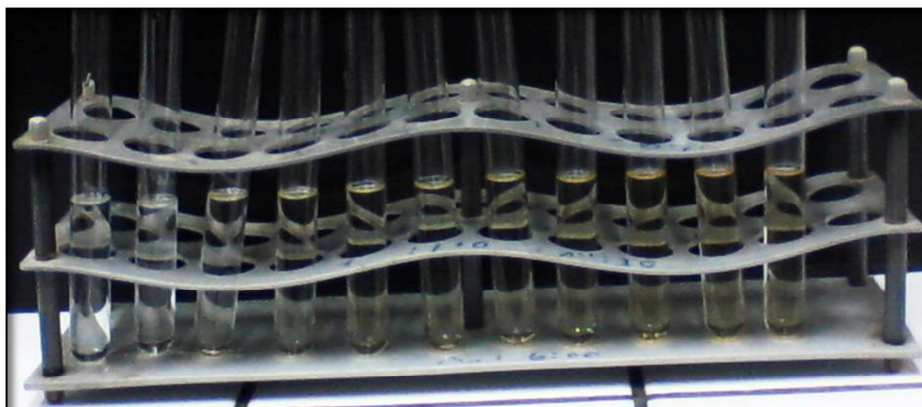
En vue de compléter le profil biochimique des fruits hermaphrodites du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) espèce autochtone en Algérie (travail réalisé pour obtenir le diplôme de magister), la valorisation des coproduits de cette espèce jugée par l'évaluation du pouvoir molluscicide des saponines (saponosides) issues des gousses et des graines de *C. siliqua* sur le mollusque terrestre *Cochlodina fimbriata fimbriata*. Cette partie a été réalisée au laboratoire de biodiversité végétale : conservation et valorisation, département des sciences de l'environnement à l'université Djilali Liabès de Sidi Bel Abbès, Algérie.

La poudre des gousses et des graines séparément du fruit de *Ceratonia* a été utilisée dans cette partie pour déterminer en premier lieu l'indice de mousse qui permet de confirmer la richesse d'un matériel végétal en saponosides. Ensuite, pour préparer les extraits aqueux utilisés dans l'évaluation du pouvoir molluscicide des saponosides de cette espèce sur le mollusque *Cochlodina fimbriata fimbriata*.

**Mesure de l'indice de mousse**

La première étape consiste en la préparation de la poudre délipidée : quatre gramme de matière sèche (poudre de gousses et de graines séparément) sont mises dans 10 ml d'Ether de pétrole dans un erlen de 100 ml hermétiquement fermé. L'échantillon ainsi préparé est bien agité durant quelques secondes et laissé reposer pendant 5mn. L'opération est répétée deux fois. En suite, filtrer sur Büchner et laisser sécher complètement.

Pour la préparation du décocté, on prend 1g de cette poudre délipidée dans 100 ml d'eau distillée. Le tout est porté à ébullition (95 C°) pendant 30 min. Puis filtrer à chaud sur papier filtre plissé. Seul 27.5 ml sont nécessaire à la mise en œuvre de la gamme de mousse. Onze tubes à essai contenant de 0 à 5 ml de décocté (à raison de 0.5 ml en plus) sont préparés et ajustés à 10 ml avec de l'eau distillée. A la suite d'une agitation horizontale violente (pendant 15 secondes), les tubes sont laissés au repos pendant 10 min. La hauteur de la mousse résiduelle de chaque tube est mesurée en cm. L'indice de mousse est calculé par l'inverse de la concentration du tube dont la hauteur de la mousse dépasse 1cm. La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice de mousse  $I > 100$ .



**Figure 1 :** Dosage des saponosides : mesure de l'indice de mousse (Cliché Chabane, 2015).

#### Préparation de l'extrait aqueux

L'extraction des saponosides de la poudre des gousses de *Ceratonia* a été réalisée selon le protocole utilisé par Crebassa et *al.*, 2011 qui consiste en la macération à chaud de 50gr de matière sèche dans 500ml d'eau distillée pendant 24h. Après filtration un agent basique (NaOH) est ajouté tout en chauffant la solution pour hydrolyser les saponines. Ensuite ajouter un agent acide (HCl) pour la neutralisation des saponines (Fig.2). Dans la présente étude, la déshydratation de la solution a été réalisée par lyophilisation (Lyophilisateur ALPHA1-4 LD plus) (Fig. 3). C'est une méthode de dessiccation sous vide, à basse température, de produits liquides préalablement congelés.



**Figure 2 :** poudre et extrait aqueux des gousses de *C. siliqua* L. (Cliché Chabane, 2015).

## Annexes

La lyophilisation consiste en l'élimination progressive de l'eau du produit préalablement congelé (phase solide) par passage à la phase vapeur, sans passer par la phase liquide. Ce changement d'état s'appelle la sublimation.

A partir de la poudre obtenue par lyophilisation (lyophilisat), nous avons préparé des solutions (extraits aqueux) à différentes concentrations (lyophilisat+eau distillée), à savoir 100% (500mg/l), 75% (375mg/l), 50% (250mg/l) et 25% (125mg/l).



Figure 3 : Lyophilisateur ALPHA1-4 LD plus (Cliché Chabane, 2015).

### Matériel animal

*Cochlodina fimbriata fimbriata*, de taille homogène sont collectées de bonne heure au niveau de la zone d'étude à Sidi Bel Abbès durant le mois de Mars 2015 et maintenues en condition d'élevage dans des cristallisoirs en verre, remplis de terre végétale humide pour recréer les conditions naturelles. Les cristallisoirs sont couverts de carton humide afin de garder les mollusques à l'obscurité. Ils sont nettoyés deux fois par semaines pour garder les conditions d'hygiène. Durant la période d'acclimatation, les mollusques sont nourrit de laitue (*Lactuca sativa*).



Figure 4 : *Cochlodina fimbriata fimbriata* (Cliché Chabane, 2015).

### Mode opératoire

Pour la réalisation du test, les mollusques sont réparties dans six cristallisoirs divisé chacun en quatre lots. A raison de seize mollusques par cristallisoir dont quatre mollusques par lot.

Le premier cristallisoir est considéré comme témoin. Les mollusques sont nourrit de laitue sans aucun traitement.

Les mollusques du deuxième cristallisoir sont nourrit de laitue imprégnée dans un molluscicide chimique « le Méthiocarbe », qui agit par contact et ingestion et provoque la mort du ravageur par effet neurotoxique, préparé en suspension (500 g/l).

Les mollusques du troisième cristallisoir sont nourrit de laitue imprégnée dans l'extrait de saponosides de *C. siliqua* L. à 100% (500mg/l). Celles du quatrième cristallisoir sont nourrit de laitue imprégnée dans l'extrait des saponosides à 75% (375mg/l). Les mollusques du cinquième cristallisoir sont nourrit de laitue imprégnée dans l'extrait des saponosides à 50% (250mg/l). En fin, les mollusques du sixième cristallisoir sont nourrit de laitue imprégnée dans l'extrait des saponosides à 25% (125mg/l).



**Figure 5:** dispositif expérimental (Cliché Chabane, 2015).

**Mesure de l'indice de mousse (Résultat)**



**Figure 6:** mousse formée par le décocté des graines et des gousses de *C. siliqua* L. après agitation des tubes (après 10 min de repos).

Le calcul de l'indice de mousse a montré que les gousses de *C. siliqua* L. sont riches en saponosides par rapport aux graines, et les deux valeurs de l'indice sont supérieures à 100 (I>100) (Tab1.).

**Tableau 1 :** valeurs de l'indice de mousse (M ± D.S)

	<b>Gousses</b>	<b>Graines</b>
<b>Indice de mousse</b>	250 ±0.40	200 ±0.39

M : moyenne,

D.S: déviation standard de la moyenne.

Le calcul de l'indice de mousse a confirmé la richesse des fruits du caroubier (*C. siliqua* L.) en saponosides (I=1000 > 100) (Tab. 1).

Aucun Effet (aucune mortalité n'a été observée) de l'extrait aqueux des saponosides des gousses et des graines de *Ceratonia siliqua* L. à différentes concentrations sur le mollusque terrestre *Cochlodina fimbriata fimbriata*.

*Références bibliographiques* —————

**Références bibliographiques**

**Aafi A.** Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.). Centre Nationale de la Recherche Forestière. Rabat (Maroc). (1996): 10 pp.

**Achille C.** Elements nutritifs pour les plantes [en ligne] Disponible sur ; «[http : www.capinov.fr/f/ile/cahier-agronomie.html](http://www.capinov.fr/f/ile/cahier-agronomie.html)» (consulté le 17/10/2006). 2006.

**Adem R., Ferrah A.** Les ressources fourragères en Algérie. [www.gredaal.com] consulté le : 11/06/2009. 2002.

**Adriano D.C.** Trace elements in terrestrial environments: Biochemistry, Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry*. (2001) Vol.55: 481-564.

**Aimi R. and Murakami T.** Cell physiological studies on the effect of aluminium on growth (crop, plants, *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci.* Tokyo, 11, 331-396 (1964).

**Ait Chitt M., Belmir M. et Lazrak A.** Production des plantes sélectionnés et greffés du caroubier. *J. Transfert de technologie en Agriculture*. IAV Rabat. (2007) Vol.153: 1- 4.

**Albanell E., Caja G. and Plaixats J.** Characterization of Spanish carob pod and nutritive value of carob kibbles. *J. Options Méditerranéennes*. (1991) Vol.16: 135 - 136.

**Amtmann A, Armengaud P.** Effects of N, P, K and S on metabolism: new knowledge gained from multi-level analysis. *Current Opinion in Plant Biology*, (2009) Vol.12: 275-83.

**Andrade F. H., Vega C., Uhart, S., Cirilo, A., Cantarero, M., Valentinuz, O.** Kernel number determination in maize. *Crop Sci.* (1999) Vol.39: 453-459.

**APG II.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *J. Botanical of Linnean Society*, (2003) Vol.141: 399 - 436.

**Aregawi T., Melaku S., Nigatu L.** Management and utilization of browse species as livestock feed in semi-arid district of North Ethiopia. *Livest. Res. Rural Dev.* (2008) Vol.20, 86.

**Asano K., Shinagawa K. and Hashimoto N.** Characterization of haze-forming proteins of beer and their roles in chill haze formation. *J. of the American Society Brewing Chemists.B.* (1982) Vol. 40: 147 - 154.

Références bibliographiques

- Aufrere J., Theodoridou K., Baumont R.** Valeur alimentaire pour les ruminants des légumineuses contenant des tannins condensés en milieux tempérés. *INRA Prod. Anim.* (2012) Vol.25 (1): 29-44.
- Avallone R., Plessi M., Baraldi M., and Monzani A.** Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua L.*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins. *J. of food composition and analysis*, (1997) Vol. 10: 166 - 172.
- Ayaz F.A., Torun H., Ayaz S., Correia P.J., Alaiz M., Sanz C., Grúz J. and Strnad M.** Determination of chemical composition of anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua*): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *Journal of Food Quality*, (2007) Vol. 30: 1040-1055.
- Bailey L. H.** Standard Encyclopaedia of Horticulture. *Ed. Macmillan, New York*, (1947).
- Bais A. J., Murphy P. J. and Dry I. B.** The molecular regulation of stilbene phytoalexin biosynthesis in *Vitis vinifera* during grape berry development. *Australian Journal of plant physiology*, (2000) Vol.27: 425-433.
- Bamforth C.W.** Beer haze. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* (1999) Vol.57: 81-90.
- Barracosa P., Almeida M. T. and Cenis J.** Characterization of cultivars of carob tree in Algarve (Portugal). In Proceedings of the III International Carob Symposium. Cabanas-Tavira, Portugal (in press). (1996).
- Barracosa P., Osorio J., & Cravador A.** Evaluation of fruit and seed diversity and characterization of carob (*Ceratonia siliqua L.*) cultivars in Algarve region. *Sci.Hort.* (2007) Vol. 114: 250–257.
- Bary Lenger A., Evrard R. et Gathy P.** La forêt Vaillant-Carmane S. Impri. Liège. (1979):611pp.
- Bate-Smith E.C.** Haemanalysis of tannins: the concept of relative astringency. *J. Phytochem* (1973) Vol.12: 907- 912.
- Batista M. T., Amaral M. T. and Proença Da Cunha A.** Carob fruits as source of natural antioxidant. In: Proceeding of the III International Carob Symposium, Cabanas-Tavira, Portugal, (1996).

Références bibliographiques

**Battle I. et Tous J.** Lineas de investigación sobre el algarrobo (*Ceratonía siliqua* L.) en el IRTA, Cataluña (España) in: Brito de Carvalho JH. *Ed. I Encorto Linhas de Investigação de Alfarroba*. AIDA, Oeiras: AIDA, (1988): 92 - 104.

**Battle I., Rovira M. and Tous J.** Carob germplasm characterization using izozymes. *In* Proceedings of the III International Carob Symposium. Cabanas-tavira, Portugal (in press). (1996).

**Battle I.** Current situation and possibilities of development of the carob tree (*Ceratonía siliqua* L.) in the Mediterranean region. Unpublished FAO Report, Rome, Italy, (1997).

**Battle I. and Tous J.** Carob tree *Ceratonía siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilised and neglected crops. 17. *Ed.* International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Rome, Italy, (1997): 92 pp.

**Baum N.** Arbres et arbustes de l’Egypte ancienne. (1989): 354 pp.

**Baytop T.** Therapy with medicinal plant in Turkey (Past and Present). Publication of the Istanbul University. No: 3255, Istanbul, (1984).

**Bengoechea C., Romero A., Villanueva A., Moreno G., Alaiz M., Millán F., Guerrero A., Puppo M.C.** Composition and structure of carob (*Ceratonía siliqua* L.) germ proteins. *J. Food Chem.* (2008) Vol. 107: 675- 683.

**Benhamiche S., Benhassaini H., Chabane K.** Molluscicidal effect of honey locust (*Gleditsia triacanthos* L.) Saponins: an introduced Species in Algeria *J. Biology and Nature.* (2015) 4(1): 13-18. *International Knowledge Press* [www.ikpress.org](http://www.ikpress.org).

**Benhamiche S., Benhassaini H., Chabane K., Romane A. et Arjouni M.Y.** Quantification of oligo-elements and heavy metals in the fruits (pods and seeds) of the introduced tree *Gleditsia triacanthos* L. in Algeria. *Annals of Applied Bio-Sciences*, (2016) Vol. 3; Issue 1: e-ISSN: 2349-6991; p-ISSN: 2455-0396.

**Benito B., Haro R., Amtmann A., Cuiñ T.A., Dreyer I.** The twins K + and Na + in plants. *J. Plant Physiol.* (2014) Vol.171:723–31.

**Bennouna M.A., Belaqziz R., Arjouni M.Y., Romane A.** Quantitative analysis of some oligo elements and heavy metals in some species of Thymus from Morocco. *Natural Product Research.* 2012: 1–5.

Références bibliographiques

- Berenbaum M.** Effects of tannin on growth and digestion in two species of Papilionids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, (1983) Vol.34: 245-250.
- Berchiche T.** Contribution à l'étude socio-économique de la forêt algérienne. Mémoire de magister en sciences agronomiques, 1986, INA. Alger.
- Berna A., Perez-Gago M. B., Guardiola V. G., Salazar D. and Mullet A.** Effect of temperature on isobutyric acid loss during roasting of carob kibble. *J. Agricultural and Food Chemistry*. (1997) Vol.45: 4084 – 4087.
- Bernays E., Cooper G. and Bilgener M.** Herbivores and plant tannins. *J. Advances in Ecological Research*. (1989) Vo.19: 263 - 302.
- Bertheau Y., Darrasse A., Jouan B., Kotousky A. and Priou S.** Amplification enzymatique in vitro d'ADN et ses applications in: Le progrès génétique passe t'il par le repérage et l'inventaire des gènes? *Ed. AUPELF-UREF. John Libey Eurotext, Paris*, (1993): 3-22.
- Bewley J. D., Black M.** Seeds: Physiology of development and germination, Plenum Press, New York, 1994.
- Biaye M.** Actions pharmacologiques des tannins. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Faculté de Médecine et de pharmacie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal, (2002) : 53 pp.
- Binder R. J., Coit J. E., Williams K. T. and Brekke J. E.** Carob varieties and composition. *J. Food Technology*. (1958) Vol.12: 213- 216.
- Biner B., Gubbuk H., Karhan M., Aksu M. and Pekmezci M.** Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua L.*) in Turkey. *J. Food Chemistry* (2007) Vol. 100:1453-1455.
- Biner Ö.** 'Retrieving the Dignity of a Cosmopolitan City: Contested Perspectives on Rights, Culture and Ethnicity in Mardin', *New Perspectives on Turkey*, (2007) Vol.37: 31–58.
- Blair R.M.** *Gleditsia triacanthos L.* Honeylocust in: Burns R.M., Honkala B.H. (eds.). *Hardwoods Agriculture Handbook Vol.2, Tech. Coords. Silvics. of North America*, Washington DC: USDA Forest Service, (1990): 358-364 pp.
- Blenford D.** A carob coat. *J. Food, Flavours, Ingredients, Packaging and Processing*. (1988) Vol.10 (9): 43 – 45.
- Blount B.C., Silva M.J., Caudill S.P., Needham L.L., Pirkle J.L., Sampson E.J., Lucier G.W., Jackson R.J., Brock J.W.** National Center for Environmental Health, Centers for

Références bibliographiques

Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia 30341, USA. Comment in Environ Health Perspect. (2000) Vol.108 (10): A440-2.

**Bolonos M.** Rapport sur le caroubier. Instituto forestal de Investigaciones y experiencias Madrid, Espagne, (1955) : 9 pp.

**Booij-James I.S., Dube S.K., Jansen M.A.K., Edelman M., Matoo A.K.** Ultraviolet-B radiation in plants: turnover of the PSII reaction center heterodimer in Arabidopsis mutants altered in phenolic metabolism. *Plant Physiology*, 2000.

**Bosscher D., Van Caillie-Bertrand M. and Deelstra H.** Effect of thickening agents, based on soluble dietary fiber, on the availability of calcium, iron, and zinc from infant formulas. *Nutrition*, (2001) Vol. 17(7-8): 614-618.

**Boudy P.** Economie forestière Nord Africain, Tome II : Monographie et traitement des essences forestières. *Ed. Larose*, Paris, (1950): 443 - 445.

**Bourbouze A. et Donadieu P.** L'élevage sur les parcours en régions méditerranéennes. *Ed. Options méditerranéennes. CIHEAM IAMM.* (1987).

**Bouzouita N., Khaldi A., Zgoulli S., Chebil L., Chekki R., Chaabouni M.M. and Thonart, P.** The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chemistry*, (2007) Vol.101, 1508-1515.

**Bravo L., Grados N., and Saura-Calixto F.** Composition and potential uses of Mesquite pods (*Prosopis pollida* L.): Comparisson with carob pods (*Ceratonia siliqua* L.). *J. the science of Food and Agriculture*. (1994) Vol. 65: 303 – 306.

**Bravo L.** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, (1998) Vol.56 (11): 317-333.

**British Herbal Medicine Association**, British Herbal Pharmacopoeia, 1996.

**Brito de Carvalho J.H.** Criteria for evaluation of carob varieties. Pp. 558-566 in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain. 1988a.

**Brown K.H., Wuehler S.E., Peerson J.M.** The importance of zinc in human nutrition and estimation of the global prevalence of zinc deficiency. *Food Nutr Bul.* 2001;22:S113-25.

**Bruneton J.** Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Paris: Edition Tec & Doc. Edition médicales internationales, 2009: 1292 pp.

Références bibliographiques

- Bryan J.A., Berlyn G.P. and Gordon J.C.** Towards a new concept of the evolution of symbiotic nitrogen fixation in the Leguminosae. *Plant Soil*, (1996) Vol. 186: 151–159.
- Calixto F. S. and Cañellas J.** Components of nutritional interest in carob pods (*Ceratonia siliqua*). *J. Sci. Food Agric.* (1982) Vol. 33: 1319 - 1323.
- Carlson W.A.** The carob: evaluation of trees, pods and kernels. *Int. J. Tree Crops.* (1986) Vol.3: 281- 290.
- Carter E.D.** Le potentiel de développement de la production céréalière et de l'élevage en Algérie. Rapport, (1975):16-66.
- Caruso M., Distefano G., Ye X., La Malfa S., Gentile A., Tribulato E. & Mikeal L.** Rose Generation of expressed sequence tags from carob (*Ceratonia siliqua* L.) flowers for gene identification and marker development. *J. Tree Genetics & Genomes.* (2008) Vol. 4: 869-879.
- Castañeda - Ovando A., Pacheco-Hernández M.L., Páez - Hernández M.E., Rodríguez J.A. and Galán -Vidal C.A.** Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem* (2009) Vol.113: 859–871.
- Chabane K., Benhassaini H. et Benhamiche S.** Contribution à l'étude autoécologique du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) et valorisation de ces co-produits. Mémoire de magister. 2012.
- Chalck P.M.** Dynamics of biologically fixed N in legume-cereal rotations: a review. *Aust. J. Res.*, (1998) Vol.49: 303-316.
- Chaoui A., El Ferjani E.** Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *C R Biol* (2005) Vol.328: 23-31.
- Chapagain, B. P., Wiesman, Z., Tsrer (Lahkim), L.** *In vitro* study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. *Industrial Crops and Products*, (2007) Vol. 26:109–15.
- CHEN W.J., HSIAO L.C., CHEN K. K.** Metal desorption from copper (II)/ nickel(II)-spiked kaolin as a soil component using plant-derived saponin biosurfactant. *Process Biochemistry*, (2008) Vol. 43:488–98.

Références bibliographiques

- Chentli A.** Valorisation nutritionnelle d'Opuntia et *Acacia spp.* dans l'alimentation des ruminants. Effets de hautes teneurs en tannins et oxalates sur l'activité du microbiote ruminal. Thèse de doctorat. 2015.
- Chesson A., Gardner P.T., Wood T.J.** Cell wall porosity and available surface area of wheat straw and wheat grain fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (1997) Vol. 75: 289- 295.
- Chouaki S., chebouti A., maamri F., oumata S.** Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques. INRAA (2006) :19.
- CIHEAM.** Atlas MédiTerra : Agriculture, alimentation, pêche & mondes ruraux en Méditerranée, Presses de la Fondation nationale des Sciences Po. *ed. Paris, France.* 2010.
- Codex Alimentarius.** Codex maximum levels for Cadmium in Cereals, Pulses and Legumes, Joint FAO/WHO Standards, CAC/GL39-2001; 2001a.
- Codex Alimentarius.** Codex Alimentarius. Maximum levels for Lead, Joint FAO/WHO Standards, Codex STAN 230-2001; 2001b. Available:[http://www.codexalimentarius.net/standards\\_search.asp](http://www.codexalimentarius.net/standards_search.asp) (Accessed March 2004).
- Codorniu-Hernandez E., Mesa-Ibirico A., Montero-Cabrera L.A., Martinez-Luzardo F.,Borrmann T., Stohrer W.** Theoretical study of flavonoids and proline interactions Aqueous and gas phases. *J. Mol. Struct.* (2003) Vol. 623: 63 - 73.
- Coit J. E.** Carob culture in the semi-arid southwest. Vista, CA. *J. Eliot Coit.* (1962): 6pp.
- Coit J.E.** Carob culture in the semi- aride south west. *Ed. W. Rittenhouse,* San Diego, California. (1949).
- Colby S.M., Alonso W.R., Katahira E.J., McGarvey D.J., Croteau R.** 4S-limonene synthase from the oil glands of spearmint (*Mentha spicata*): cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of the catalytically active monoterpene cyclase. *J Biol Chem.* 1993 Vol.268: 23016–23024.
- Cooper R., Lavie D., Gutterman Y. and Evenari M.** The distribution of rare phenolic type compounds in wild and cultivated wheats. *J. Arid Environ.* (1994) Vol. 27:331-336.
- Correia P. J., and Martins-Loucao, M. A.** Seasonal variations of leaf water potential and growth in ferrigated carob-trees (*Ceratonia siliqua* L.). *Plant and Soil,* (1995) Vol. 172: 199–206.

Références bibliographiques

- Correia P. J., & Martins-Loucao M. A.** The use of macronutrients and water in marginal mediterranean areas: the case of carob-tree. *Field Crops Research*, (2005) Vol. 91: 1–6.
- Crescimanno F. G.** Aspetti agronomici, varietali genetici della coltura del carrubo. In Attidel Convegno “Il carrubo...salviamolo!”. Cameradi Comercio Industria Artigianato ed Agricoltura di Ragusa, Ragusa, Italy, (1982): 37 – 47.
- Cronquist A.** An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press. (1981).
- Crosi L., Avallone R., Cosenza F., Farina F., Baraldi C. and Baraldi M.** Antiproliferative effects of *Ceratonia siliqua L.* on mouse hepatocellular carcinoma cell line. *J. Fitoterapia*. (2002) Vol. 73: 674 – 684.
- Crossa-Raynaud P.** Caroubier. *Annales Inst. Nat. Recherche Agric. Tunisie*. (1960) Vol.33: 79 - 83.
- CURKSON D.T.**, Effect of aluminum on the uptake and metabolism of phosphorus by barley seedlings, *Plant Physiol.*, (1966) Vol.41: 165-172.
- Dacosta Y.** Les phytonutriments bioactifs. Editions Yves dacosta. Paris, 2003: 317p.
- Dakia P., Wathelet B., Paquot M.** Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua L.*) seed germ. *J. Food Chem.* (2007) Vol. 1 2: 1368-1374.
- Dakia P.** Extraction et caractérisation de la gomme de caroube (*Ceratonia siliqua L.*). Mémoire : Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique). 2003.
- Dakia P.A, Blecker C., Robert C., Wathelet B. and Paquot M.** Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment *Food Hydrocolloids*, (2008) Vol. 22, N°5: 807-818.
- Danso S. K. A.** Assessment of biological nitrogen fixation. *Fertilizer research* (1995) Vol.42: 33-41.
- Das P., Samantaray S., Rout G.R.** Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environ Pollut* (1997) Vol. 98: 29-36.
- De Candolle A.** L’origine des plantes cultivées. Balière, Paris, France, (1983).

Références bibliographiques

- De Vienne D., Causse M., Maurice A. and Santoni A.** Les principales ressources de marqueurs moléculaires. Dans: les marqueurs moléculaires et leurs applications. Biotechnologies végétales. UNISTA Univ. Audiovisuelle Francophone. CNED/AUPELF. UREF, (1995):11-18.
- Descheemaeker K.** Nutri-et Phytothérapie : Developpements Recents. *Edition Garant*, (2003): 12, 46.
- Deshpande S. S., Cheryan M. and Salukhe D.K.** Tannin analysis of food products. CRC. *J. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. (1986) Vol.24: 401- 449.
- Dewick P. M.** «The Biosynthesis of Shikimate Metabolites», *Natural Product Reports*, (1995) Vol. 12: 579-607.
- DGF.** Direction Générale des forêts, 2017 Note D'orientation Relatif Atelier Sous Régional Portant sur la Valorisation Des Produits Forestiers Non Ligneux (Le Greffage De Pin Pignon Et De Caroubier).
- Dixon R.A., Achnine L., Kota P., Liu C.J., Reddy M.S.S. Wang L** The phenylpropanoid pathway and plant defence: a genomics perspective. *Mol Plant Pathol*, (2002) Vol. 3: 371–390.
- Doyle J.J., Luckow M.A.** The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiol*. (2003) Vol.131: 900–10.
- Easterwood G.W.** Calcium's role in plant nutrition. *Fluid J*. (2002) Vol.1: 1-3.
- Ebbs S., Uchil S.** Cadmium and zinc induced chlorosis in Indian mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern] involves preferential loss of chlorophyll *b*. *Photosynthetica*, (2008) Vol. 46: 49-55.
- Ebel J. and Hahlbrock K.** In the flavonoids advances in research eds J. B. Harborne and T. J. Mabry, Chapman and Hall, London, (1982): 641-659.
- Eberhard T., Rober T. A., Annelise L.** Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. *Ed. Tec. et Doc.*, Paris. 2005.
- Gharras H. E.** GharrasPolyphenols: food sources, properties and applications – a review *Int. J. Food Sci. Technol.*, (2009) Vol.44: 2512-2518.

**EL Hajaji H., Lachkar N., Alaoui K., Cherrah Y., Farah A., Ennabili A., El Bali B. And Lachkar M.** Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Three Varieties of Carob Tree Leaves from Morocco. *Rec. Nat. Prod.* (2010)Vol. 4(4) : 193-204.

**Emberger L.** Les Arbres du Maroc et comment les Reconnaître. Larose, Ed. Paris, (1938): 317 pp.

**Erna Wati Ibnu Hajar, Ahmad Ziad Bin Sulaiman et Mimi Sakinah.** Assessment of Heavy Metals Tolerance in Leaves, Stems and Flowers of Stevia rebaudiana Plant. *J. Procedia Environmental Sciences.* (2014) Vol. 20: 386 – 393.

**Estrada C., Vázquez M., Melis B. and Vadell J.** Fruticultura de secano. El Algarrobo. In: Labrador J., Porcuna J. L. and Bello A. (Cords), Manual de agricultura y ganadería ecológica. Eumedia. España, 2006: 186-195.

**FAO.** The state of food and agriculture organisation 1991. (FAO Agriculture Series, no.24). ISBN 92- 5-103092-8. Rome (Italy).

**FAO.** Food and Agriculture organization of the United Nations, 2003-2004.

**FAOSTAT.** Carob Tree. Production Mondiale du Caroubier. (<http://www.fao.org>).

**FAO.** Food and agriculture organisation of the United Nations, In Allouache A., Aziza M.A., Ahmed Zaid A. Analyse de cycle de vie du bioéthanol. *Revue des Energies Renouvelables.* (2011) Vol.16 (2): 357-364.

**FAOSTAT.** The Statistics division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2010. ([www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org)).

**Feillet P., and Roulland T.** MCaroubin: A gluten-like protein isolate from carob bean germ. *Cereal Chemistry.* (1998) Vol. 75:488–492.

**Filioglou M. D., and Alexis M. N.** Use of the carob products in trout nutrition: the effects of growth inhibitors of the carob seed germ meal on digestion and studies on deactivation methods. Proceedings of the Second Panhellenic Symposium of Oceanography and Fisheries. (1987): 618-624.

**Filioglou M. D., and Alexis M. N.** Protein digestibility and enzyme activity in the digestive tract of rainbow trout fed diets containing increasing levels of carob seed germ meal. In N. De Pauw, E. Jaspers, H. Ackefors, & N. Wilkins (Eds.), Aquaculture. A biotechnology in progress. Bredene, Belgium: European Aquaculture Society. (1989): 839-843.

- Folch I Guillen R.** La vegetació dels Països Catalans. *Ed. Ketres*, Barcelona, (1981).
- Foury A.** Les légumineuses fourragères au Maroc In: (eds) Les Cahiers de la Recherche Agronomique. Rabat. (1954) : 289-656.
- Frutos D.** Efecto de los ácido sulfúrico y giberelico (GA3) en la germinación del galgarrobo (*Ceratonía siliqua* L.). pp. 265-280 in Proceeding of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain. (1988).
- Gepts P.** Crop domestication as a long-term selection experiment. *Plant Breed Rev.* (2004) Vol. 24:1-44.
- Gepts P., Beavis W.D., Brummer E.C., Shoemaker R.C., Stalker H.T., Weeden N.F., Young N.D.** Legumes as a Model Plant Family. Genomics for Food and Feed Report of the Cross-Legume Advances through Genomics Conference. *Plant Physiology.* (2005) Vol.137: 1228- 1235.
- Gharnit N.** Le caroubier (*Ceratonía siliqua* L.), Essais de propagation *in vitro* et intérêt socio-économique au cercle de MOKRISSET (NW. Maroc). Dans le mémoire du D.E.S.A., n° 576.5 GHA. Univ. Abdel Malek E. Fac. Sci. Tétouan. (1997).
- Gharnit N.** Caractérisation et essai de régénération *in vivo* du caroubier (*Ceratonía siliqua* L.) originaire de la province de chefchaouen (Nord-ouest du Maroc). Thèse de Doctorat en science, Université Abdelmalek Essaadi, Tanger, (2003).
- Gharnit N., El Mtili N., Toubi Ennabili A., Ennabili A.** Social characterisation and exploitation of carob tree (*Ceratonía siliqua* L.) from Mokrisset and Bab Taza (NW of Morocco). *J. Science Letters.* (2001) Vol. 3(2): 10 p.
- Gharnit N., El Mtili N., Ennabili A. and Sayah F.** Floral characterization of carob tree (*Ceratonía siliqua* L.) from the province of Chefchaouen (NW of Morocco). *J. Moroccan Biol.* (2004) Vol. 1: 41 - 51.
- Gharnit N., El Mtili N., Ennabili A. et Sayah F.** Importance socio-économique du caroubier (*Ceratonía siliqua* L.) dans la Province de Chefchaouen (nord-ouest du Maroc). *J. Bot. Soc. Bot. France.* (2006) Vol. 33: 43 - 48.
- Ghnaya T., Nouairi I., Slama I., Messedi D., Grignon C., Abdelly C., Ghorbel M.H.** Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*. *J Plant Physiol.* (2005) Vol.162: 1133-1140.

Références bibliographiques

- Gold M. A.** *Gleditsia triacanthos*-honeylocust, widely adapted Temperate Zone fodder tree. Publication of Forest, Farm and Community Tree Network (FACT Net). FACT Sheet, Winrock International, Morrilton, Arkansas, USA, (1997): 2 pp.
- Goldstein J.L. and Brown M.S.** Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*, (1990) Vol.343: 425-430.
- Gonçalves S., Correia P. J., Martins-Loução M. A. and Romano A.** A new medium formulation for in vitro rooting of carob tree based on leaf macronutrients concentrations, *Biologia Plantarum*. (2005) Vol. 49 (2): 277-280.
- González-Cruz D. and San Martín R.** Molluscicidal effects of saponin-rich plant extracts on the grey field slug. *J. Ciencia E Investigaciòn Agraria*. (2013) 40(2): 341-349.
- Goor A. Y. and Barney C. W.** Forest tree planting in arid zones. Ronald Press. New York, (1968): 409 pp.
- Gotteib L. D. (1977).** Electrophoretic evidence and plant systematic. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 64:161-180.
- Graham P.H., Vance C.P.** Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* (2003) 131: 872-877.
- Gravot Antoine,** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2 UE PHR. 2009.
- Guerrier Gilles and Morard Philippe.** Influence de l'aluminium sur la nutrition minérale de la fève (calcicole) et du lupin (calcifuge), *Soil Science and Plant Nutrition*, 24:3, 441-448, DOI: 10.1080/00380768.1978.10433122. (2012).
- Guignard J.L.** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris, (1996): 236 pp.
- Hagerman A.E. and Butler L.G.** Tannins and lignins. In G.A. Rosenthal and M.R. Berenbaum (eds). Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites. Tome I. the chemical Constituents, 2<sup>ème</sup> Ed. Academic Press, San Diego, California, (1991): 355-388.
- Hallgas B., Patonay T., Kiss-Szikszai A., Dobos Z., Hollosy F., Eros D., Orfi L., Kéri G. and Idei M.** Comparison of measured and calculated lipophilicity of substituted auronones and related compounds. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. (2004)801(2): 229-235.

- Harborne J.B., Williams C.A.** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. (2000) 55: 481-504.
- Hariri A., Ouis N., Sahnouni F., et Djilali B.** Mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de caroube. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* (2009): 37-55.
- Hasenstein K.H., Evans M.L., Stinemetz C.L., Moore R., Fondren W.M., Koon E.C., Higby M.A., Smucker A.J.** Comparative effectiveness of metal ions in inducing curvature of primary roots of *Zea mays*. *Plant Physiol.* (1988) 86: 885-889.
- Haslam E.** Plant polyphenols. Vegetable tannins revised. Cambridge University Press, Cambridge, UK, (1989): 230 pp.
- Hemingway R.W.** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives in: Plants polyphenols synthesis, properties, significance. New York, (1992):123pp.
- Hillcoat D., Lewis G. and Verdcourt B.** A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *J. Kew bull.* (1980) Vol. 35(2): 261-271.
- Hong T. D., Linington S. and Ellis R. H.** Seed storage behaviour: a Compendium. Handbooks for Genebanks: No. 4. International Plant Genetic Institute, Rome, (1996).
- Hopkins.** Physiologie végétale. Ed. De Boek, (2003) : 267-281. 514 pp.
- Iipumbu L.** Compositional analysis of locally cultivated carob (*Ceratonia siliqua* L.) cultivars and development of nutritional food products for a range of marker sectors. Stellenbosch University. South Africa. (2008): 117.
- Iiyama K., Lam T.B.T., Stone B.A.** Covalent cross-links in the cell wall. *Plant Physiology*. (1994) 104: 315-320.
- Ilahi I. and Vardar Y.** Studies in Turkish carob (*Ceratonia siliqua* L.). IV Acidic Auxin-like and inhibitory substances in fruit morphogenesis. *J. Planta.* (1976) Vol. 129: 105 - 108.
- Iserin P., Masson M., Restellini J. P.** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse, Paris. France. (2007) : 335 p.
- Iserin P.** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse, (2001): 10-335 pp.

**International Zinc Nutrition Consultative Group. Hotz C. and Brown K.H.** (IZINCG). Assessment of the Risk of Zinc Deficiency in Populations and Options for Its Control. *Food and Nutrition Bulletin*, (2004)25: S94-S203.

**Kabata-Pendias A., Pendias H.** Trace elements in soils and plants. Boca Raton, Florida: CRC Press. Witkowski ETF, Lamont BB. Disproportionate allocation of mineral nutrients and carbon between vegetative and reproductive structures in *Banksia hookeriana*. *Oecologia*. (1984) Vol.105:38–42.

**Kabata-Pendias A., Pendias H.** Trace elements in soils and plants. CRC Press, Washington, DC; 2001.

**Kabelitz L., Barbin Y.** Les métaux lourds dans les plantes médicinales. *STP Pharmapratiques*. (1999) 9 (6): 443–453.

**Kabelitz D.** Mechanism of gd T-cell mediated inhibition of stem cell differentiation in vitro: Possible relevance for myelosuppression in HIV-infected individuals. *Cell. Immunol.* (1998)184: 26-36.

**Kali S., Benidir M., Kaci K.A., Belkheir B., Benyoucef M.T.** Situation de la filière lait en Algérie: Approche analytique d'amont en aval. *Livest. Res. Rural Dev.* (2011):23.

**Karkacier M., Artik N.** Determination of physical properties, chemical composition and extraction conditions of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.). *Gıda* (1995) Vol. 20 (3):131–136.

**Kazi Tani C.** Les plantes dangereuses pour le bétail. Une première synthèse pour la flore d'Algérie. *Fourrages*, (2014) Vol.217: 105–114.

**Kivçak B. and Mart T.** Antimicrobial and cytotoxic activities of *Ceratonia siliqua* L. extracts. *J. Turk J. Biol.* (2002) Vol. 26: 197 - 200.

**Kobayashi K., Teruya T., Suenaga K., Matsui Y., Masuda, H., Kigoshi, H.** Isotheasaponins B1–B3 from *Camellia sinensis* var. *sinensis* tea leaves. *Phytochemistry* (2006) Vol. 67:1385–9.

**Konate I.** Amélioration de la culture du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) via la multiplication in vitro et la fixation biologique de l'azote. Dans le mémoire du D.E.S.A., Univ. Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc, (2001).

Références bibliographiques

**Konate I.** Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) et des Bactéries Endophytes qui lui sont Associées. Thèse de doctorat, Rabat, (2007): 196 pp.

**Krisa S., waffo teguo P., Decendit A., Deffieux G., Huguet F., Fauconneau B. et Mérillon J M.,** Production, purification et activité biologique des picéides(stilbènes) extraits de cultures cellulaires de *vitis vinifera* L. *J. Bull. Soc. Pharm.* (1997) Vol.136: 7-18.

**Kumar R. and Vaithyanathan S.** Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. *J. Animal feed Science and Technology.* (1990) Vol. 30: 21-28.

**Kumazawa S., Taniguchi M., Suzuki Y., Shimura M., Kwon M.S., Nakayama T.** Antioxydant activity of polyphenols in carob pods. *J Agric Food Chem.* (2002) Vol. 50:373–7.

**L'ETANG Mylène.** Effet de différents paramètres de l'environnement sur le déterminisme biochimique d'exsudats racinaires de *Crotalaria* spp. : Application à la nématoregulation en production végétale. Thèse de doctorat de l'Université des Antilles et de la Guyane Discipline/Spécialité : Sciences Agronomiques, et Biotechnologies agro-alimentaires. 2012.

**L'USDA.** Fact Sheet, Conservation Reserve Program General Sign-up 33, Environmental Benefic Index, USDA, FSA, Washington. 2006.

**Lachkar M.** Antioxydant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry.* (2010) Vol. 4: 321 – 324.

**Lafuente B.** Azticares de la algarroba I. La fermentación selectiva de las hexosas en la obtención de sacarosa. *Revista de Agricultura y Tecnología de Alimentos,* (1961) Vol.1 : 1–7.

**Lagnika L.** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur (Strasbourg/France) (2005): 268 p.

**Landry L.G., Chapple C.C.S., Last R.L.** Arabidopsis mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced ultraviolet-B injury and oxidative damage. *Plant Physiology,* (1995) Vol. 109: 1159–1166.

**Lavilla I., Filgueiras A.V., Bendicho C.** Comparison of digestion methods for determination of trace and minor metals in plant samples. *J. Agric. Food Chem.* (1999) Vol. 47(12):5072-5077.

Références bibliographiques

**Lazrek - Ben friha F.** Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin. Thèse de doctorat. Toulouse III - Paul Sabatier. 2008.

**Ledoigh C. and Coudret A.** Stress hydrique: étude des mécanismes moléculaires et modification de l'expression du génome. *Bull. Soc. Bot. Fr., 139. Lettres Bot.* (1992) Vol. 2:175-190.

**Leigh R.A. and Wyn Jones R.G.** A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell. *J. New Phytol.* (1984) 97: 1-13.

**Lientaghi P.** Le Livre des Arbres, Arbustes et Arbrisseaux. *Ed. Acte Sud*, (2004): 304 pp.

**Linskens H. and Scholten W.** The flower of carob. *Potug. Acta. Bilo. (A) XVI*, (1980) Vol. (1-4):95-102.

**Lizardo R., Cañellas J., MAS F., Torrallardona D., Brufau J.** L'utilisation de la farine de caroube dans les aliments de sevrage et son influence sur les performances et la santé des porcelets. *Journées de la Recherche Porcine*, (2002) Vol.34:97-101.

**Loake G.J., Faktor O., Lamb C.J., Dixon R.A.** Combination of H-box [CCTACC (N)7CT] and Gbox (CACGTG) cis elements is necessary for feed-forward stimulation of a chalcone synthase promoter by the phenylpropanoid-pathway intermediate p-coumaric acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, (1991) Vol. 89: 9230-9234.

**Lodwig E.M., Hosie A.H.F., Bourdès A., Findlay K., Allaway D., Karunakaran R., Downie J.A., Poole P.S.** Amino-acid cycling drives nitrogen fixation in the legume-Rhizobium symbiosis. *Nature*, (2003) Vol.422: 722-726.

**Loomis W.D., Battaile J.** Plant phenolic compound and the isolation of plant enzymes. *J. Phytochem.* (1966) Vol.5: 423 - 438.

**Macheix J.J., Fleuriet A. et Jaye-Allemand C.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'une importance économique. *Presses Polytechniques et Universitaires, Romandes, Lausanne*, (2005): 185 pp.

**Macheix J.J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C.** Les composés phénoliques des végétaux, *presse polytechniques et universitaires Romande, Collection biologie*, (2006) : 185 pp.

Références bibliographiques

- MADR** (Ministère de l'Agriculture et du Développement rural). La stratégie décennale de développement agricole et rural (2004-2013). Des orientations, un plan d'action décennal, un appui institutionnel, Alger. 2003.
- Makkar H.P.S.** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, (2003) Vol. 49: 241-256.
- Makris D. P. and Kefalas P.** Carob Pods (*Ceratonia siliqua L.*) as a Source of Polyphenolic Antioxidants. *J. Food Technol. Biotechnol.* (2004) Vol. 42 (2):105 - 108.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., and Jimenez L.** Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, (2004) Vol. 79: 727–747.
- Manso T., Nunes C., Raposo S., Lima-Costa M.E.** Carob pulp as raw material for production of the biocontrol agent *P. agglomerans* PBC-1. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2010: 1367–5435.
- MAPA.** Ministerio de Agricultura, Pesca Y Alimentación. Anuario de Estadística Agraria. Ed. Secretaría General Técnica, Madrid, Spain, (1994).
- Marakis S., Kalaitzakis J. and Mitrakos K.** Criteria for recognizing carob tree varieties in: Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and Mulet, eds.) Valencia, Spain, (1988): 558 - 566.
- Marakis S.** Carob bean in food and feed: current status and future potentials – a critical appraisal. *J. Food Science and Technology*. (1996) Vol.33 (5): 365 – 383.
- Markis D.P. and Kefalas P.** Carob pods (*Ceratonia siliqua L.*) as a source of polyphenolic antioxidants. *J. Food Technology and Biotechnology*. (2004) Vol.42 (2): 105- 108.
- Marschner H.** Mineral nutrition of higher plants. London, *Academic Press Ltd, Harcourt Brace & Co. Publishers*. 1993.
- Martinez-Herrera J., Siddhuraju P., Franci, G., Davila-Ortiz G., Becker K.** Chemical composition, toxic/anti-metabolic constituents, and effect of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas L.* from Mexico. *Food Chem.*, (2006) Vol. 96 (1): 80-89.

- Martins-Loução M. A.** Estudos fisiológicos e microbiológicos da associação da alfarrobeira (*Ceratonia siliqua* L.) com bactérias de Rhizobiaceae. PhD Thesis, Univ. of Lisbon, Portugal. (1985).
- Martins-Loução M. A., Correia P. and Pereira F.** The role of plant/soil micro-organisms interaction in carob development. *In* Proccegens of the III International Carob Symposium. Cabanas. Tavira. Portugal (in press). (1996b).
- Martins-Loução M. A. and Rodríguez-Barrueco C.** Studies in nitrogenase activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) callus cultures associated with Rhizobium. in Proceedings V International Congress Plant Tissue Culture, Tokyo. (1982): 671-672.
- Mazid M., Khan T.A., Mohammad F.** Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biol.Med.*, (2011) Vol. 3: 232-249.
- McCall K. A. Huang C. C., Fierke C. A.** Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J. Nutr.* 2000:130,1437S-46S.
- Mebirouk -Boudechiche L., Cherif M., Boudechiche L., Sammar F.** Teneurs en composés primaires et secondaires des feuilles d'arbustes fourragers de la région humide d'Algérie *Revue Méd. Vét.*, (2014) Vol.165: 11-12, 344-352.
- Meibner D., Albert A., Böttcher C., Strack D., Milkowski C.** The role of UDP-glucose: hydroxycinnamate glucosyltransferases in phenylpropanoid metabolism and the response to UVB radiation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* (2008) Vol. 228: 663-674.
- Messina M.J.** Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr.*, (1999) Vol. 70: 439S–50S.
- Metakovsky E. V. and Baboev K.** Polymorphism of gliadin and unusual gliadin alleles in *Triticum boeoticum*. *Genome*, (1992) Vol. 35:1007-1012.
- Min B. R. and Hart S. P.** Tannins for suppression of intestinal parasites. *J. Anim. Sci.* (2003) Vol. 81:102-109.
- Misra S. G., Mani D.** Soil pollution. Ashish Publishing House, Punjabi Bagh; 1991.
- Missbah M. E. I., Aujjar N., Belabed A., Dessaux Y. and Filali-Maltouf A.** Characterization of rhizobia isolated from carob (*Ceratonia siliqua* L.). *J. App. Bacteriol.* (1996) Vol. 80: 165 - 173.

Références bibliographiques

- Mitrakos K.** Temperature germination responses in three Mediterranean evergreen sclerophylls. (1981): 277 - 279.
- Mobin M., Khan N.A.** Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J Plant Physiol.*, (2007) 164: 601-610.
- Morris P. and Robbins M. P.** Manipulating condensed tannins in forage legumes in: B.D. Mc Kersie and D.C.W. Brow (eds). *Biotechnology and the improvement of forage legumes*, CAB International, (1997): 147-173.
- Mouton J. A.** La systématique foliaire en paléobotanique. *J. Soc. Bot. Fr.* (1966) Vol. 113: 492 - 502.
- Muanda F. N.** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat : Université PAUL VERLAINE-METZ. (2010).
- Nabors M.** Biologie végétale : structure, fonctionnement, écologie et biotechnologie. *Ed.* Paris. (2008): 558 - 614.
- NAS.** Tropical legumes: resources for the future. National Academy of Sciences, Washington DC. USA, (1979): 109 - 116.
- Navaro V.** Estudio y mejora del algarrob in: II Jornadas Sobre Experimentación en Fruticultura, Moncada (Valencia) (unpublished), (1992).
- Ndavidemi P.A., Dakora F.D.** Review: legume seed flavonoids and nitrogenous metabolites as signals and protectants in early seedling development. *Funct Plant Biol*, (2003) Vol.30: 729–745.
- Nefzaoui A., Chermiti A.** Place et rôle des arbustes fourragers dans les parcours des zones arides et semi-arides de la Tunisie. *Option Méditerranéennes Ser A*, (1991) Vol. 16: 119–25.
- Neukom H.** Carob bean gum: properties and application in: *Proceedings of the II International Carob Symposium* (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain, (1988): 551 - 555.
- Nyerges C.** The chocolate that is good for you. *J. Organic Gardening*. (1978) Vol.12: 122–126.

- O'Farell P. H.** High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.*, (1975) Vol. 250: 4007- 4021.
- Oppong S.K., Danquah E., Sam M.K.** An Update on crop raiding by elephants in Bia Conservation Area, Ghana from 2004-2006. *Pachyderm* , (2008) Vol. 44: 59-64.
- Orphanos P. I. and Papaconstantinou J.** The carob varieties of Cyprus. Tech. Bull. 5. Cyprus Agricultural Research Institute. Ministry of Agriculture and Natural Resource, Nicosia. (1969).
- Ortiz P. Arista M. and Talavera S.** Producción de néctar y frecuencia de polinizadores en *Ceratonia siliqua* L. (*Caesalpinaceae*). *J. Anales Jara. Bot. Madrid.* (1996) Vol. 54: 540-546.
- Osborn A.E.** Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. *Plant Cell*, (1996) Vol. 8: 1821-1831.
- Osborn A. E.** Saponins and plant defence—a soap story. *Trends Plant Science*, (1996a) Vol. 1:4–9.
- Osborn A. E.** Preformed Antimicrobial Compounds and Plant Defense against Fungal Attack. *The Plant Cell*, (1996b) Vol. 8:1821–31.
- Otsyina R.M., Norton B.W., Djimde M.** Fodder trees and shrubs in arid and semiarid livestock production systems, in: XVIII International Grassland Congress. 1999: 429–438.
- Ouelmouhoub S.** Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier : cas des subéraies du Parc National d'El Kala (Algérie), série Master of science, n° 78, 2005 :130 P.
- Owen R.W., Haubner R., Hull W.E., Erben G., Spiegelhalter B. and Bartscha H.** Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *J. Food and Chemical Toxicology.* (2003) Vol. 41: 1727-1738.
- ÖZcan M.M., Arslan D. and Gökçalik H.** “Some compositional properties and mineral contents of carob (*Ceratonia siliqua*) fruit, flour and syrup” *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, (2007) 58(8): 652-658.
- Thonart P.** The analysis of crude and purified locust bean gum: a comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chem.*, (2007) Vol.101: 1508-1515.
- Padua I.S., Bunyapraphatsara N., Lemmens R.H.M.J.** - Plant Resources of South-East Asia. (1999): 12.

- Papagiannopoulos M., H.R. Wollseifen A. Mellenthin B. H. and Galensa R.** Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (*Ceratonia siliqua* L.) and derived products by HPLC-UV-ESI/MSn, *J. Agric. Food Chem.* (2004) Vol.52: 3784-3791.
- Papanastasis V.P., Platis P., et Dini-Papanastasi O.** Productivity of deciduous woody and fodder species in relation to air temperature and precipitation in a Mediterranean environment *J. Agroforestry Syst.* (1997) Vol. 37: 187-198.
- Peguy C. H. P.** Précis de climatologie. Ed. Masson et Cie. France, (1970) : 468 pp.
- Pénicaut B., Bonnefoy C., Moesch C., Lachâtre G.** Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP-MS) Potentialités en analyse et en biologie. *Annales Pharmaceutiques Françaises* Vol 64, N° 5 - septembre 2006 : 312-327.
- Peoples M. P., Herridge, D. F. and J. K. Ladha.** Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? *Plant and Soil*, (1995) Vol. 174: 3-28.
- Pernès J.** Gestion des ressources génétiques des plantes. Tom1 et Tom2: Manuel. Agence de Coopération Culturelle et Technique (ed.) Lavoisier, Paris. (1984).
- Peterson J., Dwyer J., Adlercreutz H., Scalbert A., Jacques P. and McCullough M. L.** Dietary lignans: physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction. *Nutr. Rev.* (2010) Vol. 68(10):571-603.
- Petit M.D. and Pinilla J.M.** Production and purification of sugar syrup from carob pods. *J. Lebensm Wiss u Technology.* (1995) Vol.28: 145 – 152.
- Peyron S., Chaurand M., Rouau X., and Abecassis J.** Relationship between bran mechanical properties and milling behaviour of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Influence of tissue thickness and cell wall structure. *Journal of Cereal Science*, (2002) Vol. 36(3): 377-386.
- Prasad AS.** Impact of the Discovery of Human Zinc Deficiency on Health. *Journal of the American College of Nutrition*, (2009)28(3):257-65.
- Prieur C., Rigaud J., Cheynier V., Moutounet M.** Oligomeric and Polymeric Procyanidins from Grape Seeds. *Phytochemistry*, (1994) **36**: 781-784.
- Puccini M.** Dictionnaire des aliments pour les animaux, Ed. Edagricole, Bologna (Italia), (1965): 638 pp.

- Putod R.**, 1982. Les arbres fourragers. *Forêt Méditerranéenne*, 1 : 33-36.
- Quezel P. et Santa S.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méditerranéennes. Tome I. *Ed. CNRS, Paris, (1962) : 1700 pp.*
- Quezel P. et Santa S.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méditerranéennes. Tome II. *Ed. CNRS, Paris, (1963): 586 pp.*
- Rebour H.** Frutales méditerranéens. Mundi-Press, Madrid, (1971): 207-210.
- Rebour H.** fruits Méditerranéen, la maison rustique Paris, (1968) : 330pp.
- Reese J.C., Chan B.G. and Waiss A.C.** Effects of cotton condensed tannin, Maysin (corn) and Pinitol (soybeans) on *Heliothis zea* growth and development. *J. Chemical Ecology*. (1982) Vol. 8:1429 - 1436.
- Rejeb M.N.** Le caroubier en Tunisie : Situations et perspectives d'amélioration in : Quel avenir pour l'amélioration des plantes ? *Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris, (1995): 79 - 85.*
- Rejeb M.N., Laffray D. et Louguet P.** Physiologie du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) en Tunisie. *In : Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides. Groupe d'Etude de l'Arbre, Paris, (1991): 417 - 426.*
- Rengel Z.** Heavy Metals as Essential Nutrients. In: Prasad, M.N.V. and Hagemayer, J. (Eds.). Heavy metal stress in plants: From molecules to ecosystems. Springer-Verlag, Berlin, (1999): 231-251.
- Retana J., Ramoneda J., Garcia del Pino F. and Bosch J.** Flowering phenology of carob, *Ceratonia siliqua* L. (*Caesalpinaceae*). *J. Hort. Sci.* (1994) Vol.69 (1): 97 - 103.
- Ribereau G. P.** Les composés phénoliques des végétaux. Traité d'œnologie. *Ed. Dunod, Paris, (1968): 254 pp.*
- Roukas T.** Continuous ethanol productions from carob pod extract by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in a packed bed reactor. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* (1994)Vol.59: 387- 393.
- Russelle M.** Alfalfa. *J. Am Sci.* (2001) Vol.89: 252 – 259.
- Russo F.** Aspetti biologici e colturali del carrubo in Sicilia. *Ann. Sperimentazione Agraria*, (1954) Vol. 8: 947 - 967.

- Saidi R., Lamarti A. and Badoc A.** Micropropagation du caroubier (*Ceratonia siliqua*) par culture de bourgeons axillaires issus de jeunes plantules. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. (2007) Vol. 146: 113-129.
- Sainvitu P., Nott K., Richard G., Blecker C., Jérôme C., Wathelet J.-P., Paquot M. and Deleu M.** Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol: a review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* (2012) Vol. 16(1):115-124.
- Salunkhe D.K., Chavan J.K. and Kadam S.S.** Dietary Tannins: Consequences and Remedies. CRC Press, Inc, Boca Raton, Florida. (1989).
- Sanchez G., Magaña C., Moreno V., Sevilla-Guitron.** Conceptual Design and Process Economics of An Agro-Ethanol Production Plant in Medium-Scale Economies, Biomass for Biofuels, submitted. 2010.
- Sandberg A.S.** Bioavailability of minerals in legumes. *British Journal of Nutrition* 88,Suppl. (2002) 3: S281–S285.
- Sandolo C., Coviello T., Matricardi P., Alhaique F.** Characterization of polysaccharide hydrogels for modified drug delivery. *Eur. Biophys. J.* (2007) Vol.36 (7) :693-700.
- Santos M., Rodrigues A., Teixeira J. A.** Production of dextran and fructose from carob pod extract and cheese whey by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512(f), *Biochemical Engineering Journal*. (2005)Vol. 25: 1–6.
- Sarma S.J., Das R.K., Brar S.K., Le Bihan Y., Buelna G., Verma M., Soccol C.R.** Hydrogen production from biodiesel industry waste by using a co-culture of *Enterobacter aerogenes* and *Clostridium butyricum* . *Energy*. (2014) Vol. (19)78:16-22.
- Sartori-Thiel A.** Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols. Thèse de doctorat en Sciences et agronomie. Chimie, Avignon. 2003 :177p.
- Sbay H. et Abrouch M.** Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable : cas du pin pignon et du caroubier. Centre de Recherche Forestière Haut Commissariat aux eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, Rabat, (2006): 1-9.
- Schachtman D.P. and Shin R.** Nutrient Sensing and Signaling: NPKS. *Annual Review of Plant Biology*, (2007) Vol.58: 47-69.
- Schachtman D.P., and Shin R.** Nutrient sensing and signaling: NPKS. *Annu. Rev. Plant Biol.* (2007) Vol. 58: 47–69.

- Schäfer A.** A New Form of Governance? Comparing the Open Method of Coordination to Multilateral Surveillance by the IMF and the OECD. MPFG Working Papers 04/5, Max-Planck Institut für Gesellschaftsforschung, 2004.
- Schweinfurth G.** Sammlung arabisch-aethiopischer Pflanzen, Ergebnisse von Reisen in dem Jahren 1881, 1888-89, 1891-92. Bull. Herb. *J. Boissier.* (1894) Vol. 2: 1 - 114.
- Sebastian K.T. and Mc Comb J.A.** A Micropropagation system for carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Scientia Horticulturae*, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, (1986):127-131.
- Shaul O.** Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg. 2002.
- Shawakfeh K.Q., Erefej K.I.** Pod characteristics of two *Ceratonia siliqua* L. varieties from Jordan. *Italian Journal of Food Science*, 2005; 2(17):187-194.
- Sidina M.M., El Hansali M., Wahid N., Ouatmane A., Haddioui A.** Fruit and seed diversity of domesticated carob (*Ceratonia siliqua* L.) in Morocco. *Sci Hort.* (2009) Vol.123:110-116.
- Smith B.M., Bean S.R., Schober T.J., Tilley M., Herald T.J., Aramouni F.** Composition and molecular weight distribution of carob germ protein fractions. *J Agric Food Chem.* (2010) Vol. (14)58(13):7794-8000.
- Speroni E., Cervellati R., Innocenti G., Costa S., Guerra M. C., Dall S.** Antiinflammatory, anti-nociceptive and anti-oxidant activities of *Balanites aegyptiaca* L. Delile. *Journal of Ethnopharmacology*, (2005) Vol.98:117–125.
- Stockigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. and Stockigt, D.** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups, *J. Chromatogr. A*, (2002) Vol.967: 85–113.
- Stöckigt D.** - High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups Review. *Journal of Chromatography A.*, (2002) Vol. (967): 85–113.
- Stuessy T. E.** The systematic evolution of comparative data. Columbia Univ. Press, New York, USA, (1990).

- Swain T.** Tannins and lignins. *In*: G.A. Rosenthal and D.H. Ed. Janzen. Herbivores. Academic Press, New York, (1979): 657-682.
- Tarascou I., Mazauric J.P., Meudec E., Souquet J.M., Cunningham D., Nojeim S., Cheynier V., Fulcrand H.** Characterisation of genuine and derived cranberry proanthocyanidins by LC-ESI-MS. *Food Chem.* (2011)128:803.
- Taylor Loverine P., Grotewold Erich.** Flavonoids as developmental regulators. *Current Opinion in Plant Biology* 2005, 8:317–323.
- Thomson P.** The carob in California. *California Rare Fruit Growers Yearbook*, (1971) Vol. 3: 61-102.
- Ticho R.J.** Report to the government of Cyprus on carob production. *FAO Report* 1974. FAO, Rome, (1958).
- Tolera A., Khazaal K., Orskov E.R.** Nutritive evaluation of some browses species. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (1997) Vol.67 (2-3): 181-195.
- Tous J., Olarte C., Truco M. J. and Arús.** Isozyme polymorphism in carob cultivars. *Hort Science.*, (1992) Vol. 27: 257- 258.
- Tous J., Batlle I. and Romero A.** Prospección de variedades de algarrob en Andalucía. (1995).
- Tous J., Romero A., Plana J. and Batlle I.** Current situation of carob plant material in: *Proceedings Third International Carob Symposium (Tavira, Portugal), University of Lisbon, Portugal*, (1996).
- Tsao R., Yang R.** Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquidchromatography. *J. Chromatogr. A.* (2003) Vol.1018: 29 - 40.
- Tucker S. C.** The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* L. (*Leguminosae: Ceasalpinoideae: Cassieae*). *Am. J. Bot.* (1992a). 79(3): 367-327.
- Turhan I., Bialka K.L., Demirci A., Karhan M.** Ethanol production from carob. Extract by using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresour Technol.* (2010) 101(14) : 5290–5296.
- Tutin T. G., Burges N. A., Chater A. O., Edmondson, Heywood V. H., Moore D. M., Valetine D. H., Waters S. M. and Webb D.A.** *Flora Europaea*. Cambridge University Press., UK, (1993).

**Tyler G. and Jobin-Yvon S.A.S.** ICP-OES, ICP-MS and AAS Techniques compared, ICP optical emission spectroscopy, Technical note 05. 1-877-JYHORIBA, (2003).

**Ulrike Jana.** Etude des interactions entre la plante *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh et le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* (Savigny) : application à la phytoremédiation de l'arsenic et de l'antimoine. Thèse de doctorat Université de Paris-Est, (2010): 28.

**Vavilov N.I.** The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants (translated from the Russian by K.S. Chester). The Ronald Press Co., New York, (1951).

**Vincken J.-P., Heng L. De groot A., Gruppen H.** Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, (2007) Vol. 68:275–297.

**Vourdoubas J., Makris P., Kefalas J., Kaliakatsos J.** Studies on the production of bioethanol from carob. In: The 12th National. Conference and Technology Exhibition on Biomass for Energy. Industry and Climate Protection, Proceedings, Amsterdam, (2002): 489-493.

**Waldron K.W., Smith A.C., Parr A.J., Ng A., Parker M.L.** New approaches to understanding and controlling the effects of cell separation on fruit and vegetable texture. *Trends in Food Science and Technology*, (1997) Vol.8: 213–221.

**Wallach O.** Zur Kenntnis der Terpene und ätherischen Oele. *J. Justus Lieb. Ann. Chem.* (1887) Vol. 238: 78-89.

**Wang M., Liu C., Li S., Zhu D., Zhao Q., Yu J.** Improved Nutritive Quality and Salt Resistance in Transgenic Maize by Simultaneously Overexpression of a Natural Lysine-Rich Protein Gene, SBGLR, and an ERF Transcription Factor Gene, TSRF1. *Int J Mol Sci*, (2013) Vol. 14: 9459-9474.

**Wang Y., Belton P.S., Bridon H., Garanger E. Wellner N. Parker M.L., Grant A., Feillet, P.** Noel, T.R. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (2001) 49 : 3414-3419.

**Weber W. E. and Wricke G.** Genetic markers in plants breeding. Advances in plant breeding, Paul Pare Y Scientific Publishers, Berlin, (1994):105p.

**Weidner E., Knez Z., Steiner R.** Powder generation from polyethyleneglycols with compressible fluids. Proceedings of High Pressure Chemical Engineering, *Process Technology*, (1996): 223–228.

- Westmann A. L., Kresovich S.** Use of molecular marker techniques for description of plant genetic resources. Biotechnology in agriculture series n°19. Cab international, Wallingford. New York, (1997): 9-48.
- Williams V.M., Porter L. J. et Hemingway R.w.** Molecular weight profiles of proanthocyanidin polymers. *J. Phytochemistry*. (1983) Vol.22: 569 - 752.
- Winer N.** The potential of the carob tree (*Ceratonia siliqua*). *J. Int. Tree Crops.*, (1980) Vol. 1: 15-26.
- Witkowski E.T.F., Lamont B.B.** Disproportionate allocation of mineral nutrients and carbon between vegetative and reproductive structures in *Banksia hookeriana*. *Oecologia*, (1996) Vol.105: 38–42.
- Wojciechowski K.** Aug Surface activity of saponin from Quillaja bark at the air/water and oil/water interfaces. 1; 108:95-102. doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.02.008.2013.
- Woods G., McCurdy E. et Wilbur S.** Interference-free semi-quantitative analysis using the 3 Agilent 7500ce ICP-MS. *J. Agilent Application Note*. (2004): 5989- 1492.
- Würsch P., Del Vedovo S., Rosset J. and Smiley M.** The tannins granules from ripe carob pod. *J. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*. (1984) Vol.17: 351 - 354.
- Xu Q.S., Hu J.Z., Xie K.B., Yang H.Y., Du K.H., Shi G.X.** Accumulation and acute toxicity of silver in *Potamogeton crispus* L. *Journal of Hazardous Materials*,(2010) Vol.173:86–193.
- Yoshikawa M., Morikawa T., Nakamura S., Li N., Li X. et Matsuda H.** Bioactive saponins and glycosides. Acylated oleanane-type triterpènes saponins from the seeds of tea plant (*Camellia sinensis*). *J. Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. (2007) 55: 57-63.
- Yousif A.k. and Alghzawi H.M.** Processing and characterization of carob powder. *J. Food Chem*. (2000) Vol. 69: 283 -287.
- Youssef N., Elshahed M. S. and McInerney M. J.** Microbial processes in oil fields: culprits, problems, and opportunities. *Adv. Appl. Microbiol.* (2009)Vol.66: 141–151. doi: 10.1016/S0065-2164(08)00806-X.
- Zahran H.H.** Rhizobium legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, (1999)Vol.63:968–989.
- Zayed A., Terry N.** Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant Soil*. (2003)Vol.249:139–56.

Références bibliographiques

- Ziani Y.** Problématique de l'alimentation du cheptel à travers le bilan fourragère. *In: Valorisation des sous produits Agricoles et Agro-industriels dans l'alimentation des Ruminants.* ITMA, Guelma, Algérie. 2002.
- Zografakis N. and Dasenakis D.** Studies on the exploitation of carob for bioéthanol production. *Biomass in Mediterranean, ALTENER Programme.* (2002).
- Zohary M.** Geobotanical Foundations of the Middle East, 2 vols. Stuttgart, (1973).
- Zohary M. and Orshan P.** The maquis of *Ceratonia siliqua* in Israel, Palest. *J. Bot. Jerusalem,* (1959) Vol. 8: 385 - 397.
- Zorrig W., Rouached A., Shahzad Z., Abdelly C., Davidian J C. , Berthomieu P.** Identification of three relationships linking cadmium accumulation to cadmium tolerance and zinc and citrate accumulation in lettuce. *Journal of Plant Physiology,* (2010)167: 1239–1247.
- Zouhair O.** Le caroubier : situation actuelle et perspectives d'avenir. Document interne, Eaux et forets, Maroc, (1996): 22 pp.
- Zunft H. J., Luder W., Harde A., Haber B., Graubaum H. J., Koebnick C., and Grunwald J.** Carob pulp preparation rich in insoluble fibre lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients. *Europaea Journal of Nutrition,* (2003) Vol. 42: 235–242.
- Zywicki B., Reemtsma T. and Jekel M.** Analysis of commercial vegetable tanning agents by reversed-phase liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry and its application to waste water. *J. Chromatogr. A* (2002) Vol. 970: 191 - 200.

*Publication*





## QUANTITATIVE ANALYSIS OF SOME OLIGO-ELEMENTS AND HEAVY METALS IN CASE OF *Ceratonia siliqua* L. HERMAPHRODITE SPECIES FROM ALGERIA

CHABANE KHEIRA<sup>1\*</sup>, BENHASSAINI HACHEMI<sup>1</sup>, BENHAMICHE SAMIA<sup>1</sup>,  
ROMANE ABDERRAHMANE<sup>2</sup> AND ARJOUNI MOULAY YOUSSEF<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Sciences, University Djillali Liabes of Sidi Bel Abbes, Laboratory of Vegetal Biodiversity: Conservation and Valorization, Algeria.

<sup>2</sup>Laboratory of Applied Organic Chemistry, Faculty of Sciences Semailia, University Cadi Ayyad, Marrakech, Morocco.

### AUTHORS' CONTRIBUTIONS

This work was carried out in collaboration between all authors. All authors read and approved the final manuscript.

Received: 6<sup>th</sup> February 2016

Accepted: 26<sup>th</sup> February 2016

Published: 7<sup>th</sup> April 2016

Original Research Article

### ABSTRACT

Although the fruit of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) is nutritious and widely available in Algeria, there is no studies concerned about heavy metals and oligo-elements in carob fruit (seeds and pods). Carob trees have been used mainly as a source of animal fodder, with minimal use of the pods as a nutritious food source. In order to valorize the natural substances of this hermaphrodite species, the coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was employed for the determination of essential and nonessential elements in both seeds and pods.

The results of the quantification of heavy metals using the ICP-MS method showed that the fruits of *C. siliqua* L. are very rich in potassium with 93,94 mg/Kg and 88,61 mg/Kg in seeds and pods respectively succeeded by calcium with about 39,07 mg/kg, 44,71 mg/kg in seeds and pods respectively. The concentrations of oligo-elements and heavy metals in both seeds and pods decreased in the following order: K > Ca > P > Mg > Na > Si > Fe > Al > Mn > Zn > Cd > Pb > Cr > As > Cu.

Carob fruits are rich in oligo-elements and the concentrations of heavy metals is lower than the normal range which confer a great interest for the industry by its use in agroalimentary and as a source of feedstuff.

**Keywords:** *Ceratonia siliqua* L.; oligo-elements; heavy metals; valorization.

### 1. INTRODUCTION

The carob (*Ceratonia siliqua* L.) tree, also called locust bean, belongs to the family of Fabaceae (*Caesalpinioideae*) and grows in many parts of the Mediterranean region mainly in Spain, Italy, Portugal and Morocco [1]. This tree is highly plastic in sexuality [2]. It's a dioecious species with some hermaphroditic forms; thus male, female and

hermaphrodite flowers are generally borne on different trees [3]. Although, dioecious individuals are the most widespread, but hermaphrodite is occasionally found in both natural and cultivated populations [2]. The frequency of the hermaphrodite genotypes in natural population is probably influenced by environmental factors [4]. It is considered as an important component of the vegetation and is economically speaking, growing more male (rather

\*Corresponding author: Email: chabane\_bio@hotmail.fr;

than hermaphrodites) carob trees as pollinators is of greater advantage since their hermaphrodite counter parts tend to have lower yields [4].

In addition, even though hermaphrodite trees have the advantage of a longer flowering period than male trees, they are also more susceptible to disease, particularly a fungal disease well known as "oidium" [5]. Carob trees are drought resistant; require little maintenance and produce a range of products from the seed and the pod [6].

The current world production of carob extracts is estimated at 315000 tons per year, with Spain being the main producer and exporter (42%), followed by Italy (16), Portugal (10%), Morocco (8%), Greece (7%), Cyprus and Turkey (5%) [7]. According to [8], Algeria has a significant potential of carob production, it produces 7000 tons per year including 800 tons of seeds and 6200 tons of pods.

Carob pods are nutritious and have high sugar content, sweet-tasting and mildly laxative. Moreover, a decoction of the pulp is used as anti-diarrheal and gently helping to cleanse and relieve irritation within the gut [9-12]. Carob powder can be used as a chocolate as a delicious drink of low fat and calories, caffeine-free and lacks the health risks of chocolate as well as increasing serum HDL-cholesterol [13]. The seeds, covered with a tight-fitting brown coat, contain a white and translucent endosperm (containing galactomannans), also called Carob gum. Locust bean gum (LBG) or E411. Locust bean gum is utilized in food and non-food industries for its ability to form a very viscous solution at relatively low concentration. It is also exploited for its synergy property with carrageenan, agar and xanthan to form stronger and more elastic gels [14].

In addition, the nutritional potential of *C. siliqua* L. has been widely studied, and it is well-known that the environmental factors influence this chemical composition.

More often, the heavy metals are mixed in fertilizers. However, the toxic levels of such metals are absorbed by some plants, ultimately consumed by humans.

The heavy metals cadmium, lead and mercury are common air pollutants, being emitted mainly as a result of various industrial activities. Although the atmospheric levels are low, they contribute to the deposition and build-up in soils. They are persistent in the environment and are subject to bioaccumulation in the body and food chain. So, the toxic metals generally exhibit chronic toxicity.

Some trace elements are essential nutrients for plant growth and often also for food and feed quality because the primary route for their intake by humans and animals is plants. These trace elements might better be called micronutrients. Included in this group are boron, chlorine, copper (Cu), iron (Fe), manganese (Mn) and zinc (Zn) [15].

The major chemical constituents of the carobs pods are moisture, ash, carbohydrates, proteins, fat, minerals and dietary fibre [16,17]. According to [18], Carob pods are very rich in potassium and calcium. As for trace elements, carob fruit contained significant quantities of iron, manganese, zinc, and copper.

Recently, there is a growing interest for the mineral content and nutrition of higher plants and their importance in agriculture, foods and Human health. Although, the efficacy of plants for the curative purposes is often accounted for its organic constituents. Many studies showed that mineral elements could reduce the risk factor of individual's health. Iodine is a component of thyroid hormones, as well as it can play other important roles in alimentary systems, sources of macro and trace elements [19-21].

Little studies about the composition of heavy metals and oligo-elements of *Ceratonia siliqua* L. in Algeria have been cited. For these reasons, this paper report the quantification and valorization of a hermaphrodite carob fruits from north-western Algeria by the evaluation of seeds and pods composition in oligo-elements and heavy metals.

## 2. EXPERIMENTAL MATERIALS

The pods of *C. siliqua* L. were collected on a subject hermaphrodite from the University of Sciences (Sidi Bel Abbes) during November 2014. The pods without seeds were dried in the shade for 3 months. The seeds were separated manually then crushed separately. They were ground to obtain powder in which the mineral content was quantified. The resulting flour was preserved in glass bottles, safe from the light for further use.

A few quantity of carob dry matter (0.5 g) was mineralised with 2 ml of sulphuric acid ( $H_2SO_4$ ), 6 ml of nitric acid ( $HNO_3$ ) and 6ml of oxygenated water ( $H_2O_2$ ). This mixture was heated for 30 min. The mineral deposit was cooled and filtered by Whatman ashless filter and then supplemented to 25ml of 0.1M  $HNO_3$  [22]. All procedures of handling were carried out without contact with metals, to prevent cross-contaminations. The analysis of the samples was realised by metallic dosage in the obtained solution by

using inductively coupled plasma mass spectrometry (Jobin-Yvon 70 ICP-MS) ULTIMA AND JY70. All experiments were carried out in triplicate.

### 2.1 Data Analysis

The analytical data were performed using the SPSS (Version 19.0). The analysis of variance (ANOVA) was used to show if the difference between *Ceratonia siliqua* seeds and pods is significant. The Pearson correlation was applied at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ . The Principal Component Analysis (PCA) was carried out on the data set of oligo-elements Euclidean distance to calculate the simple inter-point distance. Data are expressed as means  $\pm$  SD.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

In carob pods researchers have detected K, Na, P, B, Co, Mn, Fe, Cu, Zn, S, N, Cl, Mg, Ca and P. However, the content of each element are known to vary [23,24].

The minerals that were especially abundant were potassium and calcium. As for trace elements, carob fruit contained significant quantities of iron (Fe), manganese (Mg), zinc (Zn), and copper (Cu) [25].

Very few studies were carried out on heavy metals in pods and seeds carob. This component present a variety of elements such as arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr), copper (Cu), iron (Fe), magnesium (Mg), lead (Pb), zinc (Zn), aluminum (Al), calcium (Ca), manganese (Mn), potassium (K), sodium (Na) and phosphorus (P) [4,24].

The Inductively coupled plasma mass spectrophotometry (ICP/MS) analysis techniques of oligo-elements and heavy metals in seeds and pods of *C. siliqua* L. revealed their richness with oligo-elements (Table 1).

Potassium (K) is the most abundant element with 93, 94 mg/Kg and 88,61mg/Kg in seeds and pods respectively. According to [36], Carob pods present about 85-109mg/Kg. [4] and [24] cited that *C. siliqua* L. Pods are composed by 60-86 mg/kg. Potassium (K) is an essential macronutrient for plants, composing up to 10% of the plant dry weight [37]. It is important for enzyme activation, efficient use of water, photosynthesis, transport of sugars, water and nutrient movement, protein synthesis, plant growth and organ movement [38].

The second oligo-element is calcium (Ca). Our samples (Seeds and pods) of *C. siliqua* L. have the highest level of calcium, they present about 39,07 mg/kg and 44,71 mg/kg respectively. In their study [24], cited that carob pods contain from 9 to 35 mg/kg of calcium. While [36], cited that carob pods contain from 13 to 30 mg/kg. This variation can be due to the geographical situation, ecological conditions or analysis methods and species variety. Its availability is essential in the biochemistry of plants. Cell wall strength and thickness are increased by calcium addition. It is a critical part of the cell wall that produces strong structural rigidity by forming cross-links within the pectin polysaccharide matrix. With rapid plant growth, the structural integrity of stems that hold flowers and fruit, as well as the quality of the fruit produced, is strongly coupled to calcium availability [39].

*Ceratonia* seeds and pods are also very rich in phosphorus (P), their content being 12, 44 mg/kg and 22, 60 mg/kg respectively. Phosphorus is an essential part of the process of photosynthesis and involved in the formation of all oils, sugars, starches, etc [40].

Magnesium (Mg) and Manganese (Mn) are essential elements in biological systems. The results showed that *C. siliqua* pods contain 10,024 mg/kg of magnesium and 0,255 mg/kg of manganese; while seeds contain 5,864 mg /kg of magnesium and 0,160 mg/kg of manganese. Mg is an essential mineral nutrient for life, is an enzyme activator: hydrolase, kinases, carboxylases and transferases [41] and Manganese is an essential element in plant growth, but excessively high levels of Mn in soil can also hamper plant growth tremendously [42].

Copper (Cu) is known to be an essential micronutrient for the growth and development of many plants. It plays a key role in many metabolic mechanisms, but it can be toxic when the Cu content in tissues is slightly higher than its optimal levels. The range of this metal concentration is very narrow for an optimal growth of many plants, is used in electron transfer, antioxidant, superoxide dismutase, etc. [43].

Plants can amass trace elements, especially heavy metals like chromium (Cr). This latter is a component of the glucose tolerance factor and the lipid metabolism. Cadmium (Cd) is a component of vitamin B12. Lead (Pb) is considered as a major metallic pollutant of the environment and toxic element in plants [44]. The results showed very low values of these toxic elements in both pods and seeds of *C. siliqua* grown under semi-arid conditions (Table 1).

Table 1: Total concentration of oligo-elements and heavy metals in locust bean (*Ceratonia siliqua* L.) compared to the normal range in plants cited by different authors

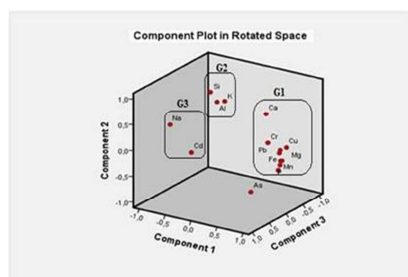
	Hermaphrodite species			Dioique species			Normal range in plants (mg/kg)	References
	Mean seeds (mg/kg)	Mean pods (mg/kg)	Pods (mg/kg) [4,24]	Pods (mg/kg) [36]	Pods (mg/kg) [36]	Pods (mg/kg) [36]		
Al	0.188±0.055	0.183±0.008	/	/	/	/	200≥1000	[26]
As	0.043±0.013	0.046±0.007	/	/	/	/	5	[27]
Ca	<b>39,075±8,499</b>	<b>44,715±7,862</b>	9-35	/	1.3-30	/	1830.2-2042.5	[28]
Cd	0.071±0.001	0.069±0.0004	/	/	/	/	2	[29]
Cr	0.054±0.008	0.080±0.032	/	/	/	/	0.006-18	[30]
Cu	0.0036±0.000	0.026±0.020	0.1-0.3	/	0.007-0.02	/	0.4-45.8	[31]
Fe	0.326±0.0264	0.490±0.226	0.3-2.9	/	0.04-0.09	/	640-2486	[32]
K	<b>93,946±39,244</b>	<b>88,861±10,302</b>	60-86	/	85-109	/	/	/
Mg	<b>5,864±1,203</b>	<b>10,024±5,582</b>	1-5	/	5-10	/	0.73-1.41	[33]
Mn	0.160±0.026	0.255±0.113	0.760-0.152	/	0.06-0.123	/	15-100	[34]
Na	<b>2,442±0,251</b>	<b>1,846±0,379</b>	4-8	/	0.4-1.5	/	/	/
P	<b>12,444±4,202</b>	<b>22,607±13,538</b>	69.1-79.0	/	85-109	/	/	/
Pb	0.057±0.005	0.075±0.016	/	/	/	/	3	[35]
Si	0.709±0.074	0.704±0.058	/	/	/	/	/	/
Zn	0.072±0.051	0.151±0.120	0.5-1.4	/	0.01-0.07	/	1-160	[31]

Al: Aluminium, As: Arsenic, Ca: Calcium, Cd: Cadmium, Cr: Chromium, Cu: Copper, Fe: Iron, K: Potassium, Mg: Magnesium, Mn: Manganese, Na: Sodium, P: Phosphorus, Pb: Lead, Si: Silicon, Zn: Zinc

The one way analysis of variance (ANOVA) revealed a significant difference between oligo-elements and heavy metals composition of *C. siliqua* L. pods and seeds. On the content of these two parts of the fruit; there was statistically significant influence on the concentration of K, Al and Si ( $\alpha < 0.001$ ). Also, statistically significant correlations ( $\alpha < 0.05$  and  $\alpha < 0.01$ ) between concentrations of the metals studied in *C. siliqua* fruits (pods and seeds separately) revealed significant positive correlations (Table 2). Significant positive relationships ( $\alpha < 0.01$ ) were observed inter alia for the following assemblages: Cu-Mg-Mn-P-Zn, Cr-Fe-Mg-Mn-P, and K-Mn-P-Zn. In other hand, Mn-P-Zn were negatively correlated and certain elements were not correlated like Fe-Mg-Mn-P-Zn and K-Al.

Complementary to the previous statistical test, we have used the Principal Component Analysis (PCA) for the correlation between oligo-elements and heavy metals in *Ceratonia* seeds and pods.

In PCA (Fig. 1), the horizontal axis F1 explained about 60.04% of the total variance and the vertical axis F2 a further 24.44% and the third component F3 about 9.47%. Total contribution from these components is 93.96% of the total variation. This last showed a clear separation of variables into three groups: G1 (Ca-Cu-Mg-Mn-Fe-Cr-Pb), G2 (Al-K-Si), G3 (Na-Cd).



**Fig. 1. Principal component analysis (PCA) of *Ceratonia siliqua* L. according to the mineral composition. G1 (Ca-Cu-Mg-Mn-Fe-Cr-Pb), G2 (Al-K-Si), G3 (Na-Cd)**

The seeds and pods of *C. siliqua* L. (hermaphrodite species) are a rich source of oligo-elements (K, P, Ca, Mg, and Na). The trace element Zn, Cu, Cd and Pb act as cofactors of antioxidant enzymes to protect the body from oxygen free radicals that are produced during oxidative stress.

Presence of heavy metals in the environment is a major concern due to their toxicity to man and animal and plant life. Some heavy metals such as lead, cadmium and mercury are considered toxic even at low concentrations. Other heavy metals such as zinc and copper are considered essential at low concentrations but become toxic at high concentration levels [45].

The obtained results of the oligo-elements and heavy metals composition remain so equilibrated which militate in favor of the use of carob fruits (seeds and the pods) in the production of animal feeds and in the cosmetic and pharmaceutical fields.

The heavy metals are considered most toxic to humans, animals and environment. Excessive concentrations of heavy metals are detrimental. The bioaccumulation of toxic metals can occur in the body and food chain [46]. The toxic metals generally exhibit chronic toxicity. Heavy metals can have toxic effects on different organs. They can enter into water via drainage, atmosphere, soil erosion and all human activities by different ways. As the heavy metals concentrated more in the environment, they enter biogeochemical cycle, leading to toxicity [45].

The importance of other trace elements found in plants but, as yet without any recognised function, relates to their role in animal nutrition. Their presence in plants would appear to have allowed animals to use them in their metabolic processes, often in enzyme systems. Among such elements are cobalt, chromium, fluorine, iodine, nickel and selenium. Animals having developed a dependency on these trace elements they too could be described as micronutrients. More elements have been shown to be essential for animals than for plants. Thus it is essential that micronutrients, whether required by plants or animals, are present in sufficient plant-available concentrations in the soil to ensure optimum productivity [15].

Heavy metals are important in many respects to man, especially in the manufacturing of certain important products of human use, such as accumulators (Pb), mercury- arch lamps and thermometers (Hg), utensils (Al) and a wide range of other products. But the biotoxic effects, when unduly exposed to them could be potentially life threatening hence, cannot be neglected. While these metals are in many ways indispensable, good precaution and adequate occupational hygiene should be taken in handling them. Although heavy metal poisoning could be clinically diagnosed and medically treated, the best option is to prevent heavy metal pollution and the subsequent human poisoning [47].

Table 2. Single tailed Pearson correlation of oligo-elements and heavy metals in *Ceratonia siliqua* L. fruits (seeds and pods)

	Al	As	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Pb	Si	Zn
I	-0,668		0,605	0,454	0,276	-0,025	0,05	0,945**	-0,125	-0,152	0,393	-0,205	-0,263	0,65	-0,309
Al	I		-0,22	0,036	0,108	0,436	0,462	-0,595	0,591	0,57	-0,63	0,635	0,591	-0,828*	0,708
As		I		-0,022	0,682	0,722	0,729	0,42	0,605	0,59	-0,401	0,535	0,402	0,202	0,451
Ca			I		-0,077	-0,293	-0,071	0,42	-0,133	-0,2	0,498	-0,16	-0,39	-0,035	-0,156
Cd				I		0,764	0,838*	0,217	0,776	0,803	-0,629	0,765	0,273	-0,355	0,686
Cr					I		0,964**	0,1	0,960**	0,951**	-0,916*	0,940**	0,803	-0,386	0,904*
Cu						I		0,15	0,984**	0,977**	-0,842*	0,966**	0,669	-0,49	0,931**
Fe							I		-0,015	-0,058	0,299	-0,106	-0,086	0,649	-0,193
K								I		0,996**	-0,904*	0,995**	0,719	-0,603	0,979**
Mg									I		0,923**	0,996**	0,7	-0,614	0,977**
Mn										I		-0,829*	0,576	-0,915**	-0,156
Na											I		-0,67	0,992**	0,703
P												I	-0,232	-0,733	-0,733
Pb													I		
Si														I	
Zn															I

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

#### 4. CONCLUSION

The present study showed that the pods of hermaphrodite *Ceratonía siliqua* tree are interesting concerning their profile in mineral compounds.

In fact, we note richness in potassium (K), calcium (Ca), phosphorus (P) and magnesium (Mg), which are very important for plant growth and development. We have noted also, a low rate of heavy metals, which are similar in slight amount, sometimes as traces, giving the studied sample a considerable nutritious value.

The present findings militate favourably for the introduction of *C. siliqua* in the field of human and animal feeds.

#### COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

#### REFERENCES

1. Ayaz Faik A, Hülya Torun, Robert H. Glew, Zehra D. Bak, Luther T. Chuang, Jack M. Presley, Ronnie Andrews. Nutrient content of carob pod (*Ceratonía siliqua* L.) flour prepared commercially and domestically. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2009;64:286-292. DOI: 10.1007/s11130-009-0130-3
2. Caruso M, Distefano G, Ye X, La Malfa S, Gentile A, Tribulato E, Mikeal L. Roose Generation of expressed sequence tags from carob (*Ceratonía siliqua* L.) flowers for gene identification and marker development. *J. Tree Genetics & Genomes.* 2008;4:869-879.
3. Tucker SC. The developmental basis for sexual expression in *Ceratonía siliqua* L. (*Leguminosae: Ceasalpinoideae: Cassieae*). *Am. J. Bot.* 1992a;79(3):367-327.
4. Battle I, Tous J. Carob tree *Ceratonía siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilised and neglected crops. 17. Ed. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Rome, Italy. 1997:92.
5. Curtis A, Race D. Carob agroforestry in the low rainfall Murray valley: A market and economic assessment. Publication N°. 98/8. Rural Industry Research and Development Corporation (RIRDC), Australia; 1998.
6. Fletcher R. XIII. Carob agroforestry in Portugal and Spain, The Australian New Crops Newsletter; 1997. Available:<http://www.newcrops.uq.edu.au/public1.htm>
7. Biner B, Gubbuk H, Karhan M, Aksu M, Pekmezci M. Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonía siliqua* L.) in Turkey. *Food Chemistry.* 2007;100:1453-1455.
8. FAO. Food and Agriculture organization of the United Nations, in Allouache A, Aziza MA, Ahmed Zaid T. Analyse de cycle de vie du bioéthanol. *Revue des Energies Renouvelables.* 2013;16(2):357-364.
9. Leung A. In encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. A Willey – Interscience Publication New York. 1980:91-92.
10. Boulos L. In medicinal plants of North Africa. Library of congress catalog card number: 82-20412. International standard book number: 0-917256-16-6; 1983.
11. Fawzy K. In Medicinal plants in Libya. Arab Encyclopedia House P.O. Box 13 - 5348, Beirut - Lebanon; 1985.
12. Custódio L, Carneiro MF, Romano A. Microsporogenesis and anther culture in carob tree (*Ceratonía siliqua* L.). *Scientia Horticulturae.* 2005;104:65-77.
13. Joo S, Kies C, Schnepf M, Joo SJ. Chocolate and chocolate-like products: Impact on serum lipid profiles and serum fatty acid composition of humans. *Journal of Applied Nutrition.* 1997;49(3):46-55.
14. Goycoolea FM, Morris ER, Gidley MJ. Viscosity of galactomannans at alkaline and neutral pH: Evidence of 'hyperentanglement' in solution. *Carbohydrate Polymers.* 1995;27:69-71.
15. Johnston AE. Trace elements in soil: status and management in Essential trace elements for plants, animals and humans. *NJF Seminar N° 370*, Reykjavik, Iceland. 2005;15-17.
16. Avallone R, Plessi M, Baraldi M, Monzani A. Determination of chemical composition of carob (*Ceratonía siliqua* L.): Protein, fat, carbohydrates, and tannins. *J. of Food Composition and Analysis.* 1997;10:166-172.
17. Yousif AK, Alghzawi HM. Processing and characterization of carob powder. *J. Food Chem.* 2000;69:283-287.
18. Ayaz FA, Torun H, Ayaz S, Correia PJ, Alaiz M, Sanz C, Gruz J, Strnad M. Determination of chemical composition of Anotolian carob pod (*Ceratonía siliqua* L.): sugars, amino and organic acid, minerals and phenolic compounds. *J. Food Qual.* 2007;30:1040-1055.
19. Özcan M, Akgu'l Bağci Y, Dural H. Chemical composition and mineral contents of edible

- wild plants consumed in Ic\_el (Mersin). S.U. Science Journal. 1998;15:72-77.
20. Basgel S, Erdemoglu SB. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. Science of the Total Environment. 2005;359: 82-89.
  21. Bennouna MA, Belaiz R, Arjouni MY, Romane A. Quantitative analysis of some oligo elements and heavy metals in some species of Thymus from Morocco. Natural Product Research. 2012;1-5.
  22. Schwartz C. Phytoextraction des métaux des sols pollués par la plante hyperaccumulatrice *Thalaspicaerulea*. Thèse INPL, Sciences Agronomiques, Nancy (France). 1997;182.
  23. Petit MD, Pinilla JM. Production and purification of sugar syrup from carob pods. J. Lebensm Wiss u Technology. 1995;28:145-152.
  24. Shawakfeh KQ, Erefej KI. Pod characteristics of two *Ceratonia siliqua* L. varieties from Jordan. Italian Journal of Food Science. 2005; 2(17):187-194.
  25. Bengochea C, Romero A, Villanueva A, Moreno G, Alaiz M, Millán F, Guerrero A, Puppo MC. Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins. J. Food Chem. 2008;107:675-683.
  26. Jansen S, Broadley MR, Robbrecht E, Smets E. Aluminum hyperaccumulation in agiosperms: A review of its phylogenetic significance. Bot. Rev. 2002;68:235-269.
  27. British Herbal Medicine Association, British Herbal Pharmacopoeia; 1996.
  28. Xu QS, Hu JZ, Xie KB, Yang HY, Du KH, Shi GX. Accumulation and acute toxicity of silver in *Potamogeton crispus* L. Journal of Hazardous Materials. 2010;173:86-193.
  29. Codex Alimentarius. Codex maximum levels for Cadmium in Cereals, Pulses and Legumes, Joint FAO/WHO Standards, CAC/GL39-2001; 2001a. Available: [http://www.codexalimentarius.net/standards\\_search.asp](http://www.codexalimentarius.net/standards_search.asp) (Accessed March 2004)
  30. Zayed A, Terry N. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. Plant Soil. 2003;249:139-56.
  31. Kabata-Pendias A, Pendias H. Trace elements in soils and plants. Boca Raton, Florida: CRC Press. Witkowski ETF, Lamont BB. 1996. Disproportionate allocation of mineral nutrients and carbon between vegetative and reproductive structures in *Banksia hookeriana*. Oecologia. 1984;105:38-42.
  32. Lavilla I, Filgueiras AV, Bendicho C. Comparison of digestion methods for determination of trace and minor metals in plant samples. J. Agric. Food Chem. 1999; 47(12):5072-5077.
  33. Witkowski ETF, Lamont BB. Disproportionate allocation of mineral nutrients and carbon between vegetative and reproductive structures in *Banksia hookeriana*. Oecologia. 1996;105: 38-42.
  34. Misra SG, Mani D. Soil pollution. Ashish Publishing House, Punjabi Bagh; 1991.
  35. Codex Alimentarius. Maximum levels for Lead, Joint FAO/WHO Standards, Codex STAN 230-2001; 2001b. Available: [http://www.codexalimentarius.net/standards\\_search.asp](http://www.codexalimentarius.net/standards_search.asp) (Accessed March 2004)
  36. Iipumbu, L. Compositional analysis of locally cultivated carob (*Ceratonia siliqua*) cultivars and development of nutritional food products for a range of market sectors. Stellenbosch University, South Africa. 2008;117.
  37. Leigh RA, Wyn Jones RG. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell. New Phytol. 1984;97:1-13.
  38. Benito B, Haro R, Amtmann A, Cuin TA, Dreyer I. The twins K + and Na + in plants. J. Plant Physiol. 2014;171:723-31.
  39. Easterwood GW. Calcium's Role in Plant Nutrition Research shows soluble calcium fertilizer plays vital role in production of high-quality crops. Winter Fluid Journal; 2002.
  40. O'Reilly SE, Sims JT. Phosphorus adsorption and desorption in a sandy soil amended with high rates of coal fly ash. Commun. Soil Sci. and Plant Anal. 1995;26(17-18):2983-2993.
  41. Marschner H. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London; 1995.
  42. Kumar PBAN, Dushenkov V, Motto H, Raskin I. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. Environmental Sciences Technology. 1995;29(5):1232-1238.
  43. Teisseire H, Couderchet M, Vernet G. Toxic response and catalase activity of *Lemma minor* L. exposed to folpet, copper and their combination. Ecotoxicol. Environ. Safety 40. 1998;194-200.
  44. Kabata-Pendias A, Pendias H. Trace elements in soils and plants. CRC Press, Washington, DC; 2001.

45. Paul BT, Clement GY, Anita KP, Dwayne JS. Heavy metals toxicity and the environment. *Experientia Supplementum*. 2012;101:133-164. DOI: 10.1007/978-3-7643-8340-46. [PMCID: PM4144270].
46. Pandey Govind, Madhuri S. Heavy metals causing toxicity in animals and fishes. *Res. J. Animal, Veterinary and Fishery Sci*. 2014; 2(2):17-23.
47. Duruibe JO, Ogwuegbu MOC, Egwurugwu JN. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*. 2007;2(5):112-118.