

N° d'ordre 3463

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : *Biotechnologies Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement*

Structure de Recherche : *Equipe de Microbiologie et Biologie Moléculaire*

Discipline : *Biologie*

Spécialité : *Biotechnologie Végétale et Biologie Moléculaire*

Présentée et soutenue le 22/05/2021 par :

MINT ABDEL AZIZ Selouka

Titre de la thèse

Approches pour la valorisation de *Balanites aegyptiaca* en (L.). Del. en Mauritanie : Analyse de la diversité morphologique, physicochimique et moléculaire de populations naturelles

JURY

FILALI-MALTOUF Abdelkarim, PES, Membre Correspondant, Académie Hassan II des Sciences et Techniques, Rabat

Président

RCHID Halima, PES, Faculté des Sciences, Université Chouaib Doukkali, El Jadida

Rapporteur-Examinatrice

CHERKAOUI Souad, PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V- Rabat

Rapporteur-Examinatrice

DJEH CHEIKHMALEININE Taleb-khyar, PH, Ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche Scientifique et des Technologies de l'Information et de la Communication, Nouakchott, Mauritanie

Rapporteur-Examinateur

MEDRAOUI Leila, PH, Faculté des Sciences, Université Mohammed V- Rabat

Examinatrice

BELKADI Bouchra, PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat

Directrice de Thèse

BOUKHARY Ali Ould Mohamed Salem, PES, Université de Nouakchott Al-Aasriya, Mauritanie

Co-directeur de Thèse

Année Universitaire : 2020 - 2021

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : *Biotechnologies Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement*

Structure de Recherche : *Equipe de Microbiologie et Biologie Moléculaire*

Discipline : *Biologie*

Spécialité : *Biotechnologie Végétale et Biologie Moléculaire*

Présentée et soutenue le 22/05/2021 par :

MINT ABDEL AZIZ Selouka

Titre de la thèse

Approches pour la valorisation de *Balanites aegyptiaca* en (L.). Del. en Mauritanie : Analyse de la diversité morphologique, physicochimique et moléculaire de populations naturelles

JURY

<i>FILALI-MALTOUF Abdelkarim, PES, Membre Correspondant, Académie Hassan II des Sciences et Techniques, Rabat</i>	<i>Président</i>
<i>RCHID Halima, PES, Faculté des Sciences, Université Chouaib Doukkali, El Jadida</i>	<i>Rapporteur-Examinatrice</i>
<i>CHERKAOUI Souad, PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V- Rabat</i>	<i>Rapporteur-Examinatrice</i>
<i>DJEH CHEIKHMALEININE Taleb-khyar, PH, Ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche Scientifique et des Technologies de l'Information et de la Communication, Nouakchott, Mauritanie</i>	<i>Rapporteur-Examinateur</i>
<i>MEDRAOUI Leila, PH, Faculté des Sciences, Université Mohammed V- Rabat</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>BELKADI Bouchra, PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat</i>	<i>Directrice de Thèse</i>
<i>BOUKHARY Ali Ould Mohamed Salem, PES, Université de Nouakchott Al-Aasriya, Mauritanie</i>	<i>Co-directeur de Thèse</i>

Année Universitaire : 2020 - 2021

DEDICACE

Je dédie ce travail de thèse :

A la mémoire de mon regretté père

RABANY Abdelaziz

Il était mon soutien à la fois moral et financier, Il m'a encouragé sans relâche tout au long de mon parcours étudiant.

Que Dieu ait son âme

A ma chère mère et toute ma famille.

Aucun langage ne saurait exprimer la force de mes sentiments et la reconnaissance que je vous porte pour vos sacrifices, votre soutien et vos encouragements.

C'est grâce à vous que je suis là aujourd'hui.

A mes chers professeurs

A mes amis

A tous ceux qui me sont cher(e)s.

AVANT PROPOS

Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés sur deux sites : au Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire (LMBM) de la Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat; Maroc et au Laboratoire de Biologie Moléculaire de l'Unité de Recherche « Génomes et Milieux » de la Faculté des Sciences et Techniques, Université de Nouakchott Al-Aasriya, Mauritanie. Ils ont été menés sous la direction des Professeurs **BELKADI Bouchra** et **BOUKHARY Ali Ould Mohamed Salem**.

Les résultats obtenus dans ce cadre ont fait l'objet des 2 publications suivantes :

1 Selouka Mint Abdelaziz, Leila Medraoui, Mohammed Alami, Ouafae Pakhrou, Meryem Makkaoui, Ali Ould Mohamed Salem Boukhary, Abdelkarim Filali-Maltouf. (2020). Inter simple sequence repeat markers to assess genetic diversity of the desert date (*Balanites aegyptiaca* Del.) for Sahelian ecosystem restoration. Scientific Reports. 10, 14948. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71835-9>. (IF: 3,998-ISI / Q1)

2 Selouka Mint Abdelaziz, Fouteye Mint Mohamed Lemine, Hasni Ould Tfeil, Abdelkarim Filali-Maltouf, Ali Ould Mohamed Salem Boukhary. (2020). Phytochemicals, Antioxidant Activity and Ethnobotanical Uses of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Fruits from the Arid Zone of Mauritania, Northwest Africa. Plants. 9(3), 401. <https://doi.org/10.3390/plants9030401>. (IF: 2,632-ISI / Q1)

Ils ont aussi été présentés dans deux manifestations internationales sous forme de communications orales :

1 Selouka M. Abdel Aziz, Medraoui L, Alami M, Ali Ould Mohamed Salem Ould Boukhary, Filali-Maltouf A. Evaluation de la diversité génétique intra et inter-population de *B. aegyptiaca* appartenant à différents étages bioclimatiques en utilisant les marqueurs ISSR. 2ème congrès International de Biologie et Développement. Nouakchott (Mauritanie) 16-18 Novembre, 2018.

2 Selouka M Abdel Aziz, Abdel Karim Filali-Maltouf et Ali ould Mohamed Salem ould Boukhary: Approches pour la valorisation de *Balanites aegyptiaca* en Mauritanie : Analyse de la diversité morphologique, physicochimique et moléculaire de populations naturelles. Colloque Toogga sur les Plantes Oléagineuses du Sahel et du Maghreb Chami, Mauritanie, 31 octobre – 02 novembre, 2014

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude à ma chère directrice de thèse, Madame **BELKADI Bouchra**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat d'avoir accepté de diriger ce travail de thèse. Merci pour votre disponibilité, votre patience, votre compréhension, votre gentillesse, et vos précieux conseils. Ma profonde gratitude et mes chaleureux remerciements à mon directeur de thèse en Mauritanie, Monsieur le Professeur **BOUKHARY Ali Ould Mohamed Salem**, pour la confiance qu'il m'a donnée en acceptant de diriger cette thèse. Ses orientations, sa rigueur scientifique, la qualité de ses conseils ainsi que les suggestions scientifiques et ses encouragements permanents qui m'ont profondément marqué pendant ma thèse. Je lui exprime ma reconnaissance et ma gratitude pour tous les efforts qu'il a consentis pour la réalisation de mes travaux de recherche dans les meilleures conditions. Je suis vraiment touchée et reconnaissante pour l'aide et le soutien qu'il m'a apporté.

Je tiens à adresser mes sincères et chaleureux remerciements à Monsieur le le président du jury Professeur **FILALI-MALTOUF Abdelkarim**.

Mes sincères et profonds remerciements s'adressent à Madame **MEDRAOUI Leila**, Professeur Habilité, à la Faculté des Sciences de Rabat d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse, et pour sa bienveillance, son suivi, sa disponibilité, son encadrement scientifique, et ses remarques pertinentes, et ses conseils prodigués.

Mes profonds remerciements à Madame **RCHID Halima**, Professeur de l'Enseignement Supérieur, Faculté des sciences El Jadida d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse en qualité de rapporteur, et pour le temps consacré à la lecture de cette thèse. Qu'elle trouve ici mes sincères sentiments de gratitude et de profond respect.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à Madame **CHERKAOUI Souad**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat d'avoir gentiment accepté de lire et de rapporter cette thèse malgré ses préoccupations. Je suis vraiment reconnaissante et honorée par sa participation au jury de cette thèse.

Mes sincères remerciements vont également à Mr **DJEH CHEIKHMALEININE Taleb-khyar**, Professeur Habilité à l'Institut Supérieur de l'Enseignement Technologique de Rosso

d'avoir accepté de rapporter cette thèse, de consacrer de son temps pour lire mon manuscrit malgré ses engagements, et pour ses remarques pertinentes et ses conseils précieux. Qu'il trouve ici l'expression de toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Je tiens également à remercier du fond de mon cœur toutes les équipes des deux laboratoires d'accueil (LMBM et Laboratoire de biologie Moléculaire à Nouakchott) : **MAKKAOUI Meryem, ALAMI Mohammed, RABEH Karim, RACHIDI Farid, YATRIB Chaimae, PAKHROU Ouafae, Kaoutar, ATAR Imane, CHAMKHI Imane, BELFQUIH Meryem, RADID Horia, Ikram, Malika, Fouteya, Jemila, Med Ali Lemrabott, Med Salem Sidina, Djigo, Inejih, Sileye** pour les relations amicales, fraternelles et professionnelles.

Merci tout particulier à **Makkaoui Meryem** pour ta gentillesse et pour tous les beaux moments que nous avons passé ensemble.

Grand merci à **ALAMI Mohammed** et **PAKHROU Ouafae** pour votre présence, votre gentillesse et pour toute l'aide que vous m'avez apporté.

Mille mercis à tous ceux qui ont accepté de participer à notre enquête ethnobotanique, tout particulièrement les tradipraticiens qui ont sacrifié de leur temps pour répondre à toutes nos questions malgré leurs nombreuses occupations.

Mes remerciements vont également à toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Finalement, je voudrais remercier chaleureusement tous les membres de ma famille en commençant par ma chère Mère, mes frères et sœurs pour leur soutien et leurs encouragements.

Grand merci à ma famille au Maroc **Nadi** et **Hamdi** pour l'aide et le soutien que vous m'avez accordé tout au long de cette période.

Résumé

*L'objectif de ce travail a été d'estimer et de comparer la diversité génétique intra et inter-population de *Balanites aegyptiaca* dans les régions sahélo-sahariennes en Mauritanie et aussi d'analyser et comparer la composition physicochimique des fruits.*

Une enquête ethnobotanique, réalisée auprès de 70 personnes à Nouakchott, a montré que toutes les parties de la plante sont utilisées par la population mauritanienne à des fins alimentaires, médicinales et fourragères. Les fruits et les feuilles restent les parties les plus utilisées.

*L'analyse physico-chimique a révélé que la pulpe de fruit de *B. aegyptiaca* est une bonne source de sucres (33 g/100 g MS), de composés bioactifs (polyphénols, flavonoïdes, tannins), avec une activité antioxydante relativement importante. Les graines sont riches en lipides (46,2 g/100 g MS) et en protéines (29,5 g/ 100 g MS). D'autre part, 16 amorces ISSR, ont été utilisées pour évaluer la diversité génétique de *B. aegyptiaca*. A partir de ces amorces, 505 bandes polymorphes ont été générées avec une moyenne de 31,5 fragments par amorce. Les principaux paramètres (PIC, MI, et RP) ont montré que les marqueurs utilisés présentent une informativité moyenne. Le coefficient de différenciation génétique (GST) est de 0,2 ; il a été confirmé par l'Analyse de Variance Moléculaire (AMOVA). Cette dernière a révélé que 80% de variations génétiques sont intra-populations et 20% entre les populations. Cette répartition de la variabilité est justifiée par un flux de gènes élevé ($Nm = 1,91$). Le dendrogramme (UPGMA) basé sur le coefficient de similarité de Jaccard, PCoA et l'analyse de la structure génétique ont divisé les sept populations en deux principaux groupes. Un des groupes contient seulement les deux populations de la zone saharienne (Chami et Tazyazet). Ces résultats constituent des données de base pour les programmes de conservation de cette ressource génétique négligée.*

Mots-clefs : *Balanites aegyptiaca* (L.) Del., physico-chimie, activité antioxydante, diversité génétique, conservation, Mauritanie

Abstract

*The objective of this work was to estimate and compare the intra and inter-population genetic diversity of *Balanites aegyptiaca* in the Sahelo-Saharan regions in Mauritania, and also to analyse and compare the physicochemical composition of the fruits.*

An ethnobotanical survey carried out among 70 people in Nouakchott showed that all parts of the plant are used by the Mauritanian population for food, medicinal and fodder purposes. Fruits and leaves remain the most used parts.

*The physico-chemical analysis revealed that the fruit pulp of *B. aegyptiaca* is a good source of sugars (33 g / 100 g DM), of bioactive compounds (polyphenols, flavonoids, tannins), with a relatively important antioxidant activity. The seeds are rich in lipids (46.2 g / 100 g DM) and proteins (29.5 g / 100 g DM). On the other hand, 16 ISSR primers were used to assess the genetic diversity of *B. aegyptiaca*. From these primers, 505 polymorphic bands were generated with an average of 31.5 fragments per primer. The main parameters (PIC, MI, and RP) showed that the markers used present medium informativity. The coefficient of genetic differentiation (GST) is 0.2; it was confirmed by the Analysis of Molecular Variance (AMOVA). The latter revealed that 80% of genetic variations are intra-populations and 20% between populations. This distribution of variability is justified by a high gene flow ($N_m = 1.91$). The dendrogram (UPGMA) based on Jaccard's coefficient of similarity, PCoA and genetic structure analysis divided the seven populations into two main groups. One of the groups contains only the two populations of the Saharan zone (Chami and Tazyazet). These results provide basic data for conservation programs for this neglected genetic resource.*

Key Words: *Balanites aegyptiaca* (L.) Del., physico-chemistry, antioxidant activity, genetic diversity, conservation, Mauritania

LISTE DES ABREVIATIONS

ACP	Analyse en composantes principales
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFLP	Polymorphisme de Longueur de Fragments Amplifiés
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
AMOVA	Analyse de Variance Moléculaire
AOAC	Association of Official Analytical Chemists.
ARN	Acide ribonucléique
BET	Bromure d'éthidium
CM	Carrée moyen
CV	Coefficient de variation
DI	Degré de liberté
dNTP	Desoxynucleoside triphosphate
DO	Densité optique
DPPH	2,2-diphényl-1-pyrrylhydrazyle
EAG	Equivalent acide gallique
EAT	Equivalents d'acide tannique
EMR	Effective multiple ratio
Est. Var	Variation estimée
ET	Equivalents trolox
g	Gramme
GST	Coefficient de différenciation génétique
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
H ₃ BO ₃	Acide borique
I	Indice de Shannon
IQ	Indice de qualité
ISSR	Inter-simple sequence repeat
Kb	Kilobase
Kcal	kilocalorie
Km	Kilomètre
mg	Milligramme
MgCl ₂	Chlorure de magnésium
Min	Minute
MI	Indice de marqueur
ml	Millilitre
mm	Millimètre
mM	Millimolaire
MS	Matière sèche
Na	Nombre total d'allèles
NaNO ₂	Nitrite de sodium

NaOH	Hydroxyde de sodium
Na ₂ CO ₃	Carbonate de sodium
Ne	Nombre effectif d'allèles
ng	Nanogramme
nm	Nanomole
Nm	Gene flow
NPB	Nombre de bandes polymorphes
P%	Pourcentage de loci polymorphe
PA2	Tampon de lyse
PAW	Tampon de lavage
PCoA	Analyse en coordonnées principales
PCR	Polymerase chain reaction
pH	Potentiel hydrogène
PIC	Polymorphism information content
PL3	Tampon de précipitation
ppm	Partie par million
QE	Equivalent quercétine
RAPD	Polymorphisme de l'adn Amplifié au Hasard
RFLP	Polymorphisme de Longueur de Fragments de Restriction
RNase	Enzyme qui digère l'ARN
RP	Pouvoir de résolution
SC	Sommes des carrées
SNP	Single nucleotide polymorphism
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
SSR	Séquences Simples Répétées ou Microsatellites
TAE	Tris-Acétate-EDTA
Taq	De Thermusaquaticus (bactérie qui vit dans les sources chaudes)
TEAC	Equivalent trolox en capacité antioxydante
Tm	Melting temperature
TNB	Nombre total de bandes
UPGMA	Unweighted pair group method with arithmetic mean
UV	Ultraviolet
W	Watt
µl	Microlitre
µmol	Micromole
µM	Micromolaire
°C	Degré celsius
%	Pourcentage

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1 : Composition biochimique du fruit de <i>Balanites aegyptiaca</i></i>	<i>13</i>
<i>Tableau 2 : Principaux acides gras de l'huile de la graine (amande) de <i>B. aegyptiaca</i> (Ahmed et al., 2019).....</i>	<i>14</i>
<i>Tableau 3 : Usages ethno-médicinaux de <i>B. aegyptiaca</i> dans quelques pays de la sous-régions (D'après,Sagna et al., (2014))......</i>	<i>16</i>
<i>Tableau 4: Maladies traitées par le <i>B. aegyptiaca</i>.....</i>	<i>32</i>
<i>Tableau 5: Principaux modes d'administration des préparations de <i>B. aegyptiaca</i> pour soigner les maladies. ..</i>	<i>33</i>
<i>Tableau 6: Présentation des sites de l'étude.</i>	<i>40</i>
<i>Tableau 7: Critères morphologiques des fruits de <i>B. aegyptiaca</i> étudiés.....</i>	<i>41</i>
<i>Tableau 8: Critères physico-chimiques des fruits de <i>B. aegyptiaca</i> étudiés.....</i>	<i>41</i>
<i>Tableau 9: Liste des amorces ISSR utilisées.</i>	<i>48</i>
<i>Tableau 10: Analyse descriptive des paramètres morphologiques des fruits de 30 arbres de <i>B. aegyptiaca</i> collectés dans 5 sites en zones aride et hyper-aride en Mauritanie.</i>	<i>58</i>
<i>Tableau 11: Analyse descriptive des paramètres phytochimiques des fruits de 30 arbres de <i>B. aegyptiaca</i> collectés dans 5 sites en zones aride et hyper-aride en Mauritanie.</i>	<i>59</i>
<i>Tableau 12: Moyennes \pm écart-types des teneurs en composés bioactifs et de l'activité anti-oxydante des pulpes de fruits de <i>B. aegyptiaca</i> de 5 sites en Mauritanie.....</i>	<i>61</i>
<i>Tableau 13: Les amorces ISSR utilisées et leurs indices de performances respectifs.....</i>	<i>68</i>
<i>Tableau 14 : Diversité génétique des populations de <i>B. aegyptiaca</i> étudiées en Mauritanie.</i>	<i>69</i>
<i>Tableau 15 : Analyse moléculaire de variance des populations mauritaniennes de <i>B. aegyptiaca</i>.</i>	<i>69</i>

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Pied de <i>B. aegyptiaca</i> près de la ville d'Aleg (Wilaya du Brakna) au sud de la Mauritanie (zone sahélienne).	7
Figure 2 : Branches de <i>B. aegyptiaca</i> avec feuilles, épines (à gauche). Morphologie de la fleur (à droite).	7
Figure 3 : Fruits de <i>B. aegyptiaca</i> (A) stade immature, (B) stade mûr ; (C) pulpe (mésocarpe) au stade mûr de couleur marron foncé (Photos réalisées par l'auteur).	8
Figure 4 : Forme de l'Endocarpe (noyau) du fruit de <i>B. aegyptiaca</i> (A) ; coupe longitudinale (B) et transversale (C), montrant la graine (amande) riche en lipides (photo réalisée par l'auteur).	9
Figure 5 : Aire de distribution de <i>B. aegyptiaca</i> en Afrique (Hall, 1992).	11
Figure 6 : Abondance des populations naturelles de <i>B. aegyptiaca</i> en Mauritanie. (Cette représentation est basée sur nos propres observations).	12
Figure 7: Principe de la technique AFLP (Fetzner et Crandall., 1999).	19
Figure 8: Principe de la technique SSR (Pasqualone., 2013).	20
Figure 9: Principe de la technique ISSR-PCR (Zietkiewicz et al., 1994).	21
Figure 10 : Carte de la Mauritanie montrant les wilayas (en couleur) dont issues les personnes interviewées.	26
Figure 11 : Répartition des participants selon leur sexe.	26
Figure 12 : Répartition des participants selon le niveau d'étude.	27
Figure 13 : Saison de récolte des fruits de <i>B. aegyptiaca</i> selon les personnes interviewées.	27
Figure 14 : Gout du fruit de <i>B. aegyptiaca</i> selon les personnes enquêtées.	28
Figure 15 : Mode de consommation des fruits.	28
Figure 16 : Destination de la production des fruits.	29
Figure 17 : Fréquences (%) d'usages des différentes parties de <i>B. aegyptiaca</i> .	30
Figure 18 : Divers usages culinaires de <i>B. aegyptiaca</i> .	30
Figure 19: Partie la plus utilisée du fruit de <i>Balanites</i>	31
Figure 20: Préférence des participants selon le type de médecine.	31
Figure 21 : Pourcentages d'individus et dose quotidienne de fruits utilisée pour soigner les maladies.	33
Figure 22: Carte de la Mauritanie et son découpage administratif	38
Figure 23: Carte de la Mauritanie montrant la localisation des sites de l'étude	39
Figure 24: Analyse en composantes principales réalisée sur les paramètres physicochimiques du fruit de <i>B. aegyptiaca</i> : projection des arbres sur les axes 1-2 de la composante principale.	62
Figure 25 : Projection des arbres de <i>B. aegyptiaca</i> des 7 populations d'études sur le plan engendré par les axes 1-2 de l'analyse des coordonnées principales.	70
Figure 26 : Analyse de la structure bayésienne de sept populations de <i>B. aegyptiaca</i> obtenue par le logiciel structure.	71

LISTE DES ANNEXES

<i>Annexe 1: Article (1) Selouka et al. Phytochemicals, Antioxidant Activity and Ethnobotanical Uses of <i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Del. Fruits from the Arid Zone of Mauritania, Northwest Africa. <i>Plants</i> 2020. 9(3), 401 https://doi.org/10.3390/plants9030401</i>	84
<i>Annexe 2: Article (2) Selouka et al. Inter simple sequence repeat markers to assess genetic diversity of the desert date (<i>Balanites aegyptiaca</i> Del.) for Saheliane ecosystem restoration. <i>Sci Rep.</i> 2020, 10:14948 https://doi.org/10.1038/s41598-020-71835-9.</i>	100
<i>Annexe 3: Protocole détaillé d'extraction de l'ADN</i>	109
<i>Annexe 4: Questionnaire Ethnobotanique</i>	111
<i>Annexe 5 : Tableau 16</i>	115
<i>Annexe 6 : Tableau 17</i>	116
<i>Annexe 7 : Figure 27</i>	116
<i>Annexe 8 : Figure 28</i>	117

Table des matières

DEDICACE	i
AVANT PROPOS	ii
REMERCIEMENTS	iii
RÉSUMÉ	v
ABSTRACT	vi
LISTE DES ABREVIATIONS	vii
LISTE DES TABLEAUX	ix
LISTE DES FIGURES	x
LISTE DES ANNEXES	xi
Introduction	1
PREMIERE PARTIE:	6
I.1. Synthèse Bibliographique	6
I.1.1. Présentation de <i>Balanites aegyptiaca</i>	6
I.1.1.1. Taxonomie	6
I.1.1.2. Description botanique	7
a. Appareil végétatif	7
b. Fleurs	8
c. Fruit ou Tougga	8
I.1.1.3. Biologie de la reproduction de <i>B. aegyptiaca</i>	9
I.1.2. Aire de répartition et Ecologie de <i>B. aegyptiaca</i>	10
I.1.2.1. Aire de répartition de <i>B. aegyptiaca</i> dans le monde	10
I.1.2.2. Aire de répartition de <i>B. aegyptiaca</i> en Mauritanie	11
I.1.2.3. Ecologie de <i>B. aegyptiaca</i>	12
I.1.3. Composition biochimique du fruit de <i>B. aegyptiaca</i>	13
I.1.4. Différents usages de <i>B. aegyptiaca</i>	14
I.1.4.1. Usages alimentaires de <i>B. aegyptiaca</i>	15
I.1.4.2. Usages ethno-médicinaux de <i>B. aegyptiaca</i>	15
I.1.4.3. Autres usages de <i>B. aegyptiaca</i>	17
I.1.5. Utilisation des marqueurs moléculaires pour étudier la diversité génétique des plantes.....	17
I.1.5.1. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	18

I.1.5.2.	Microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeats)	19
I.1.5.3.	ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat)	20
I.1.6.	Critères d'évaluation de la diversité génétique chez <i>B. aegyptiaca</i>	21

I.2 Enquête préliminaire sur les usages ethnobotaniques du fruit de *B. aegyptiaca* en Mauritanie **24**

I.2.1.	Introduction	24
I.2.2.	Résultats	26
I.2.2.1.	Caractéristiques démographiques des participants	26
I.2.2.2.	Niveau d'études des participants	27
I.2.2.3.	Connaissances sur la saison de récolte du fruit	27
I.2.2.4.	Connaissance sur le goût du fruit	28
I.2.2.5.	Mode de consommation du fruit	28
I.2.2.6.	Destination de la production du fruit	29
I.2.2.7.	Parties les plus utilisées de <i>B. aegyptiaca</i>	29
I.2.2.8.	Usages culinaires de <i>B. aegyptiaca</i>	30
I.2.2.9.	Partie du fruit la plus utilisée dans l'alimentation humaine	30
I.2.2.10.	Préférences médicinales des personnes enquêtées	31
I.2.2.11.	Usages médicaux de <i>B. aegyptiaca</i>	31
I.2.2.12.	Doses en pulpes utilisées comme traitement des maladies	32
I.2.2.13.	Mode d'administration des préparations à base de <i>B. aegyptiaca</i>	33
I.2.3.	Discussion	33
I.2.4.	Commentaire	36
I.2.5.	Conclusion	37

DEUXIEME PARTIE: **38**

II. Matériels et Méthodes : Etude de la variabilité des populations naturelles de *B. aegyptiaca* **38**

II.1. Cadre de l'étude **38**

II.2. Sites et populations de l'étude **39**

II.3. Échantillonnage et mode de collecte **40**

II.3.1. Échantillonnage des feuilles 40

II.3.2. Échantillonnage des fruits 40

II.4. Caractères étudiés **41**

II.4.1. Caractères morphologiques 42

II.4.2. Caractères physicochimiques 42

II.4.3. Caractérisation moléculaire 48

II.5. Méthodes d'analyse des résultats	51
II.5.1. Analyse des résultats par Gelcompar II	51
II.5.2. Analyse par GenAlex v6,5	52
II.5.3. Analyse par POPGENE version 1,32	52
II.5.4. Analyse par le logiciel STRUCTURE	52
II.5.5. Analyse par SPSS	52
II.6. Paramètre d'estimation de la variabilité génétique	53
II.6.1. Paramètres de diversité intra-spécifique	53
II.6.2. Paramètres de diversité inter-spécifique	54
TROISIEME PARTIE:	57
Résultats et discussions	57
III.1 Etude phytochimique du Fruit de <i>B. aegyptiaca</i>	57
III.1.1 Introduction	57
III.1.2 Résultats	57
III.1.2.1 Analyse descriptive des propriétés physico-chimiques du fruit	57
III.1.2.2 Composés bioactifs et activité anti-oxydante de la pulpe du fruit de <i>B. aegyptiaca</i>	60
III.1.2.3 Analyse en composantes principales	61
III.1.3 Discussion	62
III.2 Etude de la diversité génétique de <i>B. aegyptiaca</i> en utilisant les marqueurs ISSR	66
III.2.1 Introduction	66
III.2.2 Résultats	67
III.2.2.1 Polymorphisme des marqueurs ISSR utilisés	67
III.2.2.2 Différenciation génétique et flux de gènes	69
III.2.2.3 Analyse des groupes	70
III.2.2.4 Analyse des coordonnées principales	70
III.2.2.5 Analyse de la structure génétique	70
III.2.3 Discussion	71
Conclusion générale, perspectives	74
Références bibliographiques	76

Introduction Générale

Introduction

Les arbres sylvopastoraux notamment ceux des régions arides et hyperarides constituent l'une des bases de l'alimentation de l'homme et de son bétail dans ces milieux extrêmes. Ils jouent par ailleurs un rôle écologique important par la protection contre la désertification qui caractérise ces régions. Les arbres fruitiers peuvent aussi constituer une source importante de substances naturelles, issues de leur métabolisme secondaire, très recherchées pour applications en industries agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. La valorisation de ces plantes et de leurs substances contribuerait ainsi à l'amélioration des revenus des populations dans les zones rurales, d'où leur appréciable impact socio-économique.

Balanites aegyptiaca Del. ou dattier du désert est une dicotylédone pérenne très répandue dans les régions arides d'Afrique, d'Asie du sud et du Moyen-Orient (Hall et Walker., 1991). Sa distribution en Afrique s'étend de la Mauritanie à l'Ouest jusqu'en Somalie à l'Est et de l'Égypte au Nord jusqu'au Zimbabwe au Sud (Hall., 1992). Sa grande tolérance à la sécheresse lui permet de supporter les stressantes conditions édapho-climatiques de ces régions. Grâce à son système racinaire puissant, le dattier du désert peut vivre jusqu'à deux ans sans pluies (Gardette et Baba., 2013).

Le dattier du désert est un arbre à multiples usages, son bois est résistant aux insectes, il est un excellent bois de feu et de charbon (Chevallier *et al.*, 2003). Les fruits de cette espèce sont comestibles, utilisés dans l'alimentation humaine et animal, ainsi qu'en médecine traditionnelle. Ils sont utilisés pour traiter des maladies comme le diabète, l'hypertension et l'asthme (Jain et DeFilipps., 1991; Kamel *et al.*, 1991; Chothani et Vaghasiya., 2011; Gour et Kant., 2012; Gardette et Baba., 2013). Ses graines (amandes) sont utilisées comme matière première pour l'extraction de l'huile qui peut être utilisée dans l'alimentation humaine, en cosmétique (protection ou régénération de la peau) et dans la préparation de savon (Abasse *et al.*, 2011; Gardette et Baba., 2013). Le dattier du désert est également une source importante de saponines, précurseur essentiel dans la synthèse de nombreux produits pharmaceutiques, comme les pilules contraceptives, les stéroïdes et les anabolisants ainsi que d'autres hormones sexuelles (Ndoye *et al.*, 2004b; Gardette et Baba., 2013).

En Mauritanie, le dattier du désert a diverses appellations selon les ethnies. Ainsi, il est dénommé '*Teichot*' en Hassaniya, '*Mourtoki*' en Pular, '*Sekhéné*' en Soninké et '*Séréné*' en Wolof. Il est très abondant dans toute la zone sahélienne du sud et dans une partie de la zone saharienne hyperaride du nord. Toutefois, cette plante est de plus en plus menacée de disparition

à cause notamment d'une exploitation intensive et incontrôlée (production de charbon, surpâturage et autres), associée à un taux faible de régénération naturelle de l'espèce.

Malgré l'importance de *B. aegyptiaca* dans la vie quotidienne des populations locales, force est de constater que cette ressource génétique, aussi bien que ses produits naturels, demeurent, en Mauritanie et ailleurs dans son aire de répartition, inexplorés ou sous-exploités. Un programme de domestication de cette espèce a été initié en 2004 au Sénégal (Soloviev *et al.*, 2004). Une première étape a été d'explorer la variabilité naturelle existante.

En effet, l'étude de la variabilité des populations naturelles est d'une grande importance pour les programmes de gestion des ressources génétiques végétales, en ce sens qu'elle permet la sélection d'écotypes présentant un intérêt.

Plusieurs approches sont utilisées pour évaluer la diversité génétique tel que: les critères morphologiques, biochimiques ou moléculaires (Agarwal *et al.*, 2008). Chacune de ses approches a ses avantages et ses inconvénients.

Les marqueurs morphologiques ont l'avantage d'être immédiatement disponibles, et d'être la mesure la plus directe du phénotype. Cependant, ils sont sujets à des changements dus à des facteurs environnementaux ; ils peuvent varier selon les stades de développement de la plante et ils sont en nombre limité.

Les marqueurs biochimiques (isozymes, protéines de réserves des graines) sont mis en évidence par électrophorèse ; ils se caractérisent par la simplicité de mise en œuvre et leur caractère co-dominant (isozymes). Cependant, ils sont également soumis aux changements du milieu et varient avec la nature du tissu et le stade physiologique de la plante (Jaaska., 2005).

Les marqueurs moléculaires s'adressent directement à l'ADN. Ils sont ainsi considérés comme des outils objectifs de mesure de la variation et donc mieux adaptés à l'analyse de la diversité génétique que les marqueurs morphologiques et biochimiques. Ils ne sont pas soumis aux influences de l'environnement; l'ADN peut être extrait à partir de n'importe quel organe de la plante et à n'importe quel stade de développement et mieux encore, les marqueurs moléculaires existent en nombre illimité, couvrant le génome entier.(Kumar *et al.*, 2009).

▪ **Justification de l'étude**

Les données de la littérature montrent qu'un pied de dattier du désert produit entre 100 et 150 kg de fruits par an (Chapagain *et al.*, 2009; Elfeel et Warrag., 2011; Abdoun *et al.*, 2017).

De plus une étude, au Soudan, datant des années 1980, a montré qu'environ 400 000 tonnes de fruits pouvaient être produites annuellement par les peuplements naturels de *B. aegyptiaca* dans ce pays (Abu-Al-Futuh., 1983)

En effet, d'après Abu Al Futuh (1983), les produits et sous-produits de *B. aegyptiaca* offraient à cette époque au Soudan, un bénéfice net d'environ 25 millions de dollars par an et les ressources naturelles de dattier du désert du Soudan pouvaient assurer une couverture de l'ordre de 50% de la demande mondiale des industries pharmaceutiques en stéroïdes.

Cette importante production en fruits pourrait potentiellement être exploitée pour valoriser cette espèce négligée et créer ainsi une valeur ajoutée, notamment par la production de nombreux produits comme les huiles, sirops, tourteaux pour l'alimentation animale, les cosmétiques et en industrie pharmaceutique offrant ainsi une source supplémentaire aux produits intérieurs bruts des pays du Sahel et du Sahara y compris la Mauritanie.

Parmi les potentiels d'utilisation industrielle du dattier du désert on peut citer les stéroïdes, les alcaloïdes, les huiles, flavonoïdes, les polyphénols mais surtout les saponines (sapogénine et diosgénine), qui sont facilement extractibles notamment à partir de la pulpe du fruit avec un rendement de 98%. Les saponines du dattier du désert, communément connues sous le nom de Balanitines (on connaît chez le dattier du désert 7 types différents notés Balanitine 1 à Balanitine 7), sont des précurseurs pour la préparation pharmaceutique des cortisones, des pilules contraceptives, des anabolisants et autres hormones sexuelles (Abdel Hafeez., 1999). Ils possèdent par ailleurs, des propriétés cytotoxiques, antifongiques, antibactériennes, larvicides et anti-inflammatoires (Chapagain et Wiesman., 2007)

Les huiles de la graine du dattier du désert constituent une autre source de valorisation industrielle de cette espèce. En effet, la caractérisation des huiles de *B. aegyptiaca* a montré leur richesse en acides gras insaturés comme les acides oléique (C18:1 ; série w9), linoléique (C18:2 ; série w6) et linoléique (C18:3 ; série w3) ce qui leur confère une qualité comparable à celle des huiles d'arachide, de sésame ou de soja. De plus, les huiles extraites de la graine de *B. aegyptiaca* font actuellement l'objet d'une valorisation notamment en Mauritanie, même à une échelle encore limitée en cosmétique et en alimentation humaine (ces huiles de *B. aegyptiaca*, portant le label *Toogga* sont vendues dans le marché local).

Par ailleurs, le dattier du désert est largement prescrit dans la pharmacopée des populations dans son aire de répartition notamment dans le Sahel et le Sahara. L'usage de

différents organes de la plante pour le traitement du diabète, la constipation, certaines maladies infectieuses, ou l'hypertension, et certains cancers, à titre d'exemple, a été rapporté par plusieurs auteurs (Chevallier *et al.*, 2003; Al Ashaal *et al.*, 2010; Sagna *et al.*, 2014). La convergence des usages médicaux de la plante dans son aire de distribution prouve qu'elle possède des potentialités médicinales et pharmacologiques certaines.

L'intérêt de *B. aegyptiaca* est également écologique. En effet, cette espèce est parmi les rares espèces à résister à la grande sécheresse des années 1970 dans le Sahel. Elle est par ailleurs utilisée à grande échelle pour lutter contre l'ensablement et la désertification. A cet effet, le dattier du désert figure parmi la flore autochtone sélectionnée pour la restauration des écosystèmes sahéliens dans le contexte du projet de reforestation panafricaine de la Grande Muraille Verte (Niang *et al.*, 2014b; Sagna *et al.*, 2014).

Cependant, les ressources génétiques de *B. aegyptiaca* sont en danger d'extinction en raison de la destruction de l'habitat et de la surexploitation de l'espèce (Retallick et Sinclair., 1992). Cette situation est aggravée par le faible taux de régénération naturelle chez l'espèce et un taux de multiplication lent (floraison après cinq à sept ans) (Von Maydell., 1986).

Par conséquent, la protection et la conservation de cette espèce forestière sont nécessaires pour rehausser le niveau de vie des populations notamment en milieu rural et améliorer leur bien-être.

Le dattier du désert a fait l'objet de plusieurs études. Des données sont disponibles sur la composition physicochimique du fruit (Soloviev *et al.*, 2004; Ahmed *et al.*, 2019), sur sa valeur nutritionnelle (Moustapha *et al.*, 2014; Amadou et Le., 2017), les connaissances ethnobotaniques (Chothani et Vaghasiya., 2011; Sagna *et al.*, 2014) ainsi que sur la diversité génétique des populations naturelles (Domyati *et al.*, 2011; Ahmed *et al.*, 2019). Elles sont cependant fragmentaires et ne concernent pas la Mauritanie.

▪ **Structuration de la thèse**

Le présent travail est structuré en trois parties :

La première partie est consacrée à une synthèse des connaissances sur le *B. aegyptiaca* : position taxonomique, description botanique, reproduction biologique, différents usages et

différentes approches pour l'analyse de la diversité morphologique, biochimique et moléculaire chez les plantes. Elle présente aussi l'enquête ethnobotanique sur *B. aegyptiaca*.

La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées pour l'analyse de la variabilité morphologique, biochimique et moléculaire.

La troisième partie présente les résultats obtenus sous forme d'articles scientifiques, avec pour chaque article, une introduction, une présentation des résultats obtenus et une discussion et conclusion des résultats publiés.

PREMIERE PARTIE :
Synthèse Bibliographique et
Enquête Ethnobotanique

PREMIERE PARTIE:

I.1. Synthèse Bibliographique

I.1.1. Présentation de *Balanites aegyptiaca*

I.1.1.1. Taxonomie

Balanites aegyptiaca (L.) Delile ou dattier du désert appartient au règne *Plantae*, à la division *Magnoliophyta*, à la classe de *Magnoliopsida*, à l'ordre des *Sapindales*.

La question de l'appartenance du genre *Balanites* à la famille *Balanitaceae* ou à la famille *Zygophyllaceae* n'est toujours pas tranchée. En effet, certains auteurs le range, dans la famille *Zygophyllaceae* (Sheahan et Chase., 2000), d'autre le considèrent comme membre de la famille monogénérique *Balanitaceae* (Sands., 2001; Ram *et al.*, 2008., Chothani et Vaghasiya., 2011).

Balanites aegyptiaca est le nom scientifique de l'espèce, aussi plusieurs synonymes ont été utilisés comme : *Ximenia aegyptiaca* L, *Agialida senegalensis* van Tiegh., *Agialida barteri* van Tiegh., *Agialida tombuctensis* van Tiegh., *Balanites ziziphoides* Milbr. et Schlechter, *Balanites latifolia* (van Tiegh.) Chiov (Dial Ndiaye., 1997; Chothani et Vaghasiya., 2011). Le nom *Balanites* dérive du grec ; il a été donné pour la première fois par Alire Delile en 1813, et renvoie à la forme de son fruit qui ressemble au gland et *aegyptiaca* signifie que cette plante a été trouvée pour la première fois en Egypte (Gupta *et al.*, 2012; Salve., 2016).

Par ailleurs une étude cytologique faite par Goldblatt en 1979 a révélé que le nombre total de chromosome chez le *B. aegyptiaca* est $2n = 18$ (Goldblatt., 1979), contrairement à $2n = 16$ signalé par (Mangenot et Mangenot., 1957).

Il faut noter qu'il existe cinq variétés de *B. aegyptiaca* présentes en Afrique (Elfeel., 2004):

Balanites aegyptiaca var. *aegyptiaca*, la plus répandue en Afrique

Balanites aegyptiaca var. *tomentosa* présente en Tanzanie

Balanites aegyptiaca var. *quarrei* présente en Mozambique et en Zambie

Balanites aegyptiaca var. *pallida*, retrouvé en Somalie et en Ethiopie

Balanites aegyptiaca var. *ferox* présente dans l'extrême ouest de la bande soudano-sahélienne

I.1.1.2. Description botanique

a. Appareil végétatif

Balanites aegyptiaca est un arbre épineux dont la hauteur varie entre 5 et 6 m avec un tronc d'un diamètre de 50 cm de diamètre (Figure 1). La couronne est arrondie formée d'un enchevêtrement de rameaux armés de longues épines robustes, pouvant atteindre 12 cm de long (Figure 2). L'écorce est brun-grisâtre et profondément fissurée verticalement et écailleuse chez les vieux arbres.



Figure 1 : Pied de *B. aegyptiaca* près de la ville d'Aleg (Wilaya du Brakna) au sud de la Mauritanie (zone sahélienne).

Les feuilles alternes sont caduques, de coloration vert-grisâtre, avec deux folioles séparées, elliptiques à obovales, courtement pétiolées, mesurant 2,5 à 6 cm de long (Matig *et al.*, 2006; Chothani et Vaghasiya., 2011).



Figure 2 : Branches de *B. aegyptiaca* avec feuilles, épines (à gauche). Morphologie de la fleur (à droite).

b. Fleurs

Les fleurs sont rassemblées en inflorescences de type grappe glomérules ou fascicules à l'aisselle des feuilles. Elles sont petites, parfumées, discrètes, hermaphrodites, actinomorphe et peu pédonculées (1,2 cm). Le calice et la corolle sont dialysépales avec 5 pièces vertes. Les sépales sont pubescents, tandis que les pétales sont glabres (Figure 2).

L'androcée est diplostémone et composé de 10 étamines disposées sur 2 cycles alternatifs de 5. Le pistil de *B. aegyptiaca* est glabre et présente à maturité 5 papilles capables de retenir de nombreux grains de pollen. Au-dessus du réceptacle floral, il y'a un disque intrastaminal nectarifère vert qui secrète un nectar abondant. L'ovaire est divisé en 5 carpelles, chacun d'entre eux contient un ovule anatrophe présentant une placentation axiale (Ndoye *et al.*, 2004b; Matig *et al.*, 2006; Chothani et Vaghasiya., 2011).

c. Fruit ou Tougga

Le fruit de *B. aegyptiaca* est dénommé Tougga en Hassania, Mortodé en Pular, Sexéné en Soninké et Sump en Wolof. C'est une drupe éllipsoïde, d'environ 2,5 à 5 cm de long et de 1,5 à 4 cm de diamètre (Figure 3).

Le fruit immature est vert et tomenteux, il devient jaune et glabre à maturité (Figure 3 ; Figure 4). La pulpe est douce-amère et comestible, son goût sucré révèle la présence de glucides, essentiellement sous formes de glucose, de galactose et de rhamnose (Hardman et Sofowora., 1971; Bravo., 1998; Hollman et Katan., 1998; Beka *et al.*, 2011; Chothani et Vaghasiya., 2011). Le fruit est pulpeux avec un épicarpe mince et dur, un mésocarpe (la pulpe) brun foncé et un endocarpe dur renfermant une graine oléagineuse (Hardman et Sofowora., 1971).

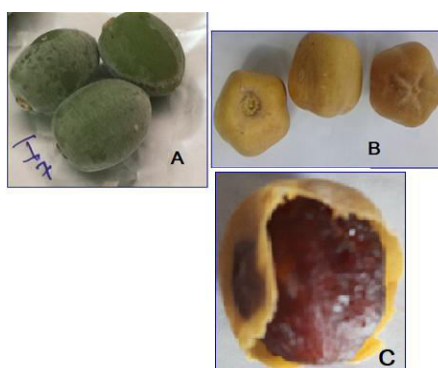


Figure 3 : Fruits de *B. aegyptiaca* (A) stade immature, (B) stade mûr ; (C) pulpe (mésocarpe) au stade mûr de couleur marron foncé (Photos réalisée par l'auteur).

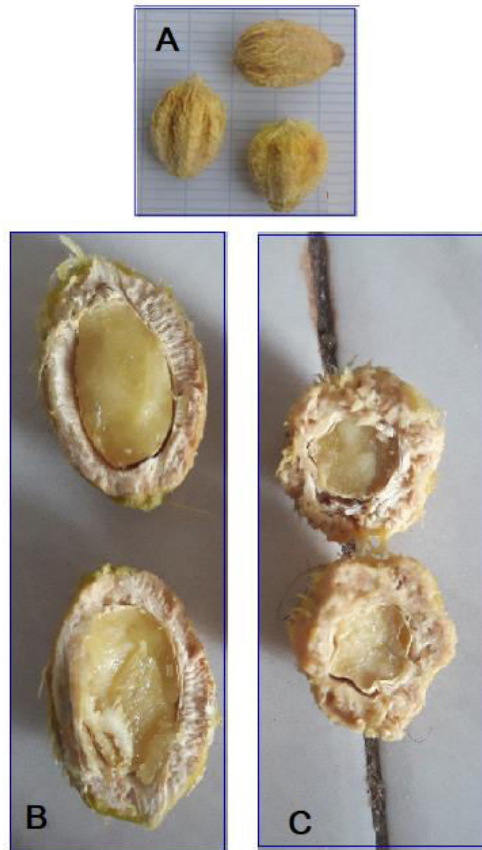


Figure 4 : Forme de l'Endocarpe (noyau) du fruit de *B. aegyptiaca* (A) ; coupe longitudinale (B) et transversale (C), montrant la graine (amande) riche en lipides (photo réalisée par l'auteur).

I.1.1.3. Biologie de la reproduction de *B. aegyptiaca*

Plusieurs aspects sont liés à la biologie de la reproduction chez *B. aegyptiaca*, tel que la feuillaison, la floraison, la pollinisation, et la fructification.

La feuillaison du dattier du désert commence en mai-juin et se termine entre Septembre-Octobre. La défeuillaison commence en mi-décembre jusqu'en avril. Cependant le dattier du désert ne perd jamais complètement ses feuilles, il préserve toujours une partie de son feuillage (Ndoye., 2004a).

Le dattier du désert fleurit deux fois par an, l'une en hiver (de décembre à mars) et ne représente que 25% des pieds, l'autre en été (entre mars et septembre) et représente 90% des individus avec un pic florissant en juillet. La floraison est normalement suivie par une fructification mais certains arbres en raison de leurs propres conditions ne réussissent pas à produire des fruits (Ndoye *et al.*, 2004a). Les fleurs polonisées en mai-août produisent des fruits murs en décembre-janvier (Ndoye *et al.*, 2004a).

La pollinisation est assurée par les insectes et par le vent. Cependant la pollinisation anémophile est dominante (Ndoye., 2004a). Le système reproducteur dominant chez *B. aegyptiaca* est l'autofécondation malgré l'existence de fécondation croisée. La reproduction chez le dattier du désert se fait par deux formes: reproduction sexuée par semis des graines et reproduction asexuée par voie végétative (drageonnage) (Chevallier *et al.*, 2003). Ce dernier mode de reproduction végétative permet à certaines espèces, arborescentes ou non, de se propager, par la formation de tiges adventives « le drageon » à partir du système racinaire (Quentin *et al.*, 2006) à la différence de « rejet » qui se développe sur une structure anatomique de tige.

I.1.2. Aire de répartition et Ecologie de *B. aegyptiaca*

I.1.2.1. Aire de répartition de *B. aegyptiaca* dans le monde

Le *B. aegyptiaca* a une vaste distribution géographique en régions arides et semi-arides d'Afrique et du Moyen-Orient (Sagna *et al.*, 2014). En Asie, on le trouve en Birmanie, en Inde, et au Pakistan et tout le long du golfe arabe. En Afrique, il est l'une des plantes ligneuses les plus répandues dans la bande sahélienne. Ainsi, il s'étend de la Mauritanie et le Sénégal à l'ouest jusqu'à la Somalie à l'est et de l'Égypte au Nord du continent jusqu'au Zimbabwe au sud (Hall., 1992) (Figure 5).

Le dattier du désert se caractérise par une grande plasticité écologique. Il est très peu exigeant quant au sol. Dans son aire de répartition, on le rencontre sur différents types de sols (sableux, argileux, limono-argileux, pierreux, alluviaux), et sur des dunes formées par le vent (Sagna *et al.*, 2014).

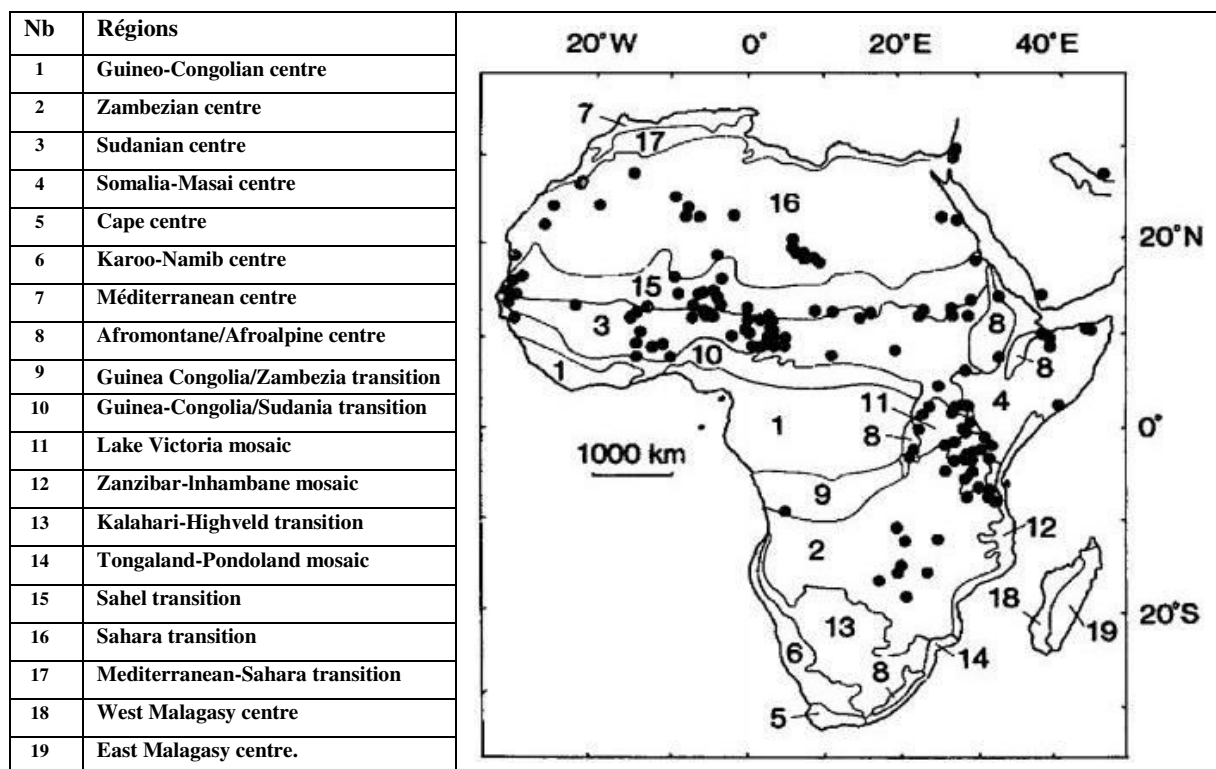


Figure 5 : Aire de distribution de *B. aegyptiaca* en Afrique (Hall, 1992).

I.1.2.2. Aire de répartition de *B. aegyptiaca* en Mauritanie

Etant un pays saharo-sahélien, la Mauritanie constitue une zone éco-climatiquement favorable à la multiplication du dattier du désert. C'est ainsi que le *B. aegyptiaca* est omniprésent dans toute la zone sahélienne au sud et Saharienne au nord du pays et sous toutes les latitudes (Abdallahi., 1996). Il fait partie avec *Acacia senegal*, *Acacia radiana* et *Prosopis juliflora*, des espèces ligneuses utilisées pour la fixation des dunes continentales (Berte *et al.*, 2010).

Malgré qu'il soit un des arbres les plus courants en Mauritanie, les données quantitatives concernant sa population sont inexistantes. Cependant, nos observations de terrains permettent de suggérer que *B. aegyptiaca* est très abondant dans les régions du Brakna, du Gorgol, du Guidimagha et dans la partie du Trarza située sur la vallée du fleuve Sénégal (Figure 6), à abondant dans le Trarza et dans les deux Hodhs, à rare dans la zone saharienne hyper-arides (pluviométrie annuelle inférieure à 50 mm) au nord du pays.

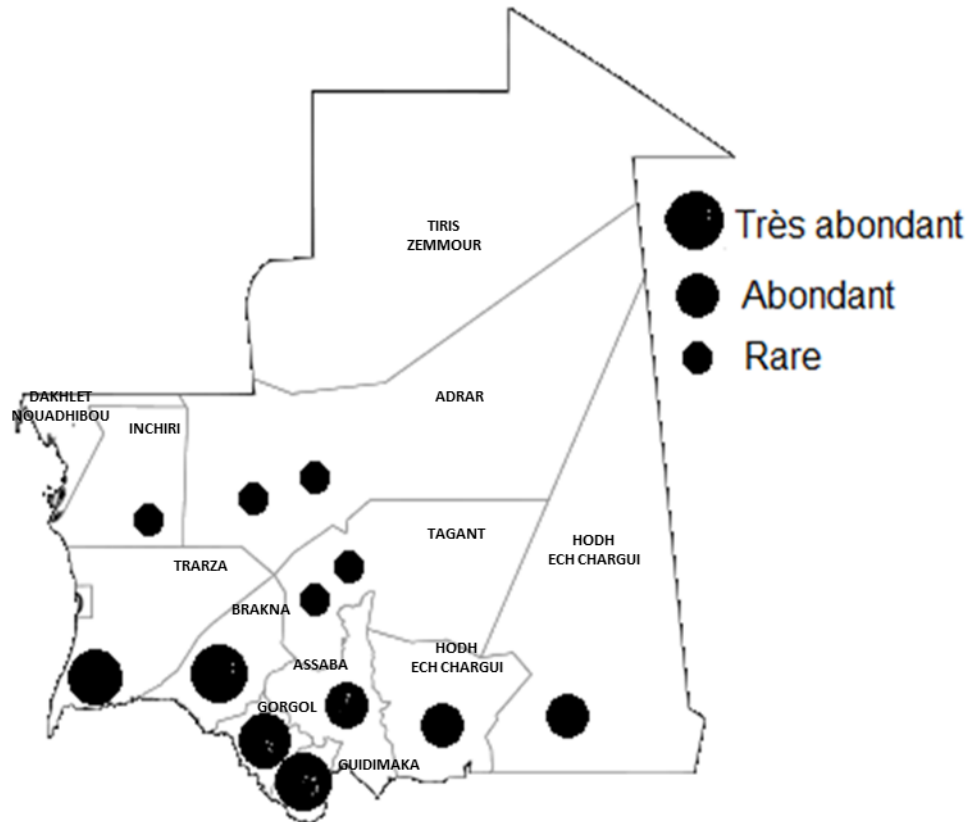


Figure 6 : Abondance des populations naturelles de *B. aegyptiaca* en Mauritanie. (Cette représentation est basée sur nos propres observations).

I.1.2.3. Ecologie de *B. aegyptiaca*

Le *B. aegyptiaca* est un arbre très répandu dans les régions arides et semi-arides d'Afrique. Il a une grande résistance à la sécheresse, il peut se développer sous des pluviométries annuelles inférieures à 100 mm avec un optimum de croissance entre 250 et 400 mm, et pousser à des altitudes allant jusqu'à 1000 m présentant ainsi une grande plasticité écologique.

Pour s'adapter aux conditions climatiques des régions arides et semi-arides, le *B. aegyptiaca* a développé une excellente stratégie grâce à son système racinaire triple qui contient un pivot central, un système racinaire horizontal et des racines aériennes. Il est capable de capturer toute l'humidité présente dans son voisinage, c'est pour cela qu'il est capable de vivre deux ans sans pluies (Von Maydell., 1983; Abdallahi., 1996; Gardette et Baba., 2013).

Le dattier du désert est très peu exigeant quant au sol, il se développe sur les sols sableux, pierreux, argileux et alluviaux, on peut le rencontrer sous toutes les latitudes en Mauritanie (Abdallahi., 1996).

I.1.3. Composition biochimique du fruit de *B. aegyptiaca*

Un pied de dattier du désert peut produire entre 100 et 150 kg de fruits par an. Le fruit du dattier du désert est riche en sucres totaux dont la teneur se situe selon les auteurs dans l'intervalle 35-42% du poids sec de la pulpe (Tableau 1). Les sucres réducteurs représentent entre 81 et 91% des sucres totaux dans la pulpe du fruit de *B. aegyptiaca* (Nour *et al.*, 1985).

Les valeurs minimales et maximales rapportées pour la teneur en protéines de la pulpe de *B. aegyptiaca* varient entre 1,2% au Soudan (Nour *et al.*, 1985) et 9,5% au Sénégal (Sagna *et al.*, 2014). La pulpe est faiblement pourvue en lipides (0,4%). Elle contient cependant une quantité non négligeable en saponines (7,2%) qui donnent à la pulpe un goût doux amer (sucres et saponines).

Tableau 1 : Composition biochimique du fruit de *Balanites aegyptiaca*.

Organe	Paramètre (unité)	Teneur	Source
Pulpe (mésocarpe)	Sucres totaux, g/100g MS (dont 81-91% sucres réducteurs)	35-42	(Nour <i>et al.</i> , 1985; Sagna <i>et al.</i> , 2014)
	Protéines, g/100 g MS	1,2-9,5	(Nour <i>et al.</i> , 1985; Sagna <i>et al.</i> , 2014)
	Acides aminés essentiels, mg/100 g MS	167,5	(Moustapha <i>et al.</i> , 2014)
	Acides aminés non essentiels, mg/100 g MS	346	(Moustapha <i>et al.</i> , 2014)
	Lipides, g/100 g MS	0,4	(Moustapha <i>et al.</i> , 2014)
	Saponines	7,2	(Al-Thobaiti <i>et al.</i> , 2018)
	Eau %	16	(Moustapha <i>et al.</i> , 2014)
	Acide ascorbique mg/100 g MS	6,8	(Moustapha <i>et al.</i> , 2014)
	Minéraux (microéléments) mg/100 g MS	506	(Moustapha <i>et al.</i> , 2014)
	Minéraux (macroéléments) mg/100 g MS	1,3	(Moustapha <i>et al.</i> , 2014)
	Cendres, g/100 g MS	9	(Moustapha <i>et al.</i> , 2014)
Graine (amande)	Protéines, % P/P	30-32	(Mohamed <i>et al.</i> , 2002)
	Huiles, % P/P	41-49	(Tayeau <i>et al.</i> , 1955; Nour <i>et al.</i> , 1985; Mohamed <i>et al.</i> , 2002)
	Polyphénols totaux, mg GA/100 g	84	(Ahmed <i>et al.</i> , 2019)
	Eau, %	3,6	(Tayeau <i>et al.</i> , 1955)
	Saponines % P/P	6,7	(Al-Thobaiti <i>et al.</i> , 2018)
	Sucres totaux, % P/P	8,7	(Ahmed <i>et al.</i> , 2019)
	Fibres, % P/P	7,9	(Ahmed <i>et al.</i> , 2019)

(*) Les saponines du dattier du désert sont communément appelés « Balanitines »

L'apport calorique issu de la teneur de la pulpe en protéines, sucres et lipides a été estimé selon les auteurs entre 212,25 kcal/100 g de pulpe chez les fruits du Sénégal (Sagna *et al.*, 2014) et 300 kcal/100 g de pulpe chez les fruits du Soudan (Nour *et al.*, 1985).

La composition chimique de la graine (amande) est qualitativement comparable à celle de la pulpe. Cependant, les teneurs rapportées pour les lipides et les huiles sont nettement supérieures à celles de la pulpe. En effet, la graine renferme entre 41 et 49% de lipides et 30 à 32% de protéines (Tayeau *et al.*, 1955; Hardman et Sofowora., 1971; Nour *et al.*, 1985; Mohamed *et al.*, 2002).

Une propriété intéressante des huiles de l'amande de *B. aegyptiaca* est leur composition en acides gras saturé et insaturés (oméga-3, oméga-6 et oméga-9). Le tableau 2 donne la composition en acides gras de l'huile de la graine de *B. aegyptiaca* (Ahmed *et al.*, 2019).

Tableau 2 : Principaux acides gras de l'huile de la graine (amande) de *B. aegyptiaca* (Ahmed *et al.*, 2019).

Acide gras	Nom usuel et symbole	Teneur (%)
Saturé	Acide palmitique (C16 :0)	13,7
	Acide stéarique (C18 :0)	13,3
Insaturé	Acide oléique (C18 :1)	30
	Acide linoléique (C18 :2)	44,4
	Acide linoléique (C18 :3)	0,3

I.1.4. Différents usages de *B. aegyptiaca*

Le *B. aegyptiaca* est un arbre apprécié par ses vertus alimentaire, thérapeutique, et fourragère. Toutes les parties de la plante sont utilisées par les populations dans son aire de répartition; mais les parties les plus utilisées sont respectivement: les fruits, le bois, les feuilles et l'écorce (Sagna *et al.*, 2014).

I.1.4.1. Usages alimentaires de *B. aegyptiaca*

Le *B. aegyptiaca* est l'une des espèces ligneuses les plus intimement liées à la vie quotidienne des populations locales. Son fruit est utilisé comme aliment par l'homme et ses bétails.

La pulpe (partie charnue du fruit) est riche en sucres (Tableau 1). Son goût est sucré, avec une pointe d'amertume, ce qui lui vaut d'être sucée une fois débarrassée de son épicarpe ou utilisée pour la préparation des jus. Les jeunes feuilles sont utilisées comme légume. Les huiles extraites de la graine (amande), sont riches en acides gras insaturés utilisées dans l'alimentation humaine (Mohamed *et al.*, 2002; Berge *et al.*, 2005; Matig *et al.*, 2006; Sagna *et al.*, 2014; Abdoulaye *et al.*, 2017).

Le fruit de *Balanites* contient une graine oléagineuse qui représente 50 à 60% du poids total du fruit (Chothani et Vaghasiya., 2011). Cette graine est une source importante d'huile qui peut être utilisée dans l'alimentation humaine, dans les produits cosmétiques pour protéger ou régénérer la peau, dans des produits pharmaceutiques (les saponines, notamment la diosgénine précurseur pour la synthèse des cortisones et des contraceptifs oraux) et aussi dans la préparation du savon. Ces différentes vertus sont dues à la forte teneur en acides gras (dont acide oléique et linoléique) et aussi à la grande variété d'antioxydants dans l'huile de *B. aegyptiaca* (Abasse *et al.*, 2011; Gardette et Baba., 2013).

Le *B. aegyptiaca* est un arbre apprécié par les animaux en raison de la quantité et de la qualité du fourrage qu'il fournit pendant une longue période de l'année. Les parties les plus appréciées de la plante sont respectivement les feuilles, les fruits, et les jeunes plantes. Les fruits sont consommés par les petits ruminants lorsqu'ils tombent sur la terre (Sagna *et al.*, 2014).

Par ailleurs, les noyaux moulus donnent une sorte de tourteaux huileux très nutritifs qui est utilisé comme fourrage pour les bétails.

I.1.4.2. Usages ethno-médicinaux de *B. aegyptiaca*

Le dattier du désert connaît différents usages en médecine traditionnelle. Le tableau 3 présente quelques usages ethno-médicinaux de différents organes de l'arbre rapportés par (Sagna *et al.*, 2014) pour quelques pays de la sous-région.

Tableau 3 : Usages ethno-médicinaux de *B. aegyptiaca* dans quelques pays de la sous-régions (D'après, Sagna *et al.*, (2014)).

Organe utilisé	Maladie traitée	Mode de préparation	Pays
Fruit (pulpe)	Ulcère gastrique	Pulpes pressées	Sénégal, Niger
	hypertension		Sénégal
	Amygdalite		B. Faso, Algérie
	Diabètes		Egypte, Soudan
	Les douleurs		Mali
	Constipation		Sénégal, B. Faso, Algérie
Fruit (noyau)	Vers intestinaux	Poudre desséchée	B. Faso
	Infections des yeux	Application de l'huile à l'endroit infecté	B. Faso, Algérie
	Sinusite	Cuisson	B. Faso, Algérie
	Rhumatisme		B. Faso, Algérie
	Constipation		B. Faso
Tronc (écorce)	Maladies du foie	Fumigation	Tchad
	Le rhume		Sénégal, B. Faso
	Hémorroïdes	Macération de l'écorce	Sénégal
	Syphilis		Tchad, B. Faso
	Fatigue		Sénégal
	Brulures et blessures	Incinération de l'écorce	Sénégal, Somalie
Feuilles	variole	Décoction	Mali
	Saignement du nez		B. Faso, Algérie
Racines	Jaunisse	Macération	Soudan, Egypte
	Asthme		Somalie
	Coliques		B. Faso, Algérie
	Epilepsie	Préparation non spécifié	Somalie
Jeunes plants	Douleurs abdominales	Macération	Sénégal
	Anthrax		
Epines	Maladies mentales	Préparation non spécifié	B. Faso, Algérie, B. Faso
Brindilles (petites branches)	Caries dentaires	Cure-dent	Sénégal, Algérie, Niger

les fruits sont connus pour leur effet antidiabétique et aussi pour leurs propriétés régulatrices de la pression artérielle (Gad *et al.*, 2006; Gardette and Baba., 2013). Le dattier du désert joue un rôle important dans le traitement de plusieurs affections comme les maladies

infectieuses (variole, anthrax et fièvre jaune), les affections du tube digestif (troubles gastriques, constipation, diarrhée, dysenterie, ulcère, douleurs abdominales et hémorroïdes), les affections des voies respiratoires (asthme et rhume), la syphilis, les maux de poitrine et la Coqueluche (Sagna *et al.*, 2014; Abdoulaye *et al.*, 2017). Les racines de *Balanites* sont utilisées comme anthelminthique. Les extraits des racines de *B. aegyptiaca* ont un effet contre le paludisme (Chothani et Vaghasiya., 2011).

L'écorce est utilisée comme un détergent, poison de pêche et aussi pour traiter le paludisme et la syphilis. Les écorces, les racines, les fruits, les graines, les branches ont un effet mortel pour les mollusques. Huile de la graine de *B. aegyptiaca* est utilisée pour traiter les tumeurs et les plaies (Chothani et Vaghasiya., 2011). Chothani *et al.*, 2011 ont rapporté que l'écorce, le fruit, l'amande et les feuilles de *B. aegyptiaca* ont une large gamme de biomolécules actives: antioxydantes, antimicrobiennes, anticancéreuses, diurétiques, cicatrisantes, antivirales, antidiabétiques, anti-inflammatoires et analgésiques, ce qui peut justifier leurs utilisations en médecine traditionnelle (Chothani et Vaghasiya., 2011).

Il faut signaler que nombre de ces activités thérapeutiques sont majoritairement attribuées aux saponines présentes chez les différents organes de *B. aegyptiaca* notamment la pulpe et la graine.

I.1.4.3. Autres usages de *B. aegyptiaca*

Le *B. aegyptiaca* a un excellent bois, résistant aux insectes, il est très recherché pour le bois de service (construction des cases et des abris, des enclos et des clôtures). Il est utilisé aussi pour fabriquer des mortiers, des tablettes coraniques (Loh en arabe). Il est également un excellent bois de feu et de charbon (Chevallier *et al.*, 2003; Sagna *et al.*, 2014; Abdoulaye *et al.*, 2017).

I.1.5. Utilisation des marqueurs moléculaires pour étudier la diversité génétique des plantes

Par rapport à leurs homologues phénotypiques et biochimiques, les marqueurs moléculaires ne sont pas influencés par les fluctuations de l'environnement et sont indépendants de l'organe analysé et du stade de développement de la plante (Bretting et Widrlechner., 1995; Rand., 1996; De Vienne., 1998). Actuellement, ils deviennent un outil efficace d'amélioration des plantes et ouvrent de nouvelles perspectives pour les sélectionneurs.

Les marqueurs moléculaires répondent bien aux critères d'un bon marqueur, qui doit être polymorphe, co-dominant, non épistatique, et neutre vis-à-vis du milieu. Ils offrent l'opportunité de détecter à l'échelle du nucléotide le polymorphisme de séquence de l'ADN. Ils sont des outils efficaces et précis permettant la mise en évidence du polymorphisme moléculaire entre genres, espèces, populations et entre individus de la même population.

Il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires, mais dans ce chapitre, nous présenterons trois marqueurs parmi les marqueurs moléculaires les plus utilisés dans les études de la diversité génétique.

I.1.5.1. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

La technique AFLP a été développée par Vos *et al.*, (1995). Cette technique utilise à la fois les enzymes de restriction et l'amplification PCR. Elle repose sur trois phases successives : une digestion-ligation, une amplification pré-sélective et une amplification sélective (Figure 7). L'ADN est d'abord coupé par deux enzymes de restriction, généralement EcoRI qui coupe l'ADN au niveau d'un site de restriction à 6 bases (coupeur rare) et MseI qui coupe l'ADN au niveau d'un site de restriction à 4 bases (coupeur fréquent). Des adaptateurs de séquences connues et compatibles avec les extrémités cohésives des sites de restriction sont ajoutés aux extrémités des fragments d'ADN par une réaction de ligation. Une première amplification, dite pré-sélective, est réalisée à l'aide d'amorces de séquences complémentaires à la séquence des adaptateurs et du site de restriction additionné en 3' d'une à trois bases définies arbitrairement. Puis, une deuxième amplification dite sélective, est réalisée en utilisant des amorces identiques aux premières additionnées de 1 à 3 bases supplémentaires à leur extrémité 3'. Les produits de l'amplification sont séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide ou bien par électrophorèse capillaire. Cette technique est hautement reproductible et applicable à toutes les espèces (Vos *et al.*, 1995; Karp et Edwards., 1997).

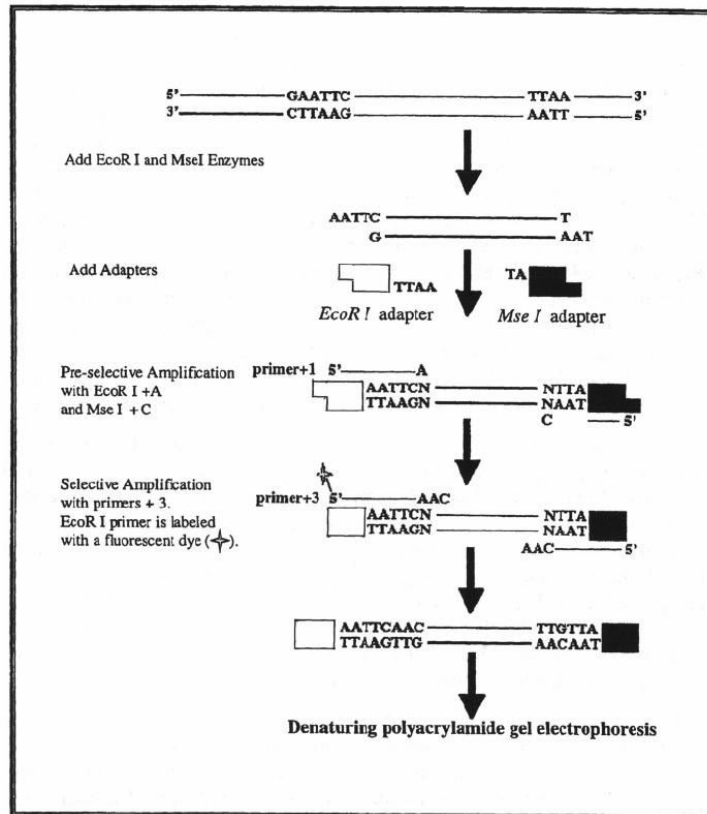


Figure 7: Principe de la technique AFLP (Fetzner et Crandall., 1999).

I.1.5.2. Microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeats)

Les microsatellites, appelés aussi séquences simples répétées (SSR). Il s'agit de séquences d'ADN répétées en tandem de motifs mono, di, tri ou tétra-nucléotidiques, détectés par amplification par PCR de l'ADN génomique (Morgante et Olivieri., 1993). Ces séquences sont disséminées de manière abondante et aléatoire dans l'ensemble du génome (Figure 8).

La variation du nombre d'unités de répétition, estimée de 5 à 50 copies chez les plantes constitue la base du polymorphisme (Cardle *et al.*, 2000). Ce polymorphisme est révélé sur gel de polyacrylamide où les séquences répétées migrent en fonction de leur poids. Ces marqueurs sont reproductibles, multi-alléliques, co-dominants et hautement polymorphes (Benettayeb., 2018).

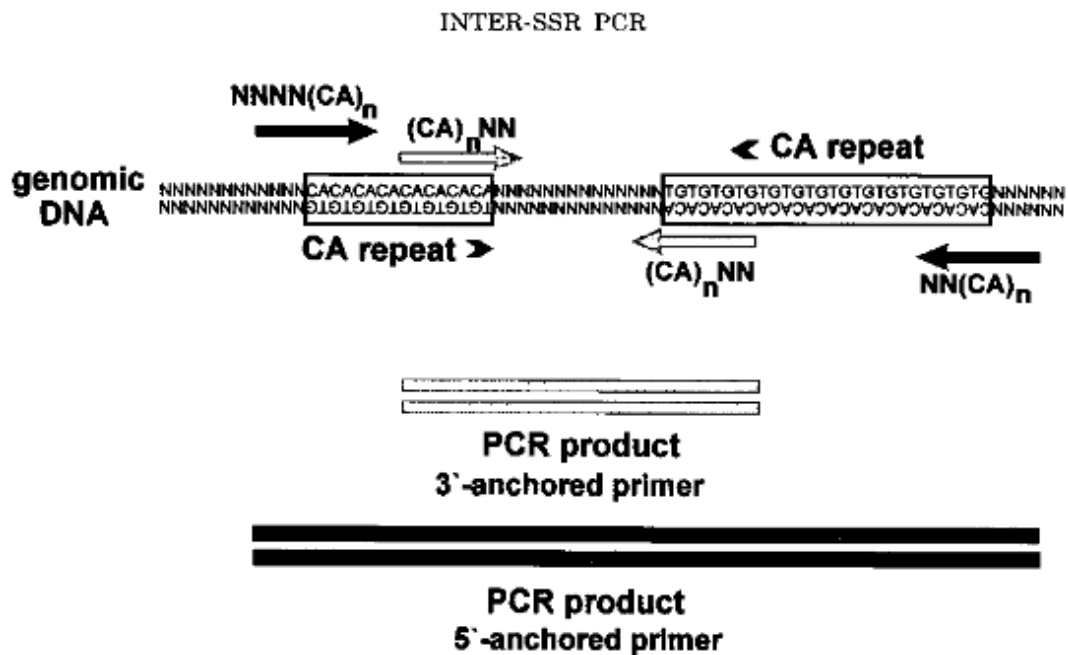


Figure 9: Principe de la technique ISSR-PCR (Zietkiewicz *et al.*, 1994).

En général, les *loci* microsatellites se trouvent en grand nombre répartis régulièrement tout au long du génome d'eucaryote en fournissant un pool riche en potentiels marqueurs ISSR convenables pour révéler la diversité génétique étroitement liée aux accessions (Wiesner et Wiesnerová., 2003). La technique ISSR est rapide, très facile à optimiser, et moins coûteuse en comparaison aux autres marqueurs AFLP, SSR et RFLP. Elle est très reproductible et susceptible de détecter un plus grand polymorphisme génomique que les marqueurs RAPD et RFLP (Oh *et al.*, 2000; Zietkiewicz *et al.*, 1994). Les marqueurs ISSR sont largement utilisés pour l'évaluation du polymorphisme intra et interspécifique chez les plantes (Godwin *et al.*, 1997).

I.1.6. Critères d'évaluation de la diversité génétique chez *B. aegyptiaca*

Trois critères ont été utilisés pour évaluer la diversité génétique des peuplements naturels de *B. aegyptiaca*, à savoir : les critères morphologique, physico-chimique, et moléculaire.

Les caractéristiques morphologiques, biochimiques et les propriétés nutritionnelles du fruit ont fait l'objet de plusieurs études d'évaluation de la diversité génétique chez *B. aegyptiaca* dans quelques pays africains, notamment au Sénégal, au Niger, au Tchad et au Soudan, en comparant des caractères quantitatifs et qualitatifs comme la forme et le poids du fruit, le goût

de la pulpe et la taille des feuilles (Soloviev *et al.*, 2004; Abasse *et al.*, 2011; Abdoulaye *et al.*, 2016).

Ainsi au Sénégal, Soloviev *et al.*, 2004 ont montré moyennant des critères biométriques (longueur du fruit, diamètre du fruit, épaisseur du fruit, poids du fruit et de la pulpe) et biochimique du fruit de *B. aegyptiaca*, une variabilité intra-accession, exploitable pour la diffusion auprès des populations locales de variétés performantes répondant à leurs besoins.

Au Niger, Abasse *et al.*, 2011 ont évalué la variation phénotypique de la morphologie des fruits et des graines dans quatre populations naturelles de l'est du Niger (25 arbres par population, 30 fruits par arbre). Les variables mesurées étaient le poids du fruit, l'enveloppe du noyau (endocarpe), la graine ; longueur et largeur du fruit et de la graine. Ces auteurs ont noté une importante diversité phénotypique intra et inter-régionale des variables mesurées. les régions les plus sèches de la zone d'étude avaient tendance à avoir des fruits et des grains plus pesant, des graines plus longues/plus étroites et une variabilité intra-arbre plus faible pour ce qui est de la largeur des fruits et des graines. La longueur et la largeur étaient fortement corrélées entre les fruits et les graines, le poids des fruits était modérément corrélé avec les dimensions des graines.

Au Tchad, (Abdoulaye *et al.*, 2016), ont réalisé une enquête socio-économique et un inventaire botanique auprès de 4 groupes ethniques répartis dans 3 villages dans le Sahel Tchadien. Les analyses botaniques ont porté sur 16 descripteurs morphologiques quantitatifs. Cette étude a pu mettre en évidence chez les populations locales d'une bonne connaissance de l'espèce et d'un système de classification empirique utilisant des critères communs ou variables selon le groupe ethnique. Les critères communs aux 4 groupes ethniques étaient la taille de l'arbre, les dimensions et la forme du fruit, le goût de la pulpe et la taille des feuilles. La morphologie du fruit a été de loin le caractère le plus discriminant. Trois morphotypes ont été identifiés chez l'espèce dont le plus intéressant regroupe des arbres de grande taille, aux feuilles larges et produisant de longs fruits. Selon les auteurs, ces informations ouvrent de meilleures perspectives pour la sélection variétale et la domestication de cette espèce dans la zone.

Au Soudan, les variations de la morphologie des fruits (longueur, diamètre, poids total des fruits, pourcentages de poids des parties anatomiques) et de la composition biochimique des graines ont été étudiées par Ahmed *et al.*, (2019) chez une population naturelle composée de 8 catégories d'arbres distinctes par la forme (rapport longueur/diamètre) et le poids des fruits, dans le but principal de mettre en évidence le potentiel du noyau de *B. aegyptiaca* pour la

production d'huile comestible. Une variabilité significative d'arbre à arbre au niveau de la morphologie des fruits et la composition chimique des grains ont été enregistrées. Les plus petits fruits se caractérisent par la plus forte contribution des grains au poids total du fruit, tandis que les plus gros fruits présentaient les graines les plus petites. Le plus haut rapport acide oléique/acide linoléique des huiles extraites du noyau a été trouvé dans les fruits caractérisés par le plus faible pourcentage de pulpe ; le rendement maximum d'huile a été associé aux niveaux les plus élevés d'antioxydants polyphénoliques et d'activité de piégeage des radicaux libres. Les résultats expérimentaux fournis par cette étude suggèrent la possibilité de sélectionner des arbres avec de gros fruits et un rapport pulpe/graines élevé, pouvant être consommés directement comme aliment par les humains, et des arbres avec des fruits plus petits et des rapports pulpe/graines plus faible pour la production d'huile.

Si les critères morphologiques et biochimiques ont plus ou moins été étudiés chez *B. aegyptiaca*, il n'en est pas de même pour les critères moléculaires. Malgré l'importance des marqueurs morphologiques et biochimiques dans l'évaluation de la diversité génétique, les techniques moléculaires sont devenues les indicateurs de variabilité génétique les plus utilisées depuis une vingtaine d'années.

Récemment, une étude a été réalisée pour évaluer la diversité génétique entre différentes populations de *B. aegyptiaca*, provenant de différents pays (Egypte, Soudan, Arabie saoudite, Togo, Ethiopie, Ghana, Yémen) en utilisant les marqueurs AFLPs (amplified fragments length polymorphism) (Khamis *et al.*, 2017).

Aussi Domyati *et al.* 2011, ont fait une étude sur la diversité génétique de *B. aegyptiaca* en utilisant les marqueurs ISSR (inter simple sequence repeated), RAPD (randomly amplified polymorphic DNA), et AFLP. Ils ont montré que les ISSRs sont capables de détecter la diversité génétique chez le *Balanites* plus que les autres marqueurs.

Dans une autre étude, (Khamis *et al.*, 2017), ont exploré la relation entre la distribution géographique et la diversité génétique chez des *Balanites* collectés dans différentes régions géographiques (Egypte, Togo, Ethiopie, Ghana, Arabie Saoudite, Yemen et Soudan) moyennant les marqueurs AFLP. L'AFLP a produit 510 bandes dont 477 (93,5 %) étaient polymorphes. Les analyses des groupes et en composantes principales (ACP) ont indiqué que les échantillons individuels de *B. aegyptiaca* étaient répartis en 3 principaux groupes et que la provenance El-Kharga d'Egypte représentait un seul clade. Plusieurs réponses morpho-physiologiques clés du stress hydrique ont été examinées pour évaluer la tolérance à la

sécheresse et pour comparer en serre, les réponses au stress entre différentes provenances. Le stress engendré par la sécheresse extrême a diminué les paramètres liés à la biomasse chez tous les génotypes. Cependant, les provenances de *B. aegyptiaca* diffèrent également dans leurs réponses adaptatives au déficit hydrique.

I.2 Enquête préliminaire sur les usages ethnobotaniques du fruit de *B. aegyptiaca* en Mauritanie

I.2.1. Introduction

Depuis des siècles, la société mauritanienne est passionnée par les plantes médicinales en raison de leurs vertus multiples. En Mauritanie, il existe environ 1400 espèces dont 80 sont traditionnellement reconnues comme des plantes d'intérêt médicinale (Mohamed Vall., 2009). Ces plantes sont utilisées pour soulager les douleurs, traiter des maladies et panser les blessures. Le savoir et le savoir-faire lié à l'utilisation de ces plantes sont transmis d'une génération à une autre au sein de quelques familles de tradi-praticiens connues par leurs compétences en médecine traditionnelle en Mauritanie. La pratique de la médecine traditionnelle comme profession au sein de ses familles, est ancestrale et s'hérite de père en fils (Mohamed Vall., 2009).

Pour des raisons socio-culturelles (croyances et vertus accumulées au fil du temps) et économiques (coût faible des soins par rapport à la médecine conventionnelle, proximité du citoyen), le recours à la médecine traditionnelle est largement répandu chez les mauritaniens.

Le *B. aegyptiaca* est l'une des plantes médicinales les plus répandus en Mauritanie. En plus de son rôle médicinal, le dattier du désert rentre dans l'alimentation humaine et animale.

Pour savoir l'importance de *B. aegyptiaca* dans la vie de la population Mauritanienne, une enquête ethnobotanique a été réalisée entre juin-juillet 2014 à Nouakchott, la capitale de la Mauritanie auprès de 70 personnes dont 7 tradi-praticiens (considérant que les personnes qui connaissent la plante). Les usages ethnobotaniques du dattier du désert ont été évalués à l'aide d'un questionnaire structuré comportant des questions à choix multiples fermées traduites dans la langue maternelle des participants (Hassaniya, Pular, Soninke et Wolof). L'enquête a été menée en face à face afin de maximiser le nombre de réponses.

Avant d'obtenir le consentement verbal, les objectifs de l'enquête ont été expliqués à chaque répondant potentiel. Les questions portaient sur le nom local du fruit, la période de récolte, les utilisations culinaires et médicinales, le mode de préparation/administration et la

fréquence d'utilisation. Le questionnaire comprenait également des données socio-démographiques sur chaque informateur (âge, sexe, ethnicité et éducation). Les entretiens ont été réalisés à domicile, dans la rue ou dans différents marchés locaux de Nouakchott. Sept guérisseurs traditionnels ayant une connaissance pratique des plantes médicinales ont également été inclus dans l'enquête.

Le but de cette enquête est de recueillir le maximum d'information sur les connaissances et usages de *B. aegyptiaca* en Mauritanie contribuant à une meilleure valorisation des savoirs et savoir-faire pour préserver ce patrimoine génétique.

Les informations obtenues de l'enquête ethnobotanique ont été analysées et exprimées en pourcentages. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS (version 22.0) ou de MS Excel (2007). Le niveau de signification a été accepté à $P < 0,05$. L'exploitation des résultats de l'enquête a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS version 22.0.

I.2.2. Résultats

I.2.2.1. Caractéristiques démographiques des participants

Les personnes interviewées sont originaires des régions de Trarza, Tagant, Nouakchott, Gorgol, Brakna, Assaba, et Adrar (Figure 10).

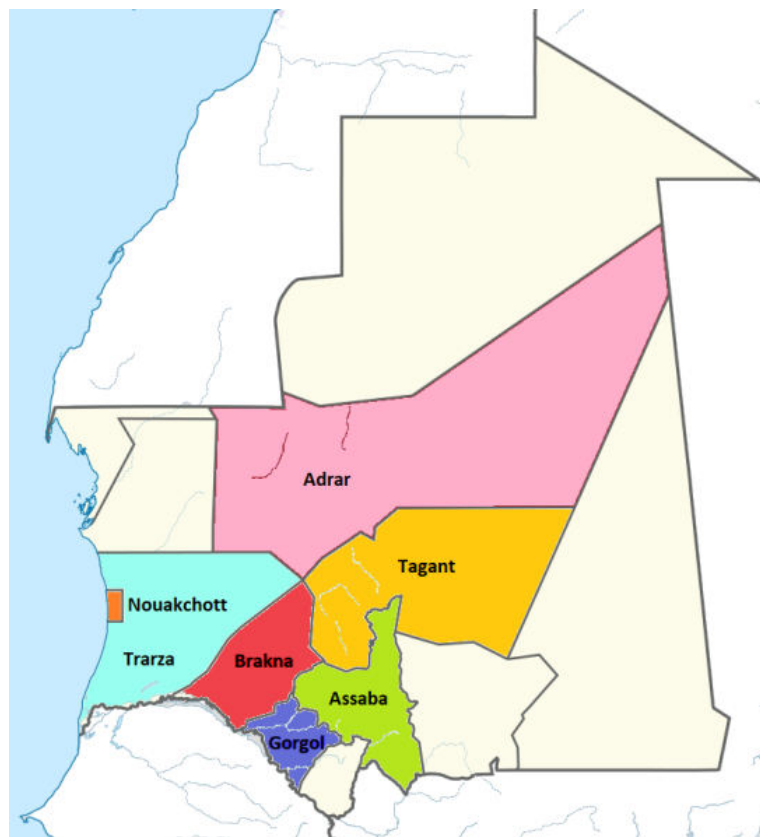


Figure 10 : Carte de la Mauritanie montrant les wilayas (en couleur) dont issues les personnes interviewées.

Les hommes représentent 61,43% (43/70) des individus recrutés contre 38,57% (27/70) de femmes (Figure 11). La différence entre les effectifs des hommes ($n = 43$) et les femmes ($n = 27$) interviewées n'est pas statistiquement significative ($p = 0,064$).

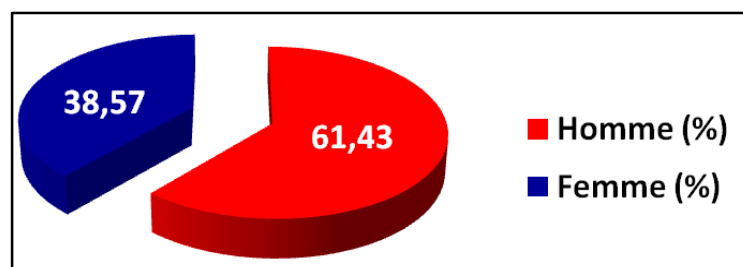


Figure 11 : Répartition des participants selon leur sexe.

L'âge des participants varie de 30 à 70 ans avec une moyenne d'âge de 50 ans.

Les personnes de la tranche d'âge [30-40] représentent 28,6%, celles de la tranche d'âge [41-50] représentent 30% (21/70) et celles de la tranche d'âge [> 50] ans représentent 41,4% (30/70).

I.2.2.2. Niveau d'études des participants

Des 70 personnes interviewées, 20% (14/70) sont analphabètes, 18,57% (13/70) ont un niveau primaire, 22,86% (16/70) ont un niveau secondaire (collège et lycée) et 38,57% (27/70) ont un niveau universitaire (Figure 12).

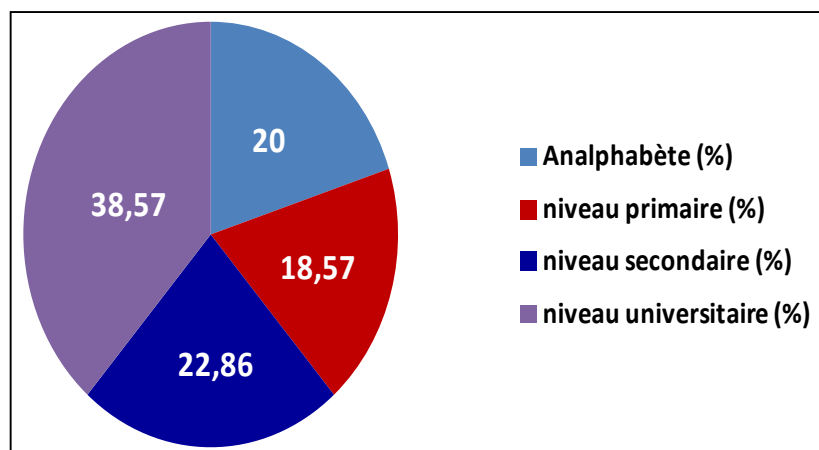


Figure 12 : Répartition des participants selon le niveau d'étude.

I.2.2.3. Connaissances sur la saison de récolte du fruit

La saison de récolte des fruits de *B. aegyptiaca* est en printemps (Mars-Mai) d'après 61,4% (43/70) des participants, en hiver (Décembre-Février) pour 20% (14/70) d'entre eux, en été (Juin-Août) selon 17,1% (12/70), et en automne (Septembre-Novembre) d'après 1,4% (1/70) d'entre eux (Figure 13).

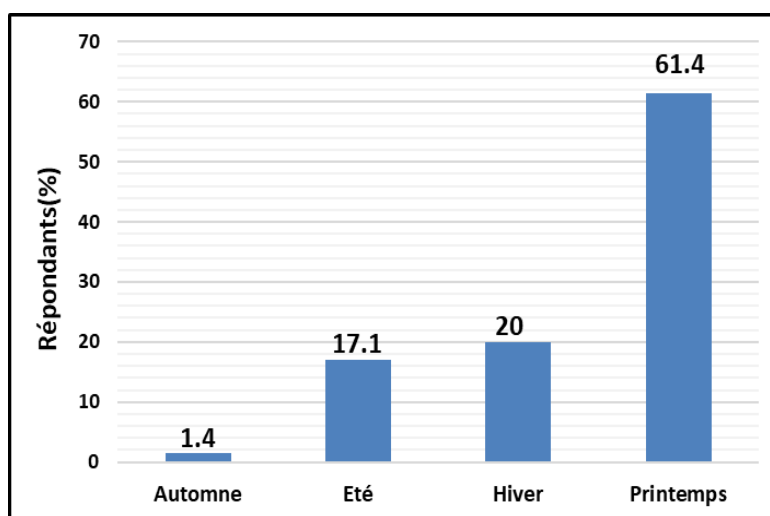


Figure 13 : Saison de récolte des fruits de *B. aegyptiaca* selon les personnes interviewées.

Par ailleurs, tous les participants (100%) rapportent que la récolte du fruit est effectuée uniquement au stade mûr et que ce dernier a une couleur brune-jaunâtre.

I.2.2.4. Connaissance sur le goût du fruit

D'après 88,57% (62/70) des personnes enquêtées, le goût de la pulpe du fruit de *B. aegyptiaca* est doux-amer (Figure 14). Cependant, il est sucré chez 10% (7/70) des interviewés et amer chez 1,43% (1/70).

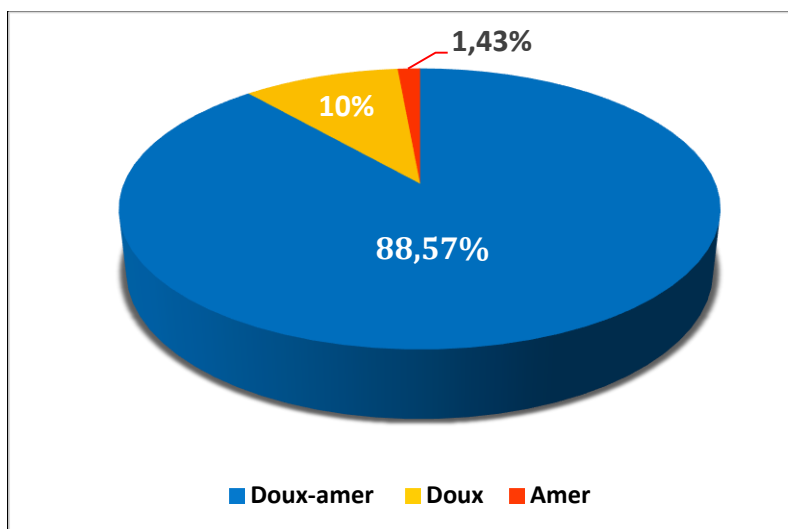


Figure 14 : Gout du fruit de *B. aegyptiaca* selon les personnes enquêtées.

I.2.2.5. Mode de consommation du fruit

Des 70 personnes enquêtées, 40 (57,14%) consomment les fruits crus et 30 (42,86%) des enquêtés les consomment à la fois crus et cuits (Figure 15).

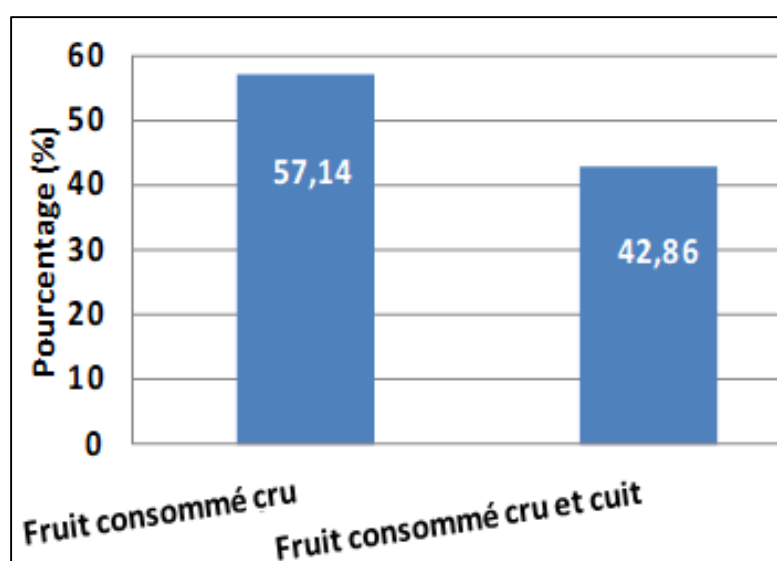


Figure 15 : Mode de consommation des fruits.

I.2.2.6. Destination de la production du fruit

Sur les 70 individus interviewés, 51 (72,86%) rapportent que la destination principale de la production des fruits est l'autoconsommation, 6 (8,57%) d'entre eux considèrent que la production des fruits est destinée au marché local, et 13 (18,57%) rapportent que la production des fruits est répartie entre l'autoconsommation et le marché local (Figure 16).

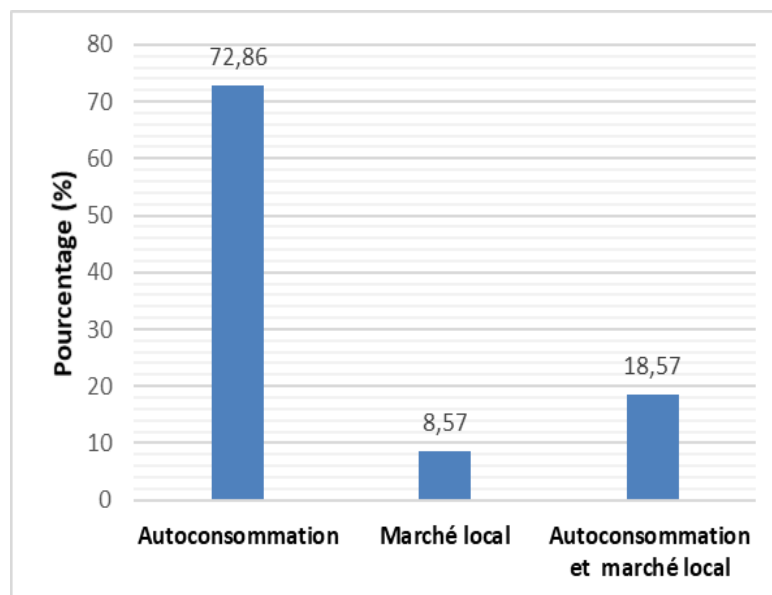


Figure 16 : Destination de la production des fruits.

I.2.2.7. Parties les plus utilisées de *B. aegyptiaca*

Toutes les parties de la plante sont utilisées par les personnes interviewées mais la pulpe reste la partie la plus utilisée (la pulpe du fruit est en effet, utilisée par la quasi-totalité des personnes enquêtées) (Figure 17). De plus, 38,57% des enquêtés n'utilisent que les pulpes du fruit de *B. aegyptiaca* pour des fins alimentaires et médicinales, 18,57% utilisent les tiges, la pulpe et les feuilles, 12,86% sont intéressés par la pulpe, les graines et les feuilles, 10% utilisent le plus souvent la pulpe et les graines, 7,14% préfèrent la pulpe, les tiges et les racines, 5,71% utilisent la pulpe, l'écorce, les feuilles et les racines, 4,29% utilisent les tiges, la pulpe et l'écorce.

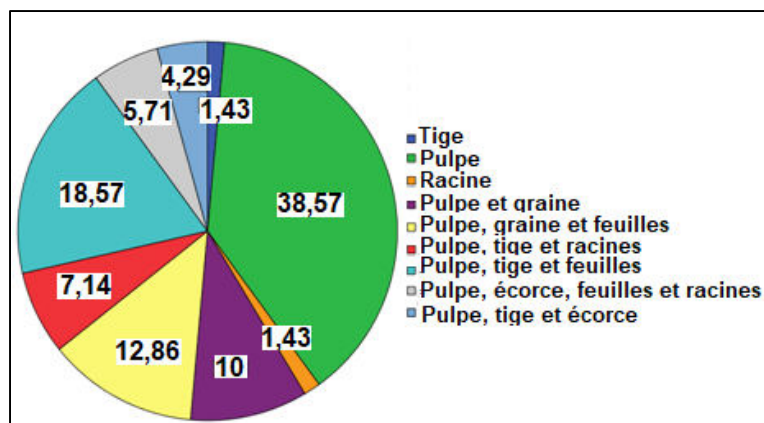


Figure 17 : Fréquences (%) d'usages des différentes parties de *B. aegyptiaca*.

I.2.2.8. Usages culinaires de *B. aegyptiaca*

Des 70 personnes interrogées, 52 (74,29%) ont rapporté l'utilisation de *B. aegyptiaca* dans la cuisine traditionnelle, 6 (8,57%) dans la pâtisserie traditionnelle, 2 (2,86%) indiquant l'usage de *B. aegyptiaca* pour la préparation des jus et diverses boissons et 10 (14,29%) des personnes enquêtées ont rapporté des usages aussi bien dans la cuisine traditionnelle que dans la pâtisserie traditionnelle (Figure 18).

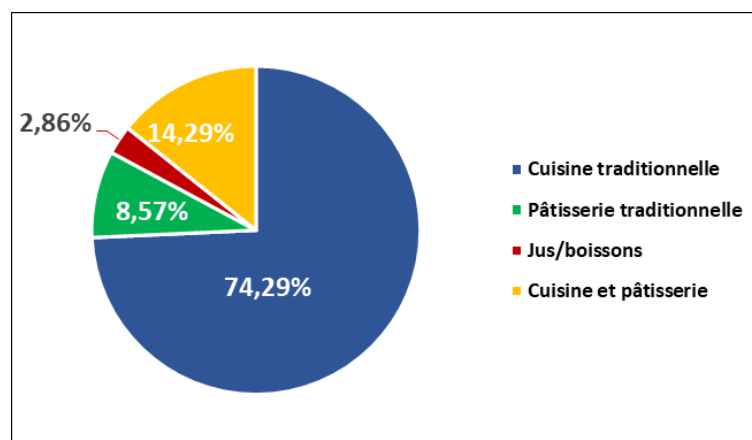


Figure 18 : Divers usages culinaires de *B. aegyptiaca*.

I.2.2.9. Partie du fruit la plus utilisée dans l'alimentation humaine

Cette enquête a montré que la pulpe et l'amande du fruit sont les parties les plus utilisées chez 41 (58,57%) des 70 personnes interviewées (Figure 19). Par ailleurs, 27,14% de cette population utilisent le plus souvent la pulpe débarrassée de son épicarpe, 10% utilisent l'épicarpe et la pulpe ensemble, et 4,29% des enquêtés n'utilisent que l'amande.

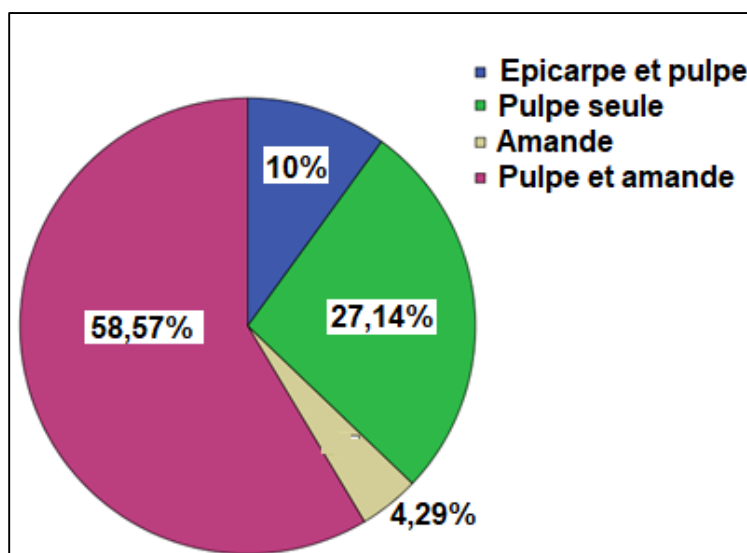


Figure 19 : Partie la plus utilisée du fruit de *Balanites*.

I.2.2.10. Préférences médicinales des personnes enquêtées

Des 70 participants dans cette étude, 52 (74,29%) préfèrent utiliser la médecine traditionnelle comme premier recours lorsqu'ils ont des problèmes de santé, tandis que 18 (25,71%) préfèrent la médecine conventionnelle (Figure 20).

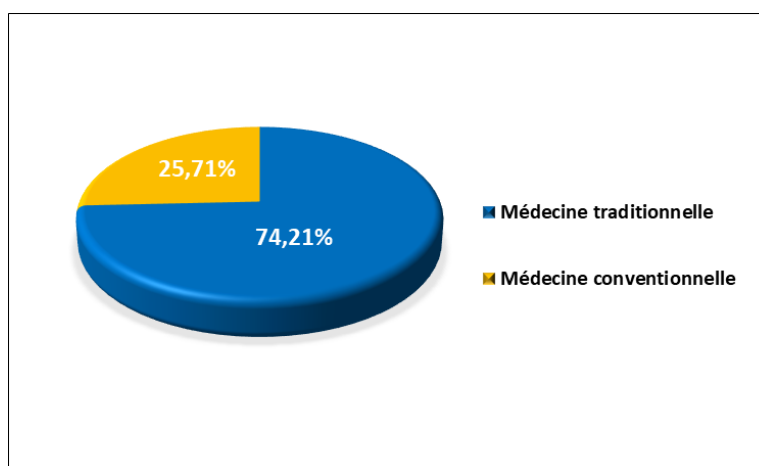


Figure 20 : Préférence des participants selon le type de médecine.

I.2.2.11. Usages médicinaux de *B. aegyptiaca*

A partir de cette enquête, il ressort que la pulpe de *B. aegyptiaca* est employée dans le traitement du diabète, l'hypertension, la constipation et le toussotement par respectivement 97,1%, 72,8%, 40 et 35,7% des personnes enquêtées (Tableau 4). De plus, l'huile de la graine (amande) est utilisée chez respectivement 57,1%, 35,7%, et 25,7% des personnes interviewées

pour soigner le panaris, les maladies dermiques et l'asthme, et la diarrhée. Les feuilles sont très utilisées (54,3%) pour soigner les douleurs abdominales.

Tableau 4: Maladies traitées par le *B. aegyptiaca*.

Maladies traitées	Partie de la plante utilisée	Pourcentage (%)*
Diabète	Pulpe	97,1
Hypertension	Pulpe	72,8
Panaris	Graine	57,1
Douleur abdominale	Feuilles	54,3
Constipation	Pulpe	40
Toussotement	Pulpe	35,7
Maladies dermiques	Graine (huile)	35,7
Asthme	Graine (huile)	25,7
Diarrhée	Feuilles et écorces	14,3
Paludisme	Racines	4,3
Maladies cardiovasculaires	Pulpe	1,4

(*) Les pourcentages totalisant plus de 100% proviennent des réponses multiples.

I.2.2.12. Doses en pulpes utilisées comme traitement des maladies

Pour les maladies dont le traitement implique la pulpe de *B. aegyptiaca*, 53,45% des individus enquêtés prennent 3 fruits/jour, tandis que 46,55% d'entre eux utilisent entre 4 à 7 fruits par jour et ce quel que soit la maladie (Figure 21). Certaines personnes enquêtées ont rapporté que la dose prise dépend de l'âge de la personne, son état de santé, et la saison (froide ou chaude).

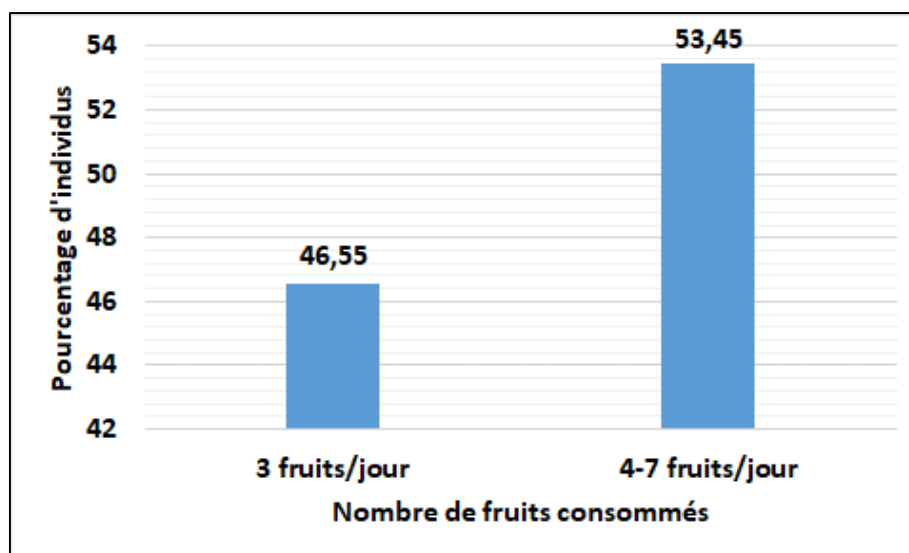


Figure 21 : Pourcentages d'individus et dose quotidienne de fruits utilisée pour soigner les maladies.

I.2.2.13. Mode d'administration des préparations à base de *B. aegyptiaca*

La macération représente le mode principal de préparation des recettes par les personnes interrogées (58,8%) (Tableau 5). D'autre part, 28,5% utilisent la décoction, 25,7% emploient la succion, et 12,8% utilisent l'huile sous forme de pommade.

Tableau 5: Principaux modes d'administration des préparations de *B. aegyptiaca* pour soigner les maladies.

Mode d'administration	Nombre d'individus	Pourcentage*
Macération	41	58,8
Succion (pulpe)	18	25,7
Décoction	20	28,5
Pommade (huile de la graine)	9	12,8
Autres modes (trituration, infusion, ...)	2	3

(*) Les pourcentages totalisant plus de 100% proviennent des réponses multiples.

I.2.3. Discussion

L'enquête ethnobotanique sur le dattier du désert chez 70 individus ayant librement consenti à y participer a permis, en dépit de leur faible nombre, de mettre en évidence des connaissances et usages de *B. aegyptiaca* forts intéressants parmi les personnes interviewées.

Ces connaissances sont d'autant plus vraisemblables que la moyenne d'âge des personnes interviewées était de 50 ans ce qui est généralement compatible avec les études ethnobotaniques qui ont montré qu'en général, l'intérêt et donc les connaissances sur les plantes médicinales augmentent avec l'âge (Weckmüller *et al.*, 2019).

Pour ce qui concerne les connaissances sur le dattier du désert, notre étude montre une bonne connaissance notamment pour ce qui concerne le nom vernaculaire de l'arbre (100% des

participants) et le goût de la pulpe du fruit jugé doux-amer par 88,57% des personnes interviewées. Le goût doux-amer de la pulpe du fruit de *B. aegyptiaca* a été rapporté par (Chothani et Vaghasiya., 2011).

Cependant, les connaissances sur la période de récolte du fruit au stade mûr chez nos informateurs étaient partagées avec seulement 20% d'entre eux donnant la période entre décembre et février comme la bonne période. Une situation similaire a été rapportée par (Ndoye *et al.*, 2004a; Sagna *et al.*, 2014) au Sénégal qui ont montré que la saison optimale de récolte des fruits de *B. aegyptiaca* est en hiver (entre Décembre et Janvier à Février). Toutefois, nos résultats sont à prendre avec précaution, car même si 20% ont donné la bonne période pour la collecte des fruits mûrs, il n'est pas tout à fait exclu que pour au moins une partie des 60% ayant rapporté la période de Mars à Mai comme période de récolte, la réponse pourrait être aussi vraie étant donné que le processus de fructification chez *B. aegyptiaca* s'étale généralement sur plusieurs mois. De plus, certains auteurs ont même rapportés deux fructifications par an chez *B. aegyptiaca* (Ndoye *et al.*, 2004a). Quoiqu'il en soit, une meilleure connaissance de la biologie de la reproduction chez cette espèce permettrait de mieux lever cette ambiguïté.

D'autre part, notre étude a montré chez les personnes interviewées un faible apport économique du fruit du dattier du désert puisque la majorité d'entre eux (49%) ont rapporté un usage du fruit limité à l'autoconsommation et seulement 6% pour le marché local.

Néanmoins, notre étude a montré que le fruit (100%) est de loin devant les feuilles (35%), l'organe le plus utilisé chez *B. aegyptiaca* notamment en alimentation et en médecine traditionnelle. Ces usages concernent essentiellement la pulpe (le mésocarpe) et la graine (l'amande). L'usage du fruit de *B. aegyptiaca* dans l'alimentation humaine et dans la médecine traditionnelle reste le plus rapporté parmi les populations dans son aire de répartition (Sagna *et al.*, 2014; Abdoulaye *et al.*, 2017).

Au Tchad, l'enquête réalisée par Abdoulaye *et al.*, (2017) a montré l'utilisation des fruits de *B. aegyptiaca* par 100% des personnes enquêtées. Cependant, ces auteurs ont montré également que 98,23% des enquêtés utilisaient les feuilles et 78,87% s'intéressaient au bois. Au Sénégal, Sagna *et al.*, (2014) a montré que les fruits et le bois sont les parties les plus utilisées de *B. aegyptiaca* par des populations dans la zone du Ferlo au nord Sénégal.

Par ailleurs, il ressort de notre étude que le fruit est consommé uniquement au stade mûr. L'usage des fruits de *B. aegyptiaca* au stade immature n'est pas rapporté dans la littérature (Yadav et Panghal., 2010; Chothani et Vaghasiya., 2011). Ses fruits sont en effet très amers à ce stade et sont ainsi impropres à la consommation humaine.

La pulpe du fruit du dattier du désert est malgré son goût un peu amer, très bien appréciée par les populations. L'enquête réalisée par Sagna *et al.*, (2014) dans la région du Ferlo au Nord du Sénégal, a montré que les graines et les feuilles de *B. aegyptiaca* rentrent dans la cuisine traditionnelle, selon respectivement 36,7% et 20% des personnes enquêtées. Ces valeurs sont inférieures à celle rapportée par notre enquête 74,29%. Par ailleurs, Sagna *et al.*, (2014) que 6,56% des enquêtés utilisent les fruits de *B. aegyptiaca* pour préparer des jus, ce pourcentage est proche de celui rapporté par notre enquête (2,86%). Cette importance de *B. aegyptiaca* dans l'alimentation humaine est due à la valeur nutritive de ses fruits riches en sucres, protéines vitamines et lipides (Nour *et al.*, 1985; Moustapha *et al.*, 2014).

Pour ce qui est des usages ethno-médicinaux de *B. aegyptiaca*, le fruit (pulpe et graine) est l'organe le plus cité par nos informateurs. Les principales pathologies pour lesquelles il est utilisé son entre autres, le diabète, l'hypertension, le toussotement, l'asthme, les maladies dermiques, le panaris, la diarrhée et les douleurs abdominales. Au Sénégal, 63,12% et 38,21% des personnes enquêtées utilisaient la pulpe et l'amande du fruit pour traiter diverses affections (Abdoulaye *et al.*, 2017).

L'utilisation de la pulpe de *B. aegyptiaca* comme traitement contre le diabète a été rapportée au Soudan et en Egypte, comme traitement contre l'hypertension au Sénégal (Kamel *et al.*, 1991; Fortin *et al.*, 1997; Kamel., 1998; Sagna *et al.*, 2014) et comme traitement contre la constipation au Burkina Faso, en Algérie et au Sénégal (Chevallier *et al.*, 2003). L'usage du fruit pour traiter la diarrhée a été rapporté par Abdoulaye *et al.*, (2017) et l'asthme par (Chothani et Vaghasiya., 2011).

La similitude des usages médicaux et culinaires de *B. aegyptiaca* chez les populations vivantes dans son aire de répartition, y compris en Mauritanie, est une preuve de la valeur nutritionnelle, ainsi que des potentialités médicinales et pharmacologiques de cette espèce.

De plus, les vertus médicinales potentielles du dattier du désert ont été pour une grande part démontrées expérimentalement aussi bien *in vivo* que *in vitro* (Abdel-Rahim *et al.*, 1986; Abdallah *et al.*, 2012; Baragob *et al.*, 2014; Hussain *et al.*, 2019).

Par exemple, l'extrait aqueux de fruits de *B. aegyptiaca* a montré des propriétés hypoglycémiantes chez le rat diabétique en expérience (Baragob *et al.*, 2014). Il a également été signalé que la pulpe de fruits de *B. aegyptiaca* présentait un effet hypocholestérolémique lors des tests sur des rats albinos adultes (Abdel-Rahim *et al.*, 1986).

De plus, l'extrait méthanolique de pulpe s'est également révélé présenter une activité anti-dermatophytique sur *Microsporium gypseum* et *Trichophyton rubrum* (Hussain *et al.*, 2019).

D'autre part, les huiles de la graine ont montré une activité anticancéreuse contre les lignées cellulaires de carcinome humain du poumon, du foie et du cerveau, possédait une activité anthelminthique contre les vers hépartiques (*Schistosoma mansoni* et *Fasciola gigantica*) en plus d'une activité antimicrobienne contre des souches sélectionnées de bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Al Ashaal *et al.*, 2010). En fin, les extraits éthanolique des racines du dattier du désert semblent posséder un composé bioactif qui à la capacité d'exercer des propriétés sédatives et anxiolytiques chez la souris (Ya'u *et al.*, 2011).

Il convient de noter que la plupart de ces études ont signalé que les principes actifs étaient des saponines.

I.2.4. Commentaire

Cette enquête nous a permis d'apprécier la place importante qu'occupe le dattier du désert chez la population Mauritanienne et ce pour des raisons socio-culturelles et économiques. D'après le tradipraticien **Mohamed lamine ould Maghari**, les fruits et les feuilles de *B. aegyptiaca* ont plusieurs usages médicaux connus et prouvés : Son fruit (pulpe) est anthelminthique, purgatif, utile dans le traitement du paludisme, soigne les plaies et les ulcères. Il traite également le diabète, le rhume, la dysurie, les maladies du foie, les maladies rénales, et les maladies dermiques, traite aussi les tumeurs et certains cas de lèpre. Consommer la pulpe de *B. aegyptiaca* renforce la mémoire et stimule l'esprit. Il a ajouté que tous les organes de *B. aegyptiaca* contiennent du saponifiable, allusion aux saponines. L'huile extraite des amandes est utilisée pour soigner le rhumatisme et la cicatrisation des plaies. Pour sa part, le tradipraticien **Ould ADDA** a cité presque les mêmes propriétés que nous avons notées avec le tradipraticien **Ould Maghari**. Quant au guérisseur **Mohamedou Mohamed cheikhna Awfa**, le *B. aegyptiaca* est utilisée pour traiter le diabète, l'hypertension, les maladies dermiques, les douleurs abdominales (par macération des feuilles et des branches dans l'eau), la constipation, la dysurie (mélange la pulpe des fruits avec l'eau), la gale (la décoction des feuilles et des branches), l'épilepsie (en mettant un masque à base des feuilles et des branches sur la tête après l'épilation). Les amandes des fruits sont utilisées comme pansement des tumeurs. L'émulsion des fruits est utilisée pour purifier l'eau en éliminant l'hôte intermédiaire de la bilharziose.

La décoction des graines dans l'eau est utilisée pour traiter la gale des animaux (en l'appliquant comme peinture). Il a signalé que les racines et branches sèches de *Balanites*

représentent un bon bois de chauffage aussi chaque partie de la plante est utilisée pour la fabrication du savon. La présence de cette plante dans un endroit est une indication de l'existence d'eau douce. Les graines de *B. aegyptiaca* sont utilisées pour la fabrication d'une soupe largement utilisée dans la nutrition.

La recette alimentaire la plus célèbre à base de *B. aegyptiaca* est préparée en bouillant les fruits dans l'eau pendant toute la nuit puis les amandes sont récupérées le lendemain matin pour les manger directement ou pour fabriquer une soupe. Aussi les femmes préparent à partir de ces amandes cuites des masques éclaircissants pour visage et corps (parfois les amandes sont mélangées avec le Henné (*Lawsonia inermis*)).

I.2.5. Conclusion

Cette enquête ethnobotanique réalisée auprès de 70 personnes de différentes régions de la Mauritanie (Trarza, Tagant, Nouakchott, Gorgol, Brakna, Assaba, et Adrar) et résidents à Nouakchott a montré que le *B. aegyptiaca* est utilisé à différents niveaux chez une population qui s'intéresse par le naturel et par la médecine traditionnelle et chez cette population toutes les parties de la plante sont utilisées à des fins alimentaires et médicinales pour traiter nombreuses maladies dont le diabète, l'hypertension, l'asthme. Donc à partir de tout ça, on se dit que le *B. aegyptiaca* est une ressource génétique très importante qui est menacée et qui mérite d'être conservée et c'est pour cela on a décidé de faire la caractérisation physico-chimique et la caractérisation moléculaire.

▪ Objectif de l'étude

L'objectif général de cette étude est de contribuer à une meilleure connaissance du dattier du désert en Mauritanie dans une perspective de valorisation de cette essence forestière et plante médicinale encore négligé.

Spécifiquement, il s'agit :

- D'analyser et comparer la composition physicochimique des fruits chez des populations naturelles de *B. aegyptiaca* dans la zone aride et hyper-aride de la Mauritanie.
- D'estimer et comparer la diversité génétique intra et inter-population de *B. aegyptiaca* en utilisant des marqueurs moléculaires de type ISSR pour « inter simple sequence repeated ».

DEUXIEME PARTIE :
Materiels et méthodes

DEUXIEME PARTIE:

II. Matériels et Methodes : Etude de la variabilité des populations naturelles de *B. aegyptiaca*

II.1. Cadre de l'étude

La Mauritanie constitue par sa position géographique (15° au 27° de latitude nord et 5° au 17° de longitude ouest) une jonction entre l'Afrique du Nord et l'Afrique de l'Ouest. Elle est limitée au Nord par le Maroc et l'Algérie, au Sud par le Sénégal, au Sud et à l'Est par le Mali et à l'Ouest par l'Océan Atlantique (Figure 22).

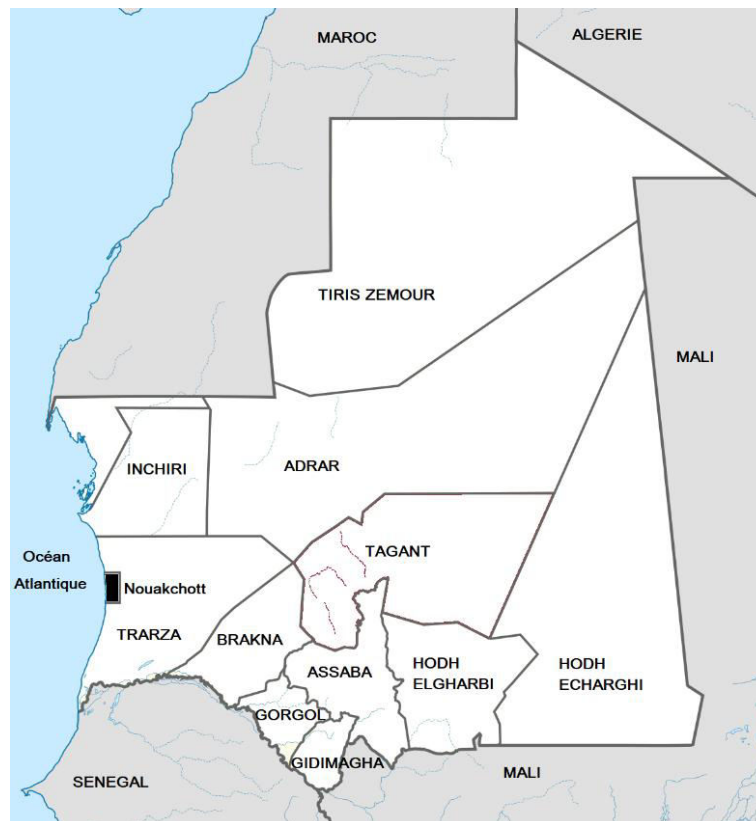


Figure 22: Carte de la Mauritanie et son découpage administratif.

Selon le dernier recensement de la population de 2013, le pays compte 3.500.000 habitants (ONS, 2016) repartis sur une superficie de 1.000.000 de km² soit une densité de 3.5 habitants par km².

Le pays est largement aride avec les deux tiers de sa superficie couverts par le Sahara et le un tiers restant situé dans le Sahel. Le pays est globalement ainsi divisé en deux zones géoclimatiques : la zone saharienne (pluviométrie inférieure à 100 mm) et la zone sahéenne (pluviométrie 100-500 mm). La majorité de la population vit sur l'élevage et l'agriculture

pluviale. Ces deux activités sont concentrées dans la zone sahélienne au sud du pays. En revanche dans la zone saharienne du nord c'est plutôt une activité économique autour des oasis qui prédomine.

II.2.Sites et populations de l'étude

Les sites d'étude se situent dans deux zones géo-climatiques de la Mauritanie à savoir la zone sahélienne aride et la zone saharienne hyper-aride couvrant l'aire de répartition de l'espèce (Figure 23). Ils ont été choisis en fonction de leur accessibilité et de la disponibilité du matériel végétal. Au total, sept populations ont été prospectées suivant l'axe Nouakchott-Aleg vers le sud (Boutilimit, Aghchorguit, et Aleg), l'axe Nouakchott-Atar vers le Nord-est (Yaghref1 et 2), et l'axe Nouakchott-Nouadhibou vers le nord (Tazyazet et Chami) (Tableau 6).

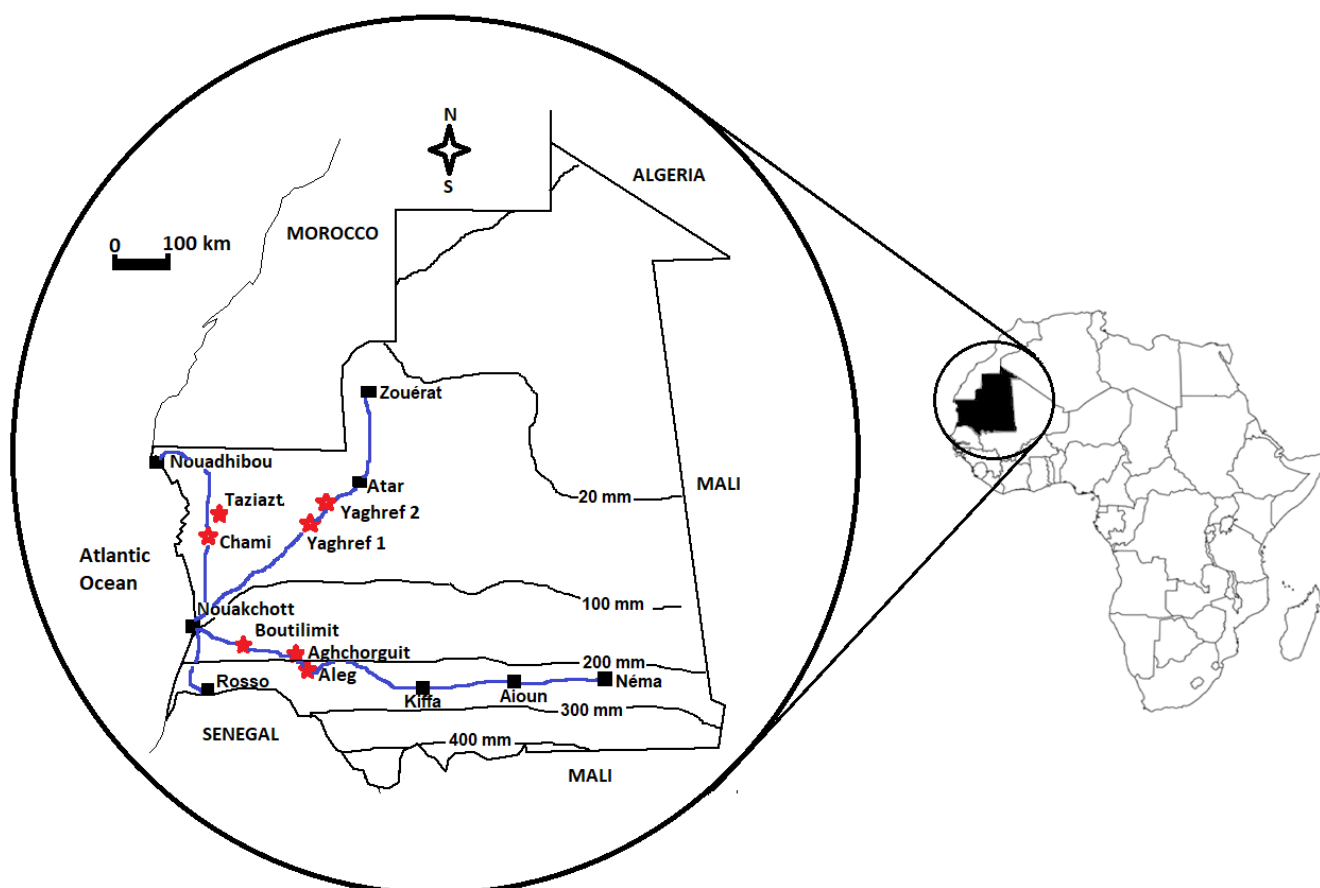


Figure 23 : Carte de la Mauritanie montrant la localisation des sites de l'étude.

Tableau 6 : Présentation des sites de l'étude.

Populations*	Codes utilisés	Étage climatique	Latitude (°W)	Longitude (°N)
Aleg	ALG	Sahélien	14° 01' 12,7"	17° 05' 56,5"
Aghchorguit	AG	Sahélien	14°13'09,7"	17° 13' 57,0"
Boutilimit	BTL	Sahélien	14°51'44,0"	17° 40' 21,3"
Yagref 1	Y1	Saharien	13°27'33.40"	20°13'40.01"
Yagref 2	Y2	Saharien	13°19'21.77"	20°15'9.48"
Tazyazet	TAZ	Saharien	15° 58' 30"	19° 58' 00"
Chami	CH	Saharien	16° 16' 51"	20° 56' 51"

(*) Pour l'analyse physicochimique, les sites de Tazyazet et Yagref 1 n'ont pas été inclus dans l'étude.

II.3. Échantillonnage et mode de collecte

Selon le type d'analyse envisagé, nous avons réalisé l'échantillonnage de jeunes folioles pour l'analyse moléculaire et l'échantillonnage des fruits au stade mûr pour l'analyse de la variabilité physicochimique.

II.3.1. Échantillonnage des feuilles

Le prélèvement de jeunes folioles a été réalisé pendant la période de septembre 2014 à septembre 2016, sur 91 arbres appartenant à 7 populations naturelles de *B. aegyptiaca* (à raison de 8 à 16 arbres par population).

En raison du mode de propagation végétative de *Balanites* (drageonnage), une distance minimale de 20 m sépare chaque deux arbres échantillonnés.

Les feuilles ainsi collectées ont été gardées au froid et transportées au laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire de la Faculté des Sciences de Rabat et stockées à -80 °C avant d'être lyophilisées et vibro-broyées.

II.3.2. Échantillonnage des fruits

Le matériel végétal utilisé a été constitué des fruits provenant de 30 arbres de *B. aegyptiaca* issus de 5 populations naturelles des 7 sites décrits précédemment. Les fruits mûrs ont été collectés pendant les saisons de récolte 2016 et 2017, sur 30 arbres de *B. aegyptiaca* (six arbres de chaque site). Après avoir étalé une feuille en plastique autour du tronc de l'arbre, les

fruits de chaque arbre ont été récoltés en secouant les branches supérieures de l'arbre à l'aide d'un long bâton et 30 des fruits mûrs tombés ont été choisis au hasard et mélangés comme lot unique. Ils ont ensuite été rapidement transportés dans une glacière jusqu'au laboratoire où les critères morphologiques ont été immédiatement mesurés. Des lots de fruits ont ensuite été séchés dans une étuve à 60° avant la caractérisation physico-chimique ou stockées à -20 °C.

II.4. Caractères étudiés

Au total 13 caractères dont 3 décrivant la morphologie du fruit et 10 décrivant les propriétés physicochimiques du fruit (8 relatifs à la pulpe et 2 relatifs à la graine) ont été étudiés (Tableau 7 et 8).

Tableau 7 : Critères morphologiques des fruits de *B. aegyptiaca* étudiés.

Paramètre	Unité
Longueur du fruit	Millimètre (mm)
Epaisseur du fruit	mm
Poids du fruit	Gramme (g)
Teneur en eau	%

Tableau 8 : Critères physico-chimiques des fruits de *B. aegyptiaca* étudiés.

Paramètre	Unité
Critères de la pulpe	
Teneur en eau	%
Teneur en sucres totaux	g/100g matière sèche (MS)
pH	--
Acidité titrable	g/100g MS
Tanins solubles	mg équivalents acide tannique/100g MS
Polyphénols totaux ()	mg équivalent acide gallique/100g MS
Flavonoïdes totaux (mg QE/100g DM)	mg équivalents quercétine/100g MS
Activité antioxydante (TEAC/100g DM)	µmol équivalent trolox/100g MS
Critères de la graine (amande)	
Teneur en lipides (huiles)	g/100 g MS
Teneur en protéines	g/100 g DM

II.4.1. Caractères morphologiques

- **Longueur du fruit**

La longueur du fruit (mm) a été mesurée à partir de la longueur moyenne de dix fruits à l'aide d'un pied à coulisse numérique avec une précision de $\pm 0,1$ mm.

- **Épaisseur du fruit**

Épaisseur du fruit (mm) a aussi été mesurée à partir de l'épaisseur moyenne de dix fruits à l'aide d'un pied à coulisse numérique avec une précision de $\pm 0,1$ mm.

- **Poids du fruit**

Le poids du fruit (en gramme) a été mesuré à partir du poids moyen de dix fruits à l'aide d'une balance de précision de type Ohaus (Ohaus, Heuwinkelstrasse, Suisse).

II.4.2. Caractères physicochimiques

- **Teneur en eau**

La teneur en eau des fruits a été déterminée en séchant 1 g de pulpe du fruit dans une étuve à 65° jusqu'à la stabilisation du poids, et le pourcentage d'humidité a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ humidité} = [(\text{poids frais} - \text{poids sec}) / \text{poids frais}] \times 100.$$

- **pH de jus de pulpe**

Le pH du jus de fruit a été mesuré sur une solution à 50 g/l de jus de pulpe par un pH-mètre de type SympHony SB70P. Deux solutions tampons de pH 4 et 7 ont été utilisées respectivement pour étalonner le pH-mètre.

- **Acidité totale titrable**

L'acidité titrable a été déterminée par la neutralisation de l'acidité présente dans la pulpe du fruit par une solution de NaOH à 0,1N avec la phénolphthaléine comme indicateur coloré selon le protocole de l'AOAC (1990) (Chemists., 1990):

- Préparer une solution de jus de pulpe à 5% et la filtrer
- Mettre 10 ml de la solution précédemment préparée dans un bécher

- Ajouter 3 gouttes de phénolphtaléine
- Titrer par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,1 N jusqu'au virage au rose ou orange

L'acidité exprimée en gramme d'acide malique (AM) /100g de matière fraîche (MF) a été déterminée par la formule suivante:

Acidité totale titrable [g AM /100 g de pulpe] = 0,67. V. N

Où 0,67 = facteur de conversion pour le passage en acide malique

V = volume de solution d'hydroxyde de sodium 0.1 N utilisé (ml)

N = normalité de la solution d'hydroxyde de sodium

▪ Dosage des sucres totaux

- Extraction

Les sucres totaux sont préalablement extraits de 1g de pulpe desséchée à l'aide d'une solution éthanolique à 80%:

- Mélanger 1 g de pulpe sèche avec 20 ml d'une solution éthanolique à 80%
- Centrifuger le Mélange
- Récupérer le surnageant dans un autre tube à essai
- Incuber la solution à 80°C pendant 24H pour faire évaporer l'éthanol
- Compléter le volume de la solution à 20 ml avec de l'eau distillée

- Dosage

Le dosage des sucres totaux a été réalisé par la méthode de phénol-sulfurique (Dubois et Gillet., 1956). En présence d'acide sulfurique, les oses perdent de l'eau et se transforment en dérivés furfuraliques qui à leur tour réagissent en milieu acide avec les phénols pour donner des composés colorés (couleur jaune-orangé), dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en glucides.

Mode opératoire : 0,1 ml d'extrait dilué (ou 0,1 ml d'eau distillée pour le blanc) ont été mis dans un tube à essai en ajoutant 1 ml de phénol à 5%. Ensuite, 5 ml de H₂SO₄ ont été ajoutés rapidement. Les tubes ont été placés au bain marie bouillant pendant 20 min, puis refroidis à l'obscurité. La densité optique a été mesurée à 495 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats ont été exprimés en g d'équivalents glucose /100 g de matière sèche, en se référant à une gamme étalon de glucose de 200 à 800 ug/ml préparée dans les mêmes conditions.

▪ Dosage des polyphénols totaux

- Extraction

- Mélanger 1,5 g de pulpe sèche avec 10 ml de méthanol à 80%
- Laisser réagir pendant 1H au froid en agitant de temps en temps
- Filtrer à l'aide de papier Whatman puis centrifuger à 10000 trs/min à 4°C pendant 10 min
- Récupérer le surnageant
- Réaliser trois lavages du culot par le méthanol à 80%
- Regrouper tous les surnageants dans un tube et les stocker à -20°C jusqu'à leur utilisation

- Dosage

Le dosage de poly-phénols totaux a été réalisé par le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Singelton et Rossi (Singelton et Rossi., 1965) en utilisant l'acide gallique comme standard. Ce dosage repose sur une réaction de réduction du réactif de Folin-Ciocalteu (constitué d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique) lors de l'oxydation des phénols, en milieu alcalin. Les produits de réduction (tungstène et molybdène) présentent une coloration bleue et absorbent à 755 nm. Cette coloration reflète la quantité de phénols exprimés en équivalent d'acide gallique.

Mode opératoire : Dans chaque tube à essai, 7,5ml d'eau distillée ont été ajoutés à 0,5ml de réactif de folin ciocalteu et 0,5ml de l'extrait dilué (ou 0,5 ml d'une solution d'acide gallique (10/25/50/100/200 ppm) ou 0,5 ml d'eau distillée pour le blanc). Le mélange réactionnel a été bien mélangé à l'aide d'un vortex et laissé pendant 10 min à température ambiante avant d'ajouter 3ml de carbonate sodium. Les solutions ont été incubées au bain marie à 40° pendant 20 min ensuite elles ont été mélangées puis refroidies directement dans un bain de glace pendant 3 min. L'absorbance a été mesurée par spectrophotomètre à 755 nm.

La teneur en phénols totaux est donnée en mg d'équivalents d'acide gallique (EAG)/g de matière sèche (MS); elle a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage provenant de la régression linéaire des valeurs obtenues pour les solutions standards d'acide gallique.

▪ Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé en apportant quelques modifications sur le protocole décrit par Kim *et al.*, (2003) et Zhishen *et al.*, (1999). Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe très stable entre les composés phénoliques (flavonoïdes) et le chlorure d'aluminium. Ce complexe est de couleur jaune et détectable dans le visible à 430 nm.

Mode opératoire : 400 µl d'extrait méthanolique dilué ont été mélangés avec 120 µl de NaNO₂ à 5 %, Après 5 minutes 120 µl d'AlCl₃ à 10 % ont été ajoutés au mélange réactionnel. La solution est mélangée à l'aide d'un vortex. Après 6 minutes, 800 µl de NaOH à 1N sont ajoutés au milieu. L'absorbance est lue immédiatement à 430 nm. Le résultat a été exprimé en mg d'équivalents quercétine/g de matière sèche; il a été déduit de la courbe de calibration provenant de la régression linéaire des valeurs obtenues pour les solutions standards de quercétine. La gamme de quercétine est tracée pour des concentrations comprises entre 0 et 200 mg/l.

▪ **Mesure de l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante est mesurée par la spectrophotométrie selon la méthode de Brand-Williams *et al.*, (1995) modifiée, en utilisant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) comme radical libre. Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le DPPH. Le DPPH est un radical libre et stable de couleur violette, est réduit en un composé de couleur jaune en présence des composés anti-radicalaires.

Mode opératoire

- **Préparation des solutions :**

- ✓ Une solution de DPPH de 0.1 mM dans le méthanol
- ✓ Solutions standards de Trolox à différentes concentrations (1/1.5/2/3/4 mM) dans le méthanol

0,1 ml de chaque solution méthanolique de Trolox (1/1,5/2/3/4 mM) a été mélangé avec 10 ml de la solution méthanolique de DPPH, l'absorbance de ces solutions est mesurée après 30 minutes à 517 nm. Aussi 0,1 ml de l'extrait méthanolique de la pulpe a été mélangé à 10 ml de la solution méthanolique de DPPH, l'absorbance des solutions a été lue après 30 minutes à 517 nm. L'activité antioxydante a été donnée en µmol d'équivalents trolox (ET)/100g de matière sèche; elle a été déduite de la courbe de calibration provenant de la régression linéaire des valeurs obtenues pour les solutions standards de Trolox.

▪ **Tanins solubles**

Le dosage des tanins solubles a été réalisé par la méthode colorimétrique de Folin-Denis, décrite par Taira., (1996). Cette méthode est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique et tungstique en milieu alcalin, en présence de tanins pour donner une coloration bleue.

Mode opératoire : Dans une fiole de 50ml, 7,5 ml d'eau distillée ont été mélangés avec 1 ml de jus de fruits, 5 ml de réactif de Folin-Denis et 10 ml de la solution saturée de Na_2CO_3 . Après 30 min la densité optique a été mesurée à 760 nm. Le blanc a été mesuré dans les mêmes conditions en utilisant l'eau distillée à la place de l'extrait de la pulpe.

La teneur en tanins solubles a été exprimée en mg d'équivalents d'acide tannique (EAT)/g matière sèche; en se référant à une gamme étalon d'acide tannique de 0 à 100 mg/l préparée dans les mêmes conditions.

▪ **Teneur en Protéines**

La teneur en protéines dans les graines (amandes) a été déterminée par la méthode de Kjeldahl., (1883), en utilisant un facteur de conversion de l'azote de 6,25. Cette méthode se base sur le dosage de l'azote total présent dans l'échantillon, Elle se résume en trois étapes (la minéralisation, la distillation, le titrage).

➤ **Minéralisation**

Au cours de la minéralisation, et sous haute température (400°C), l'azote protéique est transformé en azote ammoniacal par oxydation de la matière organique par l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur.

➤ **Distillation**

La distillation de l'ammonium en ammoniac est réalisée par l'ajout d'un excès de soude pour changer le pH acide en un pH basique. L'ammoniac est entraîné par la vapeur d'eau et repris dans une solution d'acide borique contenant un indicateur coloré.

➤ **Titration**

Le titrage de l'ammoniac complexe avec de l'acide borique (H_3BO_3) est réalisé par une solution d'acide sulfurique (0,1N) en présence d'un indicateur coloré.

Mode opératoire : 0,5g d'échantillon est mis dans des matras avec un catalyseur (2g de sélénium, 20g de sulfate de cuivre, 80g de sulfate de potassium), et 20ml d'acide sulfurique concentré (98%). Un témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans échantillon. Les échantillons sont placés sur un bloc minéralisateur chauffé à 400°C pendant environ 2h sous une hotte chimique. Après refroidissement, le contenu est versé dans des fioles puis ajusté le volume jusqu'à 100ml de l'eau distillée. L'ammoniac est distillé à l'aide d'un analyseur en présence de la soude 40%. Le distillat recueilli dans un erlenmeyer contenant 20ml de solution

d'acide borique est titré par l'acide sulfurique 0,1N jusqu'au virage de couleur violet vers l'orange.

La teneur en protéines est exprimée selon la formule suivante :

$$\% N = 100 \times \frac{(V_E - V_B) \times N \times 14,007}{M \times \frac{MS}{100}}$$

$$\% \text{Protéines} = N \times F$$

P% : pourcentage de protéine

V_E : volume d'acide utilisé pour la titration de l'échantillon (en L)

V_B : volume utilisé pour la titration du blanc (en L)

N : normalité de l'acide sulfurique (mol.L⁻¹)

M : masse en gramme de la prise d'essai (en g)

MS : teneur en matière sèche de l'échantillon (%)

F : facteur de conversion de l'azote en protéines (F=6,25)

▪ Teneur en lipides totaux

La teneur en lipides dans les graines de *B. aegyptiaca* est déterminée après l'extraction au soxhlet Analytique-BIPEA., (1976). Une quantité de 1g de l'échantillon est mise dans une cartouche en cellulose (cartouche de Whatman) ensuite, elle est placée dans la chambre d'extraction. Un bécher préalablement pesé (P1) est rempli aux deux tiers par l'hexane et le placé à la position correspondante sur la plaque chauffante. La durée de l'extraction est de 6 heures. Le solvant est éliminé par évaporation. Le bécher contenant la matière grasse est séché à 130 °C pendant 30 minutes pour éliminer le reste du solvant, ensuite il est refroidi au dessiccateur pour atteindre la température ambiante puis il est pesé (P2).

Les résultats obtenus ont été exprimés en utilisant la formule suivante :

$$\%MG = \frac{P_2 - P_1}{P_E} \cdot 100$$

MG = matière grasse

P2 = poids du bécher + masse de la matière grasse (g) sec

P1 = poids du bécher vide (g)

PE = prise d'essai

II.4.3. Caractérisation moléculaire

Nous avons analysé la variabilité génétique des populations naturelles de *B. aegyptiaca* moyennant les marqueurs ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat).

- **Les marqueurs ISSR utilisés**

Pour le marquage des populations naturelles de *B. aegyptiaca*, nous avons utilisé 16 amorces polymorphes. Leurs séquences et leurs températures de fusion respectives sont données dans le tableau 9.

Tableau 9: Liste des amorces ISSR utilisées.

Primers	Sequences	Tm
	5' à 3'	°C
BTH1	(AG)8C	50,4
BTH2	(AG)8T	48,1
BTH3	(AG)8TC	50,1
BTH4	(AG)8CA	52,9
BTH5	(AG)8TA	48,9
BTH6	(AG)8CC	53,3
BTH8	(CT)8G	49,1
BTH9	(CT)8T	47,7
BTH10	(GA)8C	47,5
BTH11	(GA)8CT	50,1
BTH12	(GA)8TT	48,1
BTH13	(GT)8C	46,5
B1	(GT)6CC	39,8
B2	(GT)6GG	40,5
TH1	(GT)6CG	41,9
TH2	(GT)6TG	38,3

▪ **Extraction de l'ADN génomique**

Le matériel végétal utilisé dans cette partie est constitué de feuilles issues de 91 arbres de *B. aegyptiaca* préalablement lyophilisées à l'aide du lyophilisateur (Christ, Alpha 1-2 LO) et broyées par le vibro-broyeur (Plus Retsch, MM 400). L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée par un kit commercial (Bioline Isolate II Plant DNA Kit). Le choix de cette technique est justifié par sa rapidité, sa reproductivité et aussi l'absence d'utilisation de produits toxiques.

Mode opératoire : 20 mg de matériel végétal sont introduits dans un tube Eppendorf (2 µl) dans lequel 300 µl de tampon de lyse (PA2) et 10 µl de RNase sont ajoutés. Le mélange est incubé à 65° pendant 10 min avant d'ajouter 75 µl de tampon de précipitation (PL3) et le tout est incubé dans la glace pendant 5min, puis centrifugé à 16000g pendant 5 minutes. Par la suite, le surnageant est filtré pour éliminer les débris cellulaires et mélangé avec 450 µl de tampon de fixation (Binding Buffer). Le mélange est transféré dans une colonne contenant une membrane de silice sur laquelle l'ADN va se fixer puis être centrifugé à 11000g pendant 1 min. Toutes les impuretés sont éliminées en ajoutant un tampon de lavage (PAW). Finalement, l'ADN est élu dans 100 µl de tampon d'élution et conservé à -20. Le protocole détaillé est mis en annexe3.

L'analyse quantitative et qualitative, de l'ADN extrait, est réalisée par le spectrophotomètre Thermo Scientific NanoDrop 2000c UV-Vis. Ce dernier permet de préciser la concentration des acides nucléiques à partir d'une goutte de l'échantillon (1 µl), en mesurant leur densité optique (DO) à 260 nm, qui est la zone d'absorbance maximale des acides nucléiques. Le ratio des densités optiques (260/280) permet de mesurer le degré de la pureté de l'ADN. Un ratio 260/280 compris entre 1,8 et 2,2 témoigne d'une bonne qualité d'ADN. Donc un ratio 260/280 inférieur à 1,7 signifie une contamination par les protéines et s'il est supérieur à 2,2 ça indique une contamination probable par l'ARN. Aussi le rapport 260/230 doit être compris entre 2,0 et 2,2 pour exclure la contamination par les contaminants absorbants à une longueur d'onde de 230 nm (comme les sucres et polyphénols). Une deuxième évaluation de qualité et de l'intégrité de l'ADN a été réalisée par la migration sur gel d'agarose à 1%.

▪ **Optimisation du mélange réactionnel de l'amplification ISSR-PCR**

Pour l'amplification de l'ADN par ISSR, nous avons utilisés le protocole de (Zietkiewicz *et al.*, 1994) comme protocole de base en faisant plusieurs optimisations de certains composants

du mélange réactionnel (concentrations d'ADN, amorces, MgCl₂, et dNTP), afin de bien adapter ce Protocole.

- ✓ Pour la concentration d'ADN, nous avons testé 4 concentrations différentes : 2, 4, 8 et 10ng.
- ✓ Les concentrations des amorces sont aussi un facteur important pour l'amplification, trois concentrations ont été testées : 2, 4 et 5 μM.
- ✓ La concentration du MgCl₂ est un facteur très important à ajuster parce que le MgCl₂ en excès peut inhiber l'amplification. Dans ce travail, nous avons testé 4 concentrations différentes : 1,5 mM, 2 mM, 2,5 mM et 3 mM.
- ✓ La concentration en dNTP a été aussi optimisée, nous avons essayé avec deux concentrations différentes : 2 et 4 mM.

Nous avons aussi joué sur la température d'hybridation (T_m) et le nombre de cycle. Après plusieurs réactions d'optimisation, nous avons opté pour le mélange réactionnel et le programme d'amplification qui ont donné les meilleurs profils d'amplifications.

▪ **Protocole d'amplification de l'ADN par ISSR-PCR**

Après une série d'optimisation, 16 amorces à simple séquence répétée additionnées d'une à deux bases arbitraires ont été retenues (Tableau 9). L'amplification par PCR a été réalisée en portant quelques modifications sur le Protocole de (Zietkiewicz *et al.*, 1994). La réaction d'amplification a été réalisée dans des tubes PCR de 0,2 ml avec un volume final de 25 μl contenant 4 ng/μl d'ADN génomique, 1 unité de Taq polymérase, Tampon PCR à 1X, 2mM de dATP, dCTP, dGTP et dTTP, 2,5 mM MgCl₂, et 4 μM d'amorce. L'amplification de l'ADN est effectuée dans un thermocycleur (Veriti® 96-Well Thermal Cycler) en commençant par une étape de dénaturation initiale à 94°C pendant 7 minutes suivi par 32 cycles de : 30 s à 94°C, 45 s à T_m d'amorce, 2 min à 72°C et une étape d'élongation finale de 7 min à 72°C. Pour vérifier la non-contamination de résultats, un témoin négatif (contenant tous les composants sauf l'ADN) a été réalisé.

▪ **Analyse des produits PCR sur gel d'agarose**

Après l'amplification par PCR, 5μl de tampon de charge sont ajoutés à l'amplification afin de suivre l'électrophorèse, et le mélange est soumis à une migration sur gel d'agarose à 2,8 %, en présence 1kb DNA Ladder (Bioline) comme marqueur de poids moléculaire. L'électrophorèse est réalisée dans le tampon TAE 1X à 100 V pendant 3 heures. Après la

migration, le gel est placé dans un bain de bromure d'éthidium (BET) pendant 20 min puis visualisé sous les UV et photographié à l'aide d'un appareil de type EnduroTM GDS (Labnet, USA). Les photos de gels enregistrées sous format tiff, ont été transférées au logiciel Gel Compar II version 2,5 (Applied Maths) pour l'analyse statistique. Une matrice binaire établie par gel compar II, a été exportée aux logiciels genAlex et popgene pour effectuer d'autres analyses statistiques.

II.5. Méthodes d'analyse des résultats

II.5.1. Analyse des résultats par Gelcompar II

Le Gelcompar est un logiciel qui permet la standardisation, la comparaison des profils électrophorétiques et la construction d'une matrice binaire de présence/absence des bandes chez les individus étudiés.

Les photos des gels générées après l'électrophorèse des produits PCR-ISSR, ont été converties en format Tiff, puis elles sont traitées par le logiciel GelComparII (version 2,5, Applied Maths, Kortrijk, Belgium). Ce dernier peut détecter et identifier toutes les bandes visibles sur chaque gel, et la normalisation des gels a été réalisée en utilisant le marqueur de poids moléculaire 1kb. Chaque bande est marquée par la taille des fragments qu'elle correspond. En suite, la matrice binaire présence/absence a été construite, en tenant compte '1' pour présence et '0' pour absence. A partir de cette matrice, Le pouvoir discriminant des marqueurs ISSRs a été mesuré à l'aide des paramètres suivants : PIC, Rp, MI.

Le PIC (Polymorphism Information Content) est un indice de la puissance d'un marqueur à détecter le polymorphisme dans une population, il a été calculé selon la formule décrite par (Roldàn-Ruiz *et al.*, 2000) : $PIC_i = 2f_i(1-f_i)$, où PIC_i est le contenu en information polymorphique du marqueur i , f_i est la fréquence de l'allèle amplifié (allèle présent) et $(1-f_i)$ est la fréquence de l'allèle absent (bande absente).

L'indice de marqueur (MI) a été calculé à partir de la formule proposée par (Powell *et al.*, 1996) : $MI = PIC \times EMR$, où EMR (effective multiple ratio) est défini comme le produit de la fraction des loci polymorphes (β) et le nombre de loci polymorphes (n) ($EMR = \beta \times n$).

Le pouvoir de résolution (RP) pour chaque amorce a été calculé en utilisant la formule de Prevost et Wilkinson., (1999) : $R_p = \sum I_b$, I_b représente l'information du fragment et calculé comme suit : $I_b = 1 - [2 \times |0.5 - p|]$, où p représente la proportion des génotypes contenant le fragment.

II.5.2. Analyse par GenAlex v6,5

La matrice générée par gelcompar, à été exportée vers le logiciel GenAlex v6,5 (Peakall et Smouse., 2006, 2012) afin d'évaluer les paramètres de diversité génétique suivants: nombre total d'allèles (Na), nombre effectif d'allèles (Ne), nombre d'allèles privés, indice de Shannon (I), et pourcentage de loci polymorphe (%P). Aussi l'analyse en coordonnées principales (PCoA) et l'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) ont été également réalisées à l'aide du logiciel GenAlex v6,5.

II.5.3. Analyse par POPGENE version 1,32

Le logiciel POPGENE a utilisé la matrice binaire « Présence/Absence» comme base de données pour calculer, le coefficient de différenciation génétique (Gst), et le flux de gène (Nm). Les données ont été analysées en utilisant le programme SIMQUAL (similarity for qualitative data) pour générer des coefficients de similarité de Jaccard et pour construire un dendrogramme basé sur la méthode de regroupement UPGMA employant la procédure SAHN (Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested Clustering) du programme NTSYS-PC v. 2.02 (Applied Biostatistics, Setauket, N.Y.) (Rohlf., 1997).

II.5.4. Analyse par le logiciel STRUCTURE

La structure génétique des populations de *B. aegyptiaca* a été analysée en utilisant un algorithme Bayésien implémenté dans le logiciel STRUCTURE v2.3.4, qui permet de déduire le nombre de grappes génétiquement distinctes (K) sans prendre en compte les populations d'origine ni le nombre de populations étudiées. Vingt simulations indépendantes ont été réalisées pour chaque valeur simulée de K (le nombre de populations). Le nombre de clusters possibles allant de K=1 à K=10. Les analyses incluent une période d'initialisation (burn-in period) de 30000 itérations et 50000 répétitions de Monte Carlo de chaînes de Markov (MCMC) avec des modèles de fréquences alléliques corrélées. Le nombre de populations a été évalué en utilisant la méthode ΔK d'Evanno (Evanno *et al.*, 2005), basée sur la valeur maximale de ΔK avec le logiciel en ligne Structure Harvester (Earl et vonHoldt., 2012).

II.5.5. Analyse par SPSS

Le logiciel SPSS (Statistical Package for Social Sciences) est un logiciel informatique spécialisé en traitement statistique des données. Il a été développé en 1968 par Norman H. Nie,

Dale H. Bent et C. Hadlai Hull (Gouda., 2015). Le SPSS est un logiciel statistique très puissant et dispose d'un très grand nombre de fonctions statistiques (Gouda, 2015).

Pour exploiter les résultats des caractères morphologiques et biochimiques, le logiciel SPSS version 22.0 a été utilisé pour l'analyse statistique de données. Nous avons successivement effectué, une analyse statistique univariée (tri à plat) pour décrire les observations, une analyse statistique bivariée pour mesurer le sens et l'intensité des relations entre les variables, et une analyse multivariée (ACP).

Les tests utilisés : test de normalité de K-S /Shapiro wilk, test d'Anova pour comparer les 7 populations pour les distributions normales et test Kruskal Wallis pour les distributions non normales, ACP (analyse en composante principale).

II.6. Paramètre d'estimation de la variabilité génétique

L'étude de la diversité génétique de *B. aegyptiaca* à été réalisée à deux niveaux : évaluation de la diversité génétique intra et intre-populations

II.6.1.Paramètres de diversité intra-spécifique

Pour mesurer la diversité génétique intra-population, plusieurs paramètres ont été calculés a l'aide du logiciel GenAlex v6,5. La mesure de ces paramètres a été faite pour chaque locus, après la moyenne est prise sur tous les loci.

- **Taux de polymorphisme**

Le taux de polymorphisme (P%) est le pourcentage de locus polymorphes par rapport à l'ensemble des locus étudiés. Dans ce présent travail, 505 marqueurs polymorphes ont été générés moyennant 16 amorces ISSRs, et le taux de polymorphisme a été calculé pour chaque population étudiée en utilisant le logiciel GenAlex 6,5.

- **Nombre total d'allèles (Na)**

Le nombre total d'allèles (Na), appelé également la richesse allélique, il est défini par le nombre total d'allèles par rapport au nombre de loci. Ce paramètre à été calculé par GenAlex 6,5 selon la formule suivante : $Na = \text{Nombre total d'allèle} / \text{Nombre de loci}$.

- **Nombre effectif d'allèles (Ne)**

Le Nombre effectif d'allèles est défini par le nombre d'allèles que la population devrait présenter la même fréquence pour tous ces allèles pour avoir le même indice de diversité. Ce paramètre a été calculé par le logiciel GenAlex v6,5 en suivant l'équilibre de Hardy-Weinberg selon la formule suivante :

$$Ne = 1 / (p^2 + q^2) \text{ où } q = (1 - \text{fréquence de bande})^{0,5} \text{ et } p = (1 - q).$$

- **Indice de Shannon (I)**

L'indice de Shannon (I), est un indice permettant de mesurer la diversité spécifique, en prenant compte le nombre d'espèces, et également la distribution des individus au sein de chaque espèce. Plus cet indice est élevé, plus l'hétérogénéité de la population est grande. Ce paramètre a été calculé par GenAlex v6,5 en utilisant la formule suivante :

$$I = -1 * (p * \ln(p) + q * \ln(q)) \text{ où } q = (1 - \text{fréquence de bande})^{0,5} \text{ et } p = (1 - q).$$

II.6.2. Paramètres de diversité inter-spécifique

La diversité génétique inter-populations a été évaluée en mesurant les paramètres suivants:

- **AMOVA**

L'analyse de variance moléculaire (AMOVA) est une méthode statistique qui permet d'étudier la différenciation génétique en estimant la part de chaque niveau de variabilité (intra et inter-population). Dans ce travail, l'analyse de variance moléculaire a été réalisée par GenAlex v6,5 en utilisant la matrice de distance. La signification des données a été testée par un test de permutations (n=999).

- **Classification hiérarchique**

La classification hiérarchique est une méthode permettant de visualiser les relations génétiques existantes entre des individus (ou des populations), en les regroupant dans un certain nombre de groupes (ou sous-groupes) à partir d'une matrice de distances génétiques. Chaque groupe rassemble les individus les plus proches génétiquement. La méthode UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean), est l'algorithme le plus utilisé en génétique de population pour la construction du dendrogramme. Elle se base sur un

regroupement séquentiel par lequel les relations entre les unités sont identifiées par ordre de similarité et produisant un arbre de classification appelé, le dendrogramme (Liu., 2008; Pakhrou., 2017). La classification hiérarchique des différents individus de *B. aegyptiaca* a été réalisée par la méthode UPGMA avec le logiciel NTSYS-pc v 2.02.

- **Analyse en coordonnées principales (PCoA)**

L'analyse en coordonnées principales (PCoA) est une méthode multi-variée, permettant de visualiser les corrélations existantes entre des variables ou des observations sur un plan factoriel à deux ou trois dimensions afin d'identifier la similarité ou les différences entre les échantillons étudiés. La PCoA est une généralisation de l'ACP (analyse en composantes principales), elles partagent le même principe. La distance entre les points relevés peut calculer aussi bien de manière euclidienne que d'autres manières de calcul en générant des matrices de distance ou de similarité. Il est préférable de l'utiliser à la place de l'ACP surtout pour les données non quantitatives ou pour celles qui contiennent de nombreux zéros (Glèlè *et al.*, 2016).

- **Coefficient de différenciation génétique (G_{ST})**

Le coefficient de différenciation génétique (G_{ST}), est un indice permettant de mesurer le niveau de différenciation génétique entre populations. Il exprime la proportion de la variabilité totale due à la différence entre les populations. Cet indice a été proposé par Nei (1973), et il est calculé selon la formule suivante (Kremer., 1994):

$$G_{ST} = 1 - H_S / H_T$$

Où **H_S** est la diversité génétique intra populations ; **H_T** est la diversité génétique totale.

La différenciation génétique entre les différentes populations de *B. aegyptiaca* a été calculée par le logiciel Popgene version 1,32.

- **Flux de gènes**

Le flux de gènes est un processus d'échange des gènes ou de leurs allèles entre les populations. Ce processus conduit à l'homogénéisation des fréquences alléliques entre les populations et favorise la diversité génétique intra-population. Au même titre que la sélection, la dérive génétique et la mutation, le flux de gènes représente un facteur évolutif majeur. Le nombre de migrants effectifs par génération (Nm) est relié à la différenciation génétique (G_{ST}), comme indiqué dans la formule suivante :

$$Nm = 0,5(1 - G_{st})/G_{st}$$

Où N est la taille effective de la population et m le taux de migration.

Ce paramètre a été calculé à l'aide du logiciel Popgene version 1,32.

TROISIEME PARTIE:
Résultats et Discussions

TROISIEME PARTIE:

Résultats et discussions

III.1 Etude phytochimique du Fruit de *B. aegyptiaca*

III.1.1 Introduction

A notre connaissance, les ressources génétiques de *B. aegyptiaca* en Mauritanie n'ont fait l'objet d'aucune étude d'évaluation de leurs potentialités agronomiques, médicinales, ainsi que des connaissances traditionnelles, malgré l'abondance de ces ressources et les multiples usages alimentaires, médicinales, en plus du revenu d'appoint non négligeable qu'elles procurent aux populations notamment en milieu rural.

Dans cette section, nous présentons et discutons les résultats de la variabilité physico-chimique, des composés bioactifs et de l'activité anti-oxydante des fruits de *Balanites aegyptiaca* collectés sur 30 arbres appartenant à cinq sites dans les régions aride (Sahel) et hyper-aride (Sahara) de la Mauritanie.

Cette partie a fait l'objet d'une publication parue dans la revue **Plants** à Facteur d'impact = 2,632 (**annexe 1**).

Selouka Mint Abdelaziz, Fouteye Mint Mohamed Lemine, Hasni Ould Tfeil, Abdelkarim Filali-Maltouf, Ali Ould Mohamed Salem Boukhary. Phytochemicals, Antioxidant Activity and Ethnobotanical Uses of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Fruits from the Arid Zone of Mauritania, Northwest Africa. **Plants**; 2020, 9(3), 401; <https://doi.org/10.3390/plants9030401>

III.1.2 Résultats

III.1.2.1 Analyse descriptive des propriétés physico-chimiques du fruit

Sur les 13 variables morphologiques et physicochimiques du fruit des populations étudiés, la teneur en lipides, le pH et la teneur en protéines ont montré des coefficients de variation inférieurs à 10%, la longueur et l'épaisseur des fruits ont présenté des coefficients de variation entre 10% et 20%, et le poids des fruits, l'humidité, la teneur en sucres totaux, l'acidité titrable, les tanins solubles, les polyphénols, les flavonoïdes et l'activité antioxydante, ont montré des coefficients de variation supérieure à 20% (Tableaux 10 et 11).

Tableau 10: Analyse descriptive des paramètres morphologiques des fruits de 30 arbres de *B. aegyptiaca* collectés dans 5 sites en zones aride et hyper-aride en Mauritanie.

Paramètre (Unité)	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
Longueur du fruit (mm)	18,5	29,3	23,7	3,1	13
Largeur du fruit (mm)	13,5	23	19	2,2	11,5
Poids du fruit (g)	3,5	6,8	4,5	0,9	21
Teneur en eau (%)	5,41	30,1	21,9	12,2	56

CV: coefficient de variation

Le poids moyen le plus élevé a été observé chez les fruits des arbres du site aride d'Aghchorguit avec une moyenne \pm écart-type de $5,8 \pm 0,9$ g (Tableau 16, annexe 5). Les populations de Yaghref et Aleg sont caractérisés par la longueur \pm écart-type et la largeur \pm écart-type des fruits les plus faibles ($19,5 \pm 1,1$ et $15,8 \pm 1,9$ mm, respectivement), par contre la longueur \pm écart-type des fruits la plus importante est observée chez la population d'Aleg ($25,7 \pm 3,4$ mm) et le diamètre \pm écart-type le plus élevé est observé dans la population d'Aghchorguit ($20,5 \pm 2,1$ mm). La teneur en eau (\pm écart-type) de fruits des sites arides d'Aleg ($28,1 \pm 9\%$) et d'Aghchorguit ($24,6 \pm 2,6\%$) étaient plus élevées que celle des sites hyperarides de Yaghref ($20,3 \pm 5,7\%$) et Chami ($21,1 \pm 3\%$).

Tableau 11: Analyse descriptive des paramètres phytochimiques des fruits de 30 arbres de *B. aegyptiaca* collectés dans 5 sites en zones aride et hyper-aride en Mauritanie.

Paramètre (Unité)	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
Critères de la pulpe					
Sucre totaux (g/100 g MS)	17,5	54	33	9,1	27,5
pH	4,43	5,1	4,9	0,16	3,2
Acidité titrable (g/100 g MS)	0,01	0,35	0,17	0,1	58,8
Tannins solubles (mg TAE/100 g) MS	280	971	559,6	191,6	34,2
Polyphénols totaux (mg GAE/100 g MS)	173	429	265	75,3	28,4
Flavonoïdes (mg QE/100 g MS)	14,7	63,2	34,2	15,9	46,4
Acitivité anti-oxydante (μ mol TEAC/100 g MS)	220	800	519	176	34
Critères de la graine					
Lipides (g/100 g MS)	42,6	49,7	46,2	2,1	4,5
Protéines (g/100 g MS)	27,5	32,7	29,5	1,8	6,1

Abbréviations: MS: matière sèche; CV: coefficient de variation; TAE: équivalent acide tannique; GAE: équivalent acide gallique; QE: équivalent quercétine; TEAC: équivalent trolox encapacité antioxidante.

La teneur en sucres totaux \pm écart-type était significativement plus élevée dans les pulpes de fruits du site hyperaride de Yaghref ($45,8 \pm 7,1$ g / 100 g MS) par rapport aux autres sites d'étude ($p = 0,01$). L'acidité titrable était significativement plus élevée dans les arbres d'Aghchorguit et de Yaghref ($0,3 \pm 0,1$ g/100 g MS). Le pH de jus des fruits d'Aleg présentait

la valeur la plus basse ($4,7 \pm 0,1$) et les fruits d'Aghchorguit (zone aride) et de Yaghref et Chami (zone hyperaride) se partagent les valeurs de pH les plus élevées ($4,9 \pm 0,1$). Les graines des fruits d'Aghchorguit représentaient la teneur en protéines la plus élevée ($32,5 \pm 0,4$ g / 100 g MS), et ceux de Yaghref montraient la teneur en lipides la plus élevée ($48,9 \pm 1,1$ g / 100 g MS).

III.1.2.2 Composés bioactifs et activité anti-oxydante de la pulpe du fruit de *B. aegyptiaca*

Les composés bioactifs et l'activité anti-oxydante des fruits de *B. aegyptiaca* varient considérablement d'un site d'étude à l'autre. Les pulpes de fruits des sites hyperarides de Yaghref et Chami ont montré les teneurs les plus élevées en polyphénols ($396 \pm 4,8$ et $268 \pm 1,9$ mg GAE/100 g MS, respectivement) (Tableau 12) et en activités anti-oxydantes les plus importantes ($750 \pm 5,5$ et $730 \pm 10,5$ $\mu\text{mol TEAC}$ / 100 g MS, respectivement). De plus, les valeurs les plus élevées des tanins solubles ont été enregistrées chez les arbres de la zone hyperaride ($714 \pm 17,3$ et $756 \pm 8,4$ mg TAE / 100 g MS pour les sites de Yaghref et Chami, respectivement). Cependant les flavonoïdes totaux, étaient plus élevés dans les extraits des fruits du site aride de Boutilimit ($47,4 \pm 6,4$ mg QE / 100 g MS) par rapport aux autres sites.

Tableau 12 : Moyennes \pm écart-types des teneurs en composés bioactifs et de l'activité anti-oxydante des pulpes de fruits de *B. aegyptiaca* de 5 sites en Mauritanie.

Site d'étude	Polyphénols totaux (mg GAE/100 g MS)	Flavonoïdes (mg QE/100 g MS)	Tannins solubles (mg TAE/100g MS)	Activité Anti-oxydante (μ mol TEAC/100 g MS)
Aleg	245 \pm 8,1 ^a	28,8 \pm 5,4 ^a	471 \pm 8,8 ^a	440 \pm 7,5 ^a
Aghchorguit	236 \pm 5,7 ^b	32,5 \pm 1,2 ^{a,b}	479 \pm 12 ^a	490 \pm 13,8 ^b
Boutilimit	222,5 \pm 2,5 ^c	47,4 \pm 6,4 ^d	436 \pm 9,9 ^b	340 \pm 10,2 ^c
Yaghref	396 \pm 4,8 ^d	34,3 \pm 1,8 ^b	714 \pm 17,3 ^c	750 \pm 5,5 ^d
Chami	268 \pm 1,9 ^e	19,7 \pm 2,2 ^c	756 \pm 8,4 ^d	730 \pm 10,5 ^e

Les moyennes dans la même colonne accompagnées de la même lettre ne sont pas différentes significativement les unes des autres à $p < 0,05$ selon le test de Student- Newman-Keuls.

III.1.2.3 Analyse en composantes principales

L'analyse en composantes principales a été appliquée à l'ensemble des variables physico-chimiques afin de déterminer les variables ou groupes de variables pouvant caractériser les fruits des différents sites d'études.

Les trois premiers axes de l'ACP absorbent 59% de la variance totale (soit 25,7%, 18,9% et 14,4% pour l'axe 1, l'axe 2 et l'axe 3 respectivement) (Tableau 17, annexe 6). L'axe 1 est corrélé positivement avec les variables polyphénols totaux (0,85), l'activité anti-oxydante (0,92) et les tanins solubles (0,83) et négativement avec la variable longueur des fruits (-0,5). Cet axe regroupe les arbres de *B. aegyptiaca* des sites hyperarides de Chami et Yaghref caractérisés par des teneurs élevées en polyphénols, en tanins solubles ainsi qu'une activité anti-oxydante importante par rapport aux autres arbres des sites arides (Figure 24). Les variables contribuant positivement à l'axe 2 sont la teneur des graines en protéines (0,66), le poids (0,82) et la largeur (0,62) du fruit et celle contribuant négativement était la teneur en sucres totaux (-0,68). Cet axe

regroupe les arbres du site aride d'Aghchorguit caractérisés par des fruits larges avec un poids élevé et aussi une forte teneur en protéines.

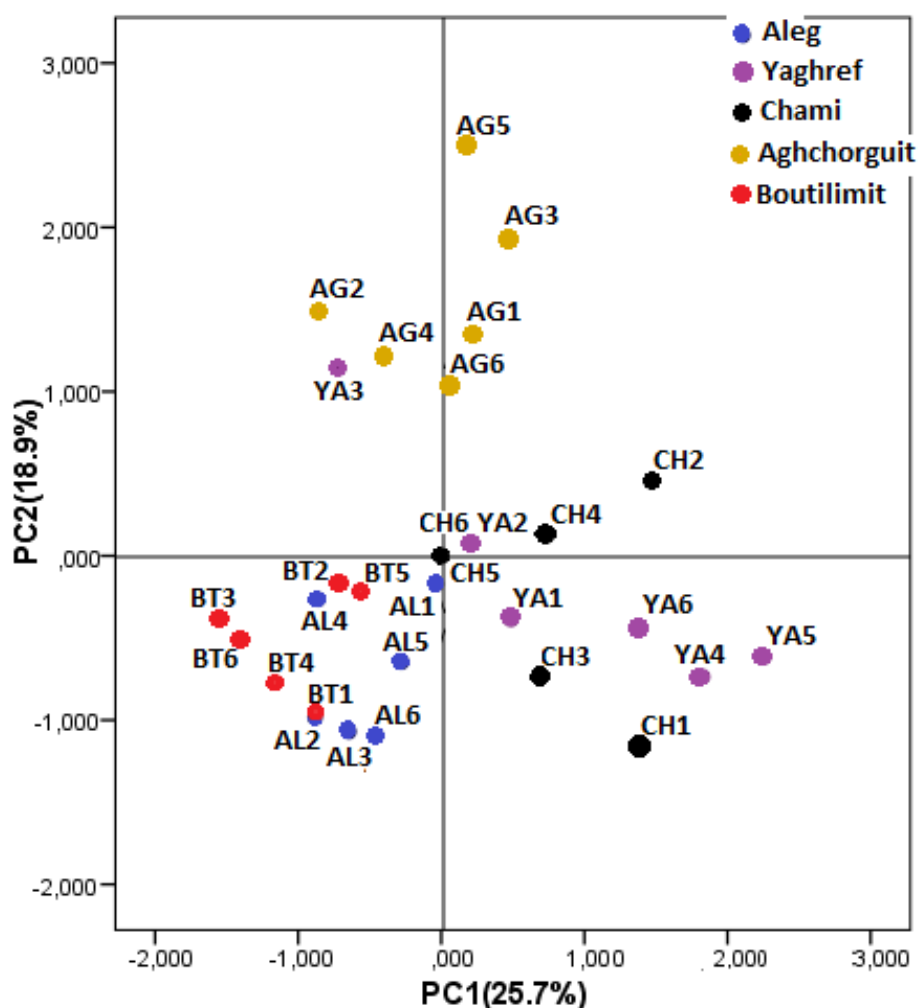


Figure 24: Analyse en composantes principales réalisée sur les paramètres physicochimiques du fruit de *B. aegyptiaca* : projection des arbres sur les axes 1-2 de la composante principale.

La projection des arbres de différents sites d'étude sur les axes 1-3 de l'ACP est présentée dans la figure 27 en annexe 7.

III.1.3 Discussion

Les fruits de *B. aegyptiaca* analysés dans cette étude montrent dans l'ensemble une variabilité moyenne à importante pour les paramètres étudiés. En effet, les valeurs du coefficient de variation des paramètres de fruits des arbres pour chaque espèce sont généralement considérées comme faibles lorsqu'elles sont inférieures à 10%, moyennes entre 10% et 20% et élevées à partir de 20% (Aubergon., 1987).

Dans l'ensemble, le poids moyen (4,56 g), la longueur (23,7 mm) et le diamètre (19,0 mm) des fruits observés dans cette étude sont comparables à ceux trouvés dans les pays où *B. aegyptiaca* est naturellement présent comme le Sénégal (Soloviev *et al.*, 2004) et le Niger (Abasse *et al.*, 2011). Par exemple, les fruits de *B. aegyptiaca* du Sénégal possédaient respectivement un poids, une longueur et un diamètre de 4,03 g, 24,4 mm et 18 mm (Soloviev *et al.*, 2004). Cependant, les valeurs rapportées au Soudan sont plus élevées en ce qui concerne le poids des fruits (7,1 g), la longueur (27,7 mm) et le diamètre (21,6 mm) que celles rapportées dans la présente étude (Ahmed *et al.*, 2019). Des variations de la morphologie des fruits parmi les populations de la même espèce ont été signalées chez d'autres espèces d'arbres comme *Tamarindus indica* (Okello *et al.*, 2018) et *Acacia Tortilis* (El Ayadi *et al.*, 2012). Les variations observées pourraient être le résultat d'une évolution adaptative en réponse à différents facteurs tels que les conditions environnementales et climatiques.

Par ailleurs, la majorité des fruits analysés dans cette étude ont une forme sphérique comme l'indique le rapport longueur/diamètre des fruits proche de 1. Par ailleurs, au Soudan, il existe une variabilité importante dans la forme des fruits qui varie selon les sites d'une forme sphérique, à ovale à oblongue (Ahmed *et al.*, 2019).

La teneur moyenne en sucres est significativement plus élevée dans les pulpes de fruits du site hyperaride de Yaghref ($45,8 \pm 7,1$ g / 100g de matière sèche (MS)) que dans les autres sites. Sagna *et al.*, 2014 ont trouvé une valeur comparable ($42,60 \pm 0,63$ g / 100 g MS) dans la pulpe sèche des fruits de *B. aegyptiaca* du Sénégal. Cependant, Soloviev *et al.*, 2004 ont signalé une teneur en sucre plus faible (13 g / 100 g MS). La différence de méthode d'analyse utilisée, l'âge du fruit mûr et les origines agro-écologiques des accessions étudiées pourraient expliquer ces variations. La comparaison avec d'autres arbres fruitiers saharo-sahéliens indigènes a montré que la teneur en sucres de la pulpe de fruits de *B. aegyptiaca* est supérieure à celle du Jujube sauvage (*Ziziphus mauritiana*) (20,5 g / 100 g MS) et du Baobab (*Adansonia digitata*) (7,2 à 11,8 g / 100 g de MS) (Danthu *et al.*, 2002; Soloviev *et al.*, 2004).

Les teneurs en humidité de la pulpe de fruits des sites arides d'Aleg (28,1%) et d'Aghchorguit (24,6%) est plus élevées que celles des sites hyperarides de Yaghref (20,3%) et Chami (21,1%). Ces résultats sont proches de ceux rapportés par Soloviev *et al.*, (2004) chez *B. aegyptiaca* fruit du Sénégal (14,6 à 24,1%), mais légèrement supérieur à ceux trouvés par (Moustapha *et al.*, 2014), qui ont rapporté une humidité moyenne de 16%.

Il existe chez certains fruits une relation étroite entre les teneurs en sucre et la teneur en eau. Par exemple, le rapport sucre totaux à la teneur en eau exprimé en indice de qualité (IQ) a été utilisé pour classer les fruits du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) en fruits molles (IQ <2), demi-molles (2 <IQ <4) et secs (IQ > 4)(Reynes *et al.*, 1994). Cet indice renseigne sur l'aptitude du fruit à la conservation.

En conséquence, les fruits de *B. aegyptiaca* analysés dans la présente étude ont montré un mélange de fruits molles et demi-molles pour ce qui concerne leur IQ (Aleg = 1,2; Aghchorguit = 1; Boutilimit = 1,8; Yaghref = 2,2; Chami = 1,4). Un indice de qualité de 2,6 a été rapporté par (Moustapha *et al.*, 2014), chez certains fruits de *B. aegyptiaca* du Sénégal.

Même si nos valeurs indiquent une aptitude à la conservation relativement meilleure chez les fruits de la zone hyper-aride par rapport à ceux de la zone aride, ces résultats ne nous permettent néanmoins pas de faire des conclusions en l'absence d'une connaissance sur la teneur en sucres réducteurs (glucose et fructose) et non réducteurs (saccharose) chez les fruits testés. En effet, selon Reynes *et al.*, (1994), les dattes molles sont souvent riches en glucose et en fructose et ne se prêtent pas à la conservation.

L'acidité titrable exprimée en équivalent acide citrique est significativement plus élevée ($0,3 \pm 0,1$ g / 100 g MS) chez les fruits des arbres d'Aghchorguit (zone aride) et de Yaghref (zone hyperaride). Cette valeur correspond à la quasi-absence d'acidité de la saveur de la pulpe de fruit étudiée. Le jus de pulpe avec le pH le plus bas ($4,7 \pm 0,1$) est celui des arbres Aleg. Les fruits d'Aghchorguit (zone aride) et de Yaghref et Chami (zone hyperaride) ont partagé les valeurs de pH les plus élevées du jus de pulpe ($4,9 \pm 0,1$).

Des différences significatives ont été observées entre les accessions pour l'huile de noyau totale (Tableau 16, Annexe 5). Elle varie entre 43,3 g / 100 g MS dans les accessions de fruits Aleg et 48,9 g / 100 g MS dans les accessions de Yaghref. Les accessions de fruits d'Aghchorguit contiennent un niveau significativement élevé de protéines ($32,5 \pm 0,4$ g / 100 g MS) par rapport aux autres accessions (28,1–29,2 g / 100 g MS). Ces résultats concordent avec ceux rapportés par (Ahmed *et al.*, 2019) chez huit accessions de dattier du désert du Soudan (47,3% pour les lipides et 30% pour les protéines) et par (Mohamed *et al.*, 2002), qui ont rapporté des valeurs de 49% et 32,4% pour la teneur en lipides et en protéines, respectivement, à partir d'une accession de *B. aegyptiaca* du Soudan. La présente étude a montré que la graine du fruit de *B. aegyptiaca* contient plus de lipides que celle de certains oléagineux d'importance agro-industrielle comme l'arganier (*Argania spinosa*) qui possède 36% de lipides (Yousfi *et al.*,

2009). Ce résultat démontre le grand potentiel nutritionnel de cette espèce à côté de son importance écologique dans la lutte contre la désertification au Sahel et au Sahara. En effet, l'importance des lipides dans la nutrition et la santé est connue depuis longtemps. Les graisses sont une source d'énergie majeure pour le corps et aident à l'absorption des vitamines et au développement des tissus. Elles jouent également un rôle important comme antioxydants (National Academy of Science (NAS), 2005; Anhwange *et al.*, 2004).

D'autre part Ahmed *et al.*, (2019) ont trouvé quatre acides gras dans la graine du fruit y compris trois acides gras insaturés (acides oléique, linoléique et linoléique). Ces derniers ajoutent en outre une valeur nutritive à l'huile extraite des graines de *Balanites*.

Le bon rendement en huiles des graines de *B. aegyptiaca* couplé à une forte densité d'arbres en Mauritanie font des zones arides de la Mauritanie un foyer potentiel pour la production des huiles de *Balanites* pour les marchés locaux et extérieurs.

La graine constitue aussi une source importante de protéines. Des teneurs élevées ont ainsi été observées chez les fruits des sites d'étude.

Les données de la littérature ont montré une large gamme de composés bioactifs et un potentiel antioxydant de la pulpe de fruits de *B. aegyptiaca* d'origines diverses (Abdallah *et al.*, 2012; Al-Malki *et al.*, 2015; Mhya *et al.*, 2016; Amadou I *et al.*, 2019; Hussain *et al.*, 2019). Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes trouvées dans la présente étude sont inférieures à celles rapportées par Abdallah *et al.*, 2012 dans des extraits méthanoliques de fruits de *B. aegyptiaca* en provenance du Soudan (respectivement 212 mg GAE / g MS et 11,5 mg QE / g MS). Ces auteurs ont également montré une activité de piégeage dépendante de la dose d'extrait de pulpe contre le radical 2,2-diphényl-1-pyrrylhydrazyle (DPPH) avec une concentration inhibitrice médiane maximale (CI₅₀) de 3µg/mL.

La corrélation entre les composés bioactifs et l'activité anti-oxydante n'a pas été examinée dans la présente étude. Cependant, les données de la littérature ont montré que le pouvoir anti-oxydant de nombreux extraits de plantes médicinales est généralement corrélé à la présence de polyphénols et de flavonoïdes (Hussain *et al.*, 2019).

Sur la base de l'analyse de l'ACP, les fruits de la zone hyperaride (Yaghref et Chami) semblent être les plus intéressants en ce qui concerne les composés bioactifs et l'activité antioxydante.

III.2 Etude de la diversité génétique de *B. aegyptiaca* en utilisant les marqueurs ISSR

III.2.1 Introduction

Avec les deux tiers de sa superficie situés dans le grand désert Saharien de l'Afrique du Nord, la Mauritanie, comme de nombreux autres pays du Sahel, a été confrontée dans les années 1970-1980 à une grave sécheresse qui a eu d'énormes répercussions socio-économiques, environnementales et agro-systémique (exode rural massif, insécurité alimentaire et désertification, perte de la diversité notamment forestière). La biodiversité limitée qui caractérise naturellement les régions arides et désertiques a été considérablement réduite en raison de cette condition environnementale. Des efforts de restauration des écosystèmes basés sur des espèces d'arbres indigènes et économiquement précieuses, capables de s'adapter aux conditions de sécheresse, ont récemment été entrepris au niveau régional (Niang *et al.*, 2014a; Thomas *et al.*, 2014).

En raison de sa grande tolérance à la sécheresse ainsi que de son potentiel de régénération naturelle par les graines, les drageons et par rajeunissement, *B. aegyptiaca* a récemment été identifiée dans le cadre du projet de la grande muraille verte, comme l'une des plantes indigènes pour la restauration de l'écosystème sahélien dégradé. L'évaluation de la diversité génétique des espèces d'arbres indigènes est essentielle pour accompagner les efforts de restauration des écosystèmes.

Une large gamme de marqueurs moléculaires est aujourd'hui disponible pour assister les programmes de gestion des ressources génétiques. Ces marqueurs comprenant entre autres, les RFLP (polymorphisme de longueur de fragment de restriction), les RAPD (Amplification aléatoire de l'ADN polymorphe), le AFLP (Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés), les ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) et les SSR (ou microsatellites) sont largement utilisés pour évaluer la diversité génétique des espèces végétales (Nadeem *et al.*, 2018).

L'ISSR est une technique rapide, rentable et hautement reproductible, basée sur l'amplification par PCR de séquences inter-microsatellites. Les ISSR se révèlent utiles dans l'analyse de la variation génétique intra-spécifique, principalement dans l'étude de la structure et de la différenciation des populations naturelles.

Nous décrivons ici la diversité génétique et la structure des populations naturelles de *Balanites aegyptiaca* dans la zone aride (sahélienne et sahélo-saharienne) et la zone hyper-aride saharienne de Mauritanie à l'aide de 16 amorces ISSR polymorphes.

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une publication dans la revue **scientific reports** à Facteur d'impact 3,998 (Annexe 2) et ils ont été présentés dans deux manifestations internationales sous forme de communication orales.

Selouka Mint Abdelaziz, Leila Medraoui, Mohammed Alami, Ouafae Pakhrou, Meryem Makkaoui, Ali Ould Mohamed Salem Boukhary et Abdelkarim filali-Maltouf. Inter simple sequence repeat markers to assess genetic diversity of the desert date (*Balanites aegyptiaca* Del.) for Saheliane ecosystem restoration. **Sci Rep** 2020 10:14948 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71835-9>

III.2.2 Résultats

III.2.2.1 Polymorphisme des marqueurs ISSR utilisés

Les 16 amorces ISSR utilisées ont généré 505 bandes polymorphes dont la taille varie entre 40 et 3369 pb. L'amorce BTH3 [(AG)₈TC] a produit le plus faible nombre de bandes (21) tandis que l'amorce BTH2[(AG)₈T] en a produit le plus grand nombre (42) avec une moyenne de 31,5 fragments par amorce (Tableau 13). La valeur en information tirée des polymorphismes PIC (polymorphism information content), variait entre de 0,13 à 0,29 pour une moyenne de 0,23. L'indice de marqueur (MI) et le pouvoir de résolution (Rp) étaient en moyenne de 7,28 (extrême 3,3 - 10,3) et 9,9 (extrême 4,5 - 14,6), respectivement.

Tableau 13: Les amorces ISSR utilisées et leurs indices de performances respectifs.

Amorce	Séquence 5' → 3'	TNB ^a	NPB ^b	PIC ^c	MI ^d	Rp ^e
BTH1	(AG) ₈ C	31	31	0,16	5,0	6,9
BTH2	(AG) ₈ T	44	44	0,22	9,6	12,8
BTH3	(AG) ₈ TC	21	21	0,16	3,3	4,5
BTH4	(AG) ₈ CA	38	38	0,25	9,7	13,7
BTH5	(AG) ₈ TA	28	28	0,26	7,3	9,9
BTH6	(AG) ₈ CC	36	36	0,29	10,3	14,6
BTH8	(CT) ₈ G	35	35	0,13	4,7	5,9
BTH9	(CT) ₈ T	26	26	0,28	7,3	10,1
BTH10	(GA) ₈ C	32	32	0,27	8,6	11,8
BTH11	(GA) ₈ CT	36	36	0,17	6,0	7,7
BTH12	(GA) ₈ TT	28	28	0,28	7,9	11,2
BTH13	(GT) ₈ C	24	24	0,26	6,3	8,2
B1	(GT) ₆ CC	31	31	0,26	8,0	10,8
B2	(GT) ₆ GG	28	28	0,25	6,9	9,3
TH1	(GT) ₆ CG	32	32	0,23	7,4	10,0
TH2	(GT) ₆ TG	35	35	0,23	8,1	11,1
Moyenne		31,5	31,5	0,23	7,3	9,9

^aTNB: nombre total de bandes; ^bNPB: nombre de bandes polymorphes; ^cPIC: information contenu d'information sur le polymorphisme ; ^dMI: indice de marqueurs; ^eRp: pouvoir de résolution.

A l'échelle de la population, le nombre d'allèles observés (Na) variait de 0,62 à 1,39 avec une moyenne de 1,12, tandis que le nombre effectif d'allèles (Ne) variait de 1,13 à 1,23 avec une moyenne de 1,2 (Tableau 14). L'indice de Shannon (I) se situe entre 0,13 et 0,24, pour une moyenne de 0,21.

Tableau 14 : Diversité génétique des populations de *B. aegyptiaca* étudiées en Mauritanie.

Code	Population	Na ^a	Ne ^b	Pa ^c	I ^d	%P ^e
1	Aleg	1,3	1,23	9	0,24	64,75%
2	Yaghref_1	1,36	1,23	8	0,24	67,33%
3	Yaghref_2	1,39	1,21	9	0,24	68,32%
4	Boutilimit	1,3	1,23	14	0,24	64,16%
5	Agchorguit	1,23	1,21	2	0,22	61,19%
6	Tazyazet	0,62	1,14	5	0,13	30,10%
7	Chami	0,63	1,13	11	0,13	30,30%
Average		1,12	1,2	8,29	0,21	55,16%

Na^a: nombre d'allèles observés; Ne^b: nombre effectif d'allèles; Pa^c: Allèles privés ; I^d: Indice d'information de Shannon; %P^e: pourcentage de loci polymorphes.

Le pourcentage le plus élevé de loci polymorphes (P = 68,32 %) a été observé chez la population de Yaghref 2 et le plus faible (P = 30,1 %) dans la population de Tazyazet.

L'étude de la diversité allélique dans la population a été réalisée à l'aide du logiciel GenAlex (version 6,5). Sur 91 arbres utilisés dans la présente étude, 2005 allèles ont été détectés (données non présentées). La richesse allélique variait de 163 dans le Tazyazet à 357 dans le Yaghref 2. Les populations de la zone sahélienne (Aghchorguit et Boutilimit) avaient respectivement le nombre le plus faible (2) et le plus élevé (14) d'allèles privés. Les allèles communs à l'échelle locale variaient de 21 dans la population de Tazyazet à 75 dans celle de Yaghref 2, toutes deux en zone saharienne.

III.2.2.2 Différenciation génétique et flux de gènes

Le coefficient de différenciation génétique (GST) entre les populations et le flux de gènes (Nm) étaient respectivement de 0,21 et 1,91. L'analyse de la variance moléculaire a montré que 20% de la variance moléculaire se situait entre les populations (Tableau 15).

Tableau 15 : Analyse moléculaire de variance des populations mauritaniennes de *B. aegyptiaca*.

Source	dl ^a	SC ^b	CM ^c	Est. Var. ^d	%
Among Populations	6	1209,682	201,614	11,893	20
Within Populations	84	4087,373	48,659	48,659	80
Total	90	5297,055		60,552	100

^aDL : degré de liberté ; ^bSC : sommes des carrées ; ^cCM : carrée moyen ; ^dEst. Var. : variation estimée.

III.2.2.3 Analyse des groupes

A partir de la matrice de données ISSR, un dendrogramme utilisant la méthode UPGMA a été construit sur la base du coefficient de similarité de Jaccard (Figure 28, Annexe 8). Le dendrogramme obtenu a réparti les populations en deux groupes principaux ; le plus grand contient cinq populations géographiquement éloignées (Aleg, Aghchorguit, Boutilimit, Yaghref1, Yaghref2). Le deuxième regroupe les deux populations Tazyazet et Chami, toutes deux de la zone saharienne. Certaines populations appartenant à de régions différentes se trouvent dans le même sous-groupe et ont montré de fortes similitudes entre elles.

III.3.2.4 Analyse des coordonnées principales

L'analyse des coordonnées principales a été effectuée pour fournir une représentation spatiale de la diversité génétique parmi les populations étudiées (Figure 25). Les deux premiers axes représentaient 21,3 % de la variance totale (12,37 % et 8,93 %, respectivement). La figure obtenue a confirmé le schéma de regroupement observé en utilisant l'analyse UPGMA et la classification des populations de *B. aegyptiaca* en deux groupes principaux. En effet, les populations de Chami et Tazyazet de la zone saharienne sont génétiquement éloignées du reste des populations (Aleg, Agchorguit, Boutilimit, Yaghref 1 et Yaghref 2).

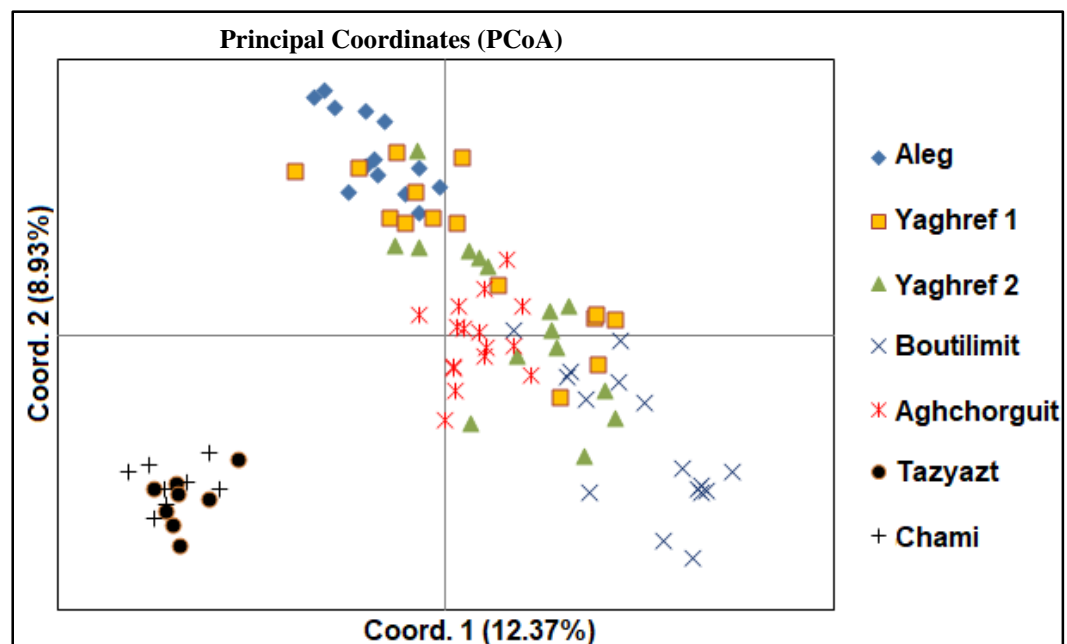


Figure 25 : Projection des arbres de *B. aegyptiaca* des 7 populations d'études sur le plan engendré par les axes 1-2 de l'analyse des coordonnées principales.

II.2.2.5 Analyse de la structure génétique

Pour déterminer la structure génétique des populations et confirmer les résultats obtenus par le dendrogramme et PCoA, une analyse bayésienne a été réalisée en utilisant le logiciel

structure v2.3.4 (figure 26). La log-vraisemblance maximale donnée par STRUCTURE et la méthode ΔK était $K = 2$ suivie par $K = 5$ indiquant que les populations de *B. aegyptiaca* étudiées peuvent être regroupées en deux populations principales et cinq sous-populations. Les populations de Tazyazet et Chami forment un seul cluster à $K = 2$ et à $K = 5$. Et les populations Aleg, Agchorguit, Boutilimit, Yaghref 1 et Yaghref 2 sont plus similaires entre elles et forment un groupe génétique à $K = 2$. Ce groupe est séparé en 4 sous-groupes à $K = 5$. Ces résultats de STRUCTURE à $K = 2$ ont confirmé les résultats obtenus par UPGMA et PCoA en divisant les sept populations en deux groupes principaux.

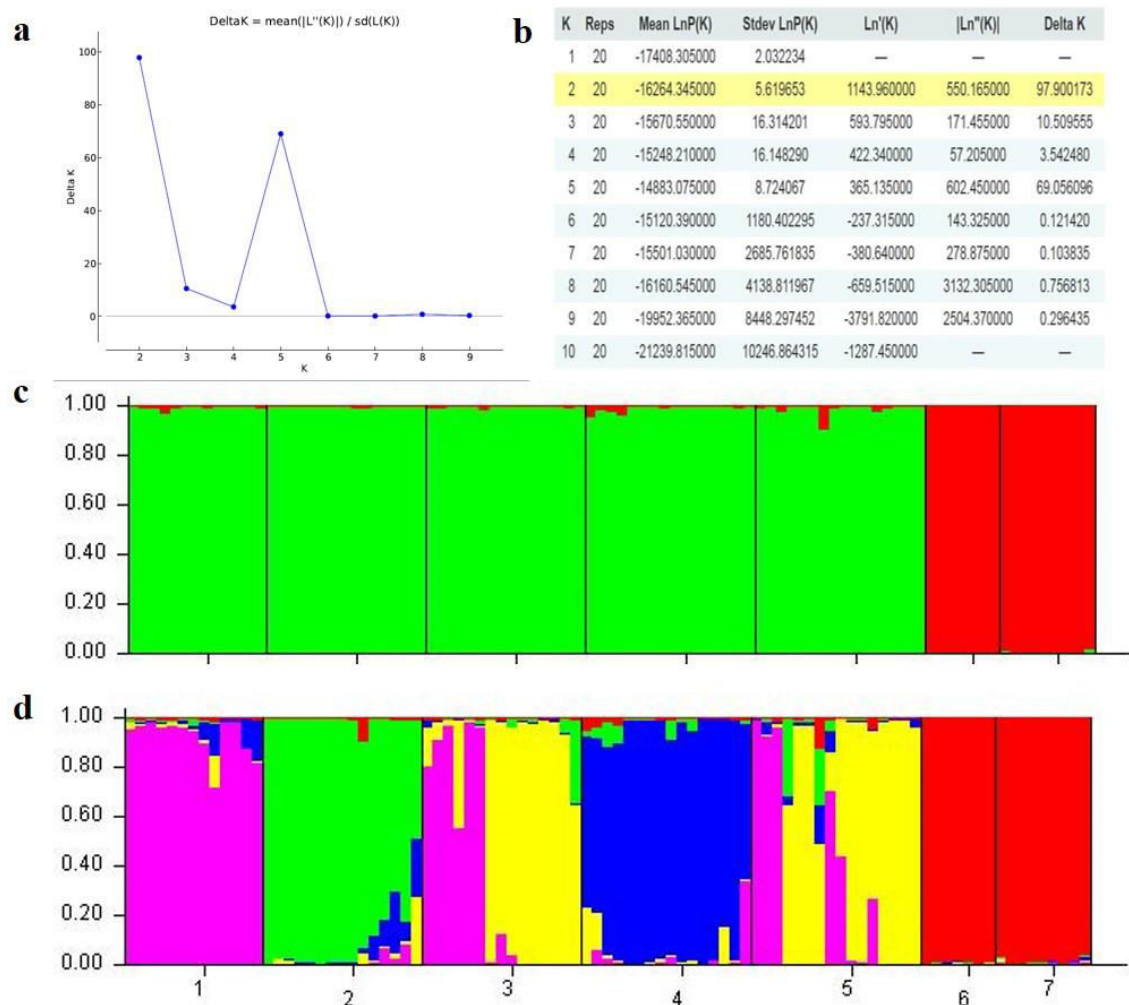


Figure 26 : Analyse de la structure bayésienne de sept populations de *B. aegyptiaca* obtenue par le logiciel structure.

III.2.3 Discussion

Dans la présente étude, la diversité génétique de sept populations naturelles de *B. aegyptiaca* de différents étages bioclimatiques en Mauritanie a été évaluée à l'aide d'un ensemble d'amorces ISSR. L'étude a révélé un nombre important de marqueurs (505 bandes

polymorphes) chez les 16 amorces ISSR testées, comparé à celui signalé chez les populations de *B. aegyptiaca* d'Egypte (177 bandes et 17 amorces ISSR) (Domyati *et al.*, 2011). Cependant, le contenu en information des polymorphismes (PIC) obtenu dans notre étude (0,23), est inférieur à celui rapporté par Domyati *et al.*, (2011) qui ont trouvé une valeur de PIC de 0,37. Des valeurs variables du PIC d'autres espèces dicotylédones pérennes telles que le jujub (*Z. mauritiana*) (PIC = 0,42) et le chêne-liège (*Quercus suber* L.) (PIC = 0,28) ont été signalées (Singh *et al.*, 2007; Laakili *et al.*, 2018). De plus, l'indice de marqueur (MI) des populations de la présente étude (MI = 7,3) était très faible comparé à celui de 53,34 trouvé par Domyati *et al.*, (2011) chez le *B. aegyptiaca* en utilisant le marqueur ISSR. La différence d'informativité et de performance des marqueurs entre notre étude et celle de Domyati et ses collaborateurs pourrait être le résultat de la différence des amorces utilisées et du background génétique des populations testées. Néanmoins, le niveau de polymorphisme trouvé dans notre étude est conforme à celui rapporté pour des espèces pérennes similaires à longue durée de vie telles que le chêne liège (Laakili *et al.*, 2018) et le baobab (*Adansonia digitata*) (Munthali *et al.*, 2013).

De plus, les populations naturelles de *B. aegyptiaca* de la zone saharienne sont soumises à plusieurs pressions d'origine anthropique (besoin de bois de chauffe), animale (pâturage principalement de dromadaires) et environnementale (aridité extrême), qui pourraient être probablement à l'origine de la faible variabilité génétique observée.

Il est à noter que les arbres de *B. aegyptiaca* dans cette région désertique, qui constitue probablement la limite nord de la répartition de l'espèce dans le pays, sont par ailleurs très dispersés et peu abondants. En outre, la présence d'allèles privés, notamment chez les populations sahariennes suggère que certains d'entre eux pourraient être impliqués dans l'adaptation à l'environnement local impliquant ainsi leur possible utilisation pour la caractérisation des populations de *B. aegyptiaca*.

Les données de l'analyse moléculaire de la variance (AMOVA) et de la différenciation génétique (G_{ST}) renseignent également sur le niveau de différenciation intra- et inter-population de *B. aegyptiaca*. En effet, l'AMOVA a montré que 80% des variations génétiques globales étaient attribuées à des variations au sein des populations plutôt qu'entre les populations ($G_{ST} = 0,2$). Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par Alansi *et al.*, (2016) chez *Ziziphus spina-christi* L. ($G_{ST} = 0,17$), Singh *et al.*, (2017) chez *Z. mauritiana* ($G_{ST} = 0,37$), Medhi *et al.*, (2014) chez *Xanthoxylum spp.* ($G_{ST} = 0,24$) et Yatrib *et al.*, (2015) chez *Argania spinosa* ($G_{ST} = 0,39$).

En outre, il a été observé en Egypte que 100% de la variation totale des populations de *B. aegyptiaca* était attribuée à des variations intra-populations Domyati *et al.*, (2011). Le niveau

élevé de différenciation intra-population chez *B. aegyptiaca* est caractéristique des espèces végétales à longue durée de vie, à pollinisation croisée et à large distribution Hamrick *et al.*, (1992). A titre d'exemple, un taux d'allo-pollinisation de 37% a été rapporté chez *B. aegyptiaca* du Sénégal. Cette pollinisation croisée est provoquée par le vent et les insectes Ndoye *et al.*, (2004a).

Signalons que dans cette étude, des populations géographiquement éloignées étaient génétiquement apparentées, comme le révèle l'analyse des coordonnées principales, le dendrogramme (UPGMA) basé sur le coefficient de similarité génétique de Jaccard et l'analyse de la structure génétique de populations. Ce résultat peut s'expliquer par l'absence de barrières entre les régions étudiées et un flux de gènes efficient ($Nm = 1,91$).

Un des facteurs qui pourrait maintenir le flux de gènes entre des populations géographiquement séparées est la dissémination des graines par le pâturage des animaux (Hamrick *et al.*, 1992). Dans le cas de *B. aegyptiaca*, une des espèces fourragères préférées du dromadaire, les graines sont facilement transférées lors du pâturage des chameaux d'une zone à l'autre pendant la transhumance à travers le Sahara, ce qui expliquerait pourquoi cette espèce est commune au Sahel et au Sahara. Le caractère médicinal de la plante particulièrement de la graine pourrait aussi contribuer à la dispersion de l'espèce, lors du transport des graines à des fins de commerce entre différentes régions et donc au maintien d'un flux de gène pouvant être à l'origine des liens génétiques entre population géographiquement éloignées.

À notre connaissance, cette étude est la première de son genre portant sur la diversité génétique de *B. aegyptiaca* de Mauritanie. Elle démontre que les marqueurs ISSR offrent une approche utile pour caractériser la diversité génétique intra et inter-populations de *B. aegyptiaca*. D'autres études pour analyser la diversité génétique en utilisant d'autres amorces ISSR et d'autres populations de *B. aegyptiaca* pourraient aider à la sélection des plantes d'intérêt dans un programme de domestication de cette espèce. En outre, il est utile de mener des études comparatives avec différents systèmes de marqueurs moléculaires et même morphologiques.

Conclusion générale, perspectives

Conclusion générale, perspectives

Le *B. aegyptiaca* est l'une des espèces d'arbres les plus répandues en Afrique, il joue un rôle très important dans la vie quotidienne des populations, en offrant une protection contre la désertification, fournit de la nourriture pour l'homme et ses bétails en plus de nombreuses utilisations médicinales. Dans ce travail, on s'est fixé l'objectif d'évaluer la variabilité existante entre différentes populations naturelles de *B. aegyptiaca* appartenant à différents étages bioclimatiques de la Mauritanie en utilisant des traits morphologiques, physico-chimiques et moléculaires, en essayant de générer des outils efficaces, fiables et reproductibles pour valoriser et conserver ces peuplements naturels et de faire une bonne gestion et une exploitation rationnelle de ces ressources et surtout une meilleure restauration des écosystèmes saharo-sahéliens avec des espèces endogènes qui constituent un pool génétique important.

A partir de cette étude, il ressort que le fruit de *B. aegyptiaca* possède des propriétés physicochimiques importantes, des composés bioactifs et une activité anti-oxydante très importante qu'il convient de prendre en compte dans les programmes de gestion de cette espèce indigène négligée.

Les marqueurs moléculaires utilisés sont hautement polymorphes, ils ont révélé une diversité génétique élevée au sein des populations et une différenciation génétique faible entre les populations étudiées. Ceci peut s'expliquer par l'existence d'un niveau d'échange de gènes assez important entre les populations. Les résultats obtenus par UPGMA, PCoA, et Analyse bayésienne de la structure génétique ont montré une similarité génétique entre des populations géographiquement éloignées. Cela est dû principalement au mode de reproduction de *B. aegyptiaca* (anémophile et entomophile). Par ailleurs, les deux populations sahariennes (chami et tazyazet) ont montré une diversité génétique très faible par rapport au reste des populations, ce qui signifie que ces populations souffrent d'une érosion génétique due à une surexploitation et à la dégradation de l'environnement saharien hostile dans lequel elles évoluent.

Cette érosion génétique des populations de *B. aegyptiaca* est à surveiller car elle est révélatrice d'une forte pression sur les peuplements naturels de cette espèce. Donc il serait essentiel de faire une attention particulière pour restaurer et préserver ces populations menacées d'extinction.

En perspectives, nous envisageons :

- Elargir l'étude sur l'aire de distribution de *B. aegyptiaca* en Mauritanie
- D'approfondir notre étude en diversité génétique en utilisant d'autres marqueurs codominants (SSR et SNP)

Recommandations

- Mettre en place des stratégies efficaces pour la conservation (in situ et ex situ) de ce patrimoine génétique mauritanien
- Constituer des parcs à bois pour la multiplication de *B. aegyptiaca*
- Promouvoir des programmes de plantation et de réhabilitation des écosystèmes dégradés en Mauritanie

***Références
bibliographiques***

Références bibliographiques

Abasse, T., Weber, J.C., Katkore, B., Boureima, M., Larwanou, M., et Kalinganire, A. (2011). Morphological variation in *Balanites aegyptiaca* fruits and seeds within and among parkland agroforests in eastern Niger. *Agrofor. Syst.* 81, 57–66.

Abdallah, E.M., Hsouna, A.B., et Al-Khalifa, K.S. (2012). Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigation of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. edible fruit from Sudan. *Afr. J. Biotechnol.* 11, 11535–11542.

Abdallahi ould Med Vall (1996). Contribution a l'étude bioclimatique, biopedologique, floristique et ethnobotanique de la flore ligneuse et subligneuse de la zone du R'kiz du Trarza Mauritanien. Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta DIOP de Dakar.

Abdel Hafeez S (1999). Recovery of saponin from *Balanites aegyptiaca* by foaming. Thesis in chemical engineering. Chemical Engineering Department. Faculty of engineering and Arch. U of K.

Abdel-Rahim, E.A., El-Saadany, S.S., et Wasif, M.M. (1986). Biochemical dynamics of hypocholesterolemic action of *Balanites aegyptiaca* fruit. *Food Chem.* 20, 69–78.

Abdoulaye, B., Béchir, A.B., et Mapongmetsem, P.M. (2016). Variabilité morphologique de *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. dans la région du Ouaddaï au Tchad. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10, 1733–1746.

Abdoulaye, B., Bechir, A.B., et Mapongmetsem, P.M. (2017). Utilités socioéconomiques et culturelles du *Balanites aegyptiaca* (L.) Del.(Famille Zygophyllaceae) chez les populations locales de la Région du Ouaddaï au Tchad. *J. Appl. Biosci.* 111, 10854–10866.

Abdoun, S.M.O., Abdelgadir, A.Y., et Elamin, M.E. (2017). The effect of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. fruit's shape and location on its chemical constituents. *Adv Ecol Env. Res* 2, 461–473.

Abu-Al-Futuh, I.M. (1983). *Balanites aegyptiaca*: an unutilized raw material potential ready for agro-industrial exploitation (United Nations Industrial Development Organization).

Agarwal, M., Shrivastava, N., et Padh, H. (2008). Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.* 27, 617–631.

Ahmed, A.A.O., Kita, A., Nemš, A., Miedzianka, J., Foligni, R., Abdalla, A.M.A., et Mozzon, M. (2019). Tree-to-tree variability in fruits and kernels of a *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. population grown in Sudan. *Trees.* 1–9.

Al Ashaal, H.A., Farghaly, A.A., El Aziz, M.A., et Ali, M.A. (2010). Phytochemical investigation and medicinal evaluation of fixed oil of *Balanites aegyptiaca* fruits (Balantiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 127, 495–501.

Alansi, S., Tarroum, M., Al-Qurainy, F., Khan, S., et Nadeem, M. (2016). Use of ISSR markers to assess the genetic diversity in wild medicinal *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd. collected from different regions of Saudi Arabia. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 30, 942–947.

Al-Malki, A., Barbour, E., Abulnaja, K., et Moselhy, S. (2015). Management of hyperglycaemia by ethyl acetate extract of *Balanites aegyptiaca* (desert date). *Molecules.* 20, 14425–14434.

Al-Thobaiti S., Abu Zeid, I. (2018). Medicinal Properties of Desert Date Plants (*Balanites aegyptiaca*)—An Overview. *Global Jour Pharm.* 12(1), 01-12.

Amadou, I., et Le, G.W. (2017). Nutritional and sensory attributes of desert date (*Balanites aegyptiaca*) juice. *J. Food Meas. Charact.* *11*, 1978–1986.

Amadou I, Ilagouma A.T, Soumana O.S, et Cheng X-R (2019). Biochemical Composition and Sensory Evaluation of Desert Date Flowers (*Balanites aegyptiaca* Del) Infusion. *Curr Res Nutr Food Sci J* *7*.

Analytique-BIPEA, B. interprofessionnel d'étude (1976). Recueil des méthodes d'analyse des communautés Européennes (BIPEA).

Anhwange, B.A., Ajibola, V.O., et Oniye, S.J. (2004). Chemical studies of the seeds of *Moringa oleifera* (Lam) and *Detarium microcarpum* (Guill and Sperr).

Aubergon, J. (1987). Elements de réflexion pour une stratégie dans l'amélioration variétale des arbres fruitiers (exemple de l'abricotier). *Fruits* *42*, 725–734.

Baragob, A.E.A., Al-Malki, W.H., Shahid, I., Bakhdhar, F.A., Bafhaid, H.S., et Eldeen, O.M.I. (2014). The hypoglycemic effect of the aqueous extract of the fruits of *Balanites aegyptiaca* in Alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacogn. Res.* *6*, 1.

Beka, R.G., Guiama, V.D., Delmont, A., Donn, P., Slomianny, M.-C., Libouga, D.G., Mbofung, C.M., Guillochon, D., et Vercaigne-Marko, D. (2011). Glycosyl part identified within *Balanites aegyptiaca* fruit protease. *Int. J. Biol. Macromol.* *49*, 397–401.

Benettayeb, Z.I. (2018). Caractérisation moléculaire et morphologique du figuier (*Ficus carica*L.) d'Algérie. Thèse de doctorat, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf.

Berge, G., Diallo, D., et Hveem, B. (2005). Les plantes sauvages du Sahel malien: les stratégies d'adaptation à la sécheresse des Sahéliens (KARTHALA Editions).

Berte, C.J., Ould mohamed, M., et Ould Saleck, M. (2010). Lutte contre l'ensablement l'exemple de la Mauritanie (Rome: FAO).

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., et Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* *28*, 25–30.

Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* *56*, 317–333.

Bretting, P.K., et Widrechner, M.P. (1995). Genetic markers and plant genetic resource management. *13*, 11–86.

Cardle, L., Ramsay, L., Milbourne, D., Macaulay, M., Marshall, D., et Waugh, R. (2000). Computational and experimental characterization of physically clustered simple sequence repeats in plants. *Genetics.* *156*, 847-854.

Chapagain, B.P., et Wiesman, Z. (2007). Determination of saponins in the kernel cake of *Balanites aegyptiaca* by HPLC-ESI/MS. *Phytochem. Anal. Int. J. Plant Chem. Biochem. Tech.* *18*, 354–362.

Chapagain, B.P., Yehoshua, Y., et Wiesman, Z. (2009). Desert date (*Balanites aegyptiaca*) as an arid lands sustainable bioresource for biodiesel. *Bioresour. Technol.* *100*, 1221–1226.

Chemists, A. of O.A. (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (The Association).

Chevallier, M.-H., Bensaid, S., Diallo, O.B., Sahki, R., Ganaba, S., Sanou, J., Bouguedoura, N., Vaillant, A., et Babin, D. (2003). Biodiversité et multidisciplinarité: méthodologie pour les zones arides. *Bois For. Trop.* 33–41.

Chothani, D., et Vaghasiya, H. (2011). A review on *Balanites aegyptiaca* Del (desert date): phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activity. *Pharmacogn. Rev.* 5, 55–62.

Danthu, P., Soloviev, P., Totté, A., Tine, E., Ayessou, N., Gaye, A., Niang, T.D., Seck, M., et Fall, M. (2002). Caractères physico-chimiques et organoleptiques comparés de jujubes sauvages et des fruits de la variété Gola introduite au Sénégal. *Fruits* 57, 173–182.

De Vienne, D. (1998). Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales (Quae).

Dial Ndiaye, F. (1997). Contribution a l'étude chimique et biochimique des graines de *Balanites aegyptiaca* (L.) Del.(simarubaceae) et de parinari macrophylla sabine (rosaceae). Thèse de doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Domyati, F.M., Younis, R.A., Edris, S., Mansour, A., Sabir, G., et Bahieldin, A. (2011). Molecular markers associated with genetic diversity of some medicinal plants in Sinai. *J. Med. Plants Res.* 5, 200–210.

Dubois, M., et Gillet, K.A. (1956). Dosage des sucres totaux à l'ortho-toluidine. *J Agr Food Chem* 13, 137.

Earl, D.A., et vonHoldt, B.M (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4, 359–361.

El Ayadi, F., Msanda, F., Baniaameur, F., et El Mousadik, A. (2012). Morphological and shape pods variability of *Acacia tortilis* ssp. *raddiana* (Savi) Brenan in south of Morocco. *Int. J. Plant Breed. Genet.* 6, 151–167.

Elfeel, A.A. (2004). Genecology and conservation status of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Sudan Ph Thesis Sudan Univ. Sci. Technol.

Elfeel, A.A., et Warrag, E.I. (2011). Uses and conservation status of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del.(Hegleig Tree) in Sudan: Local people perspective. *Asian J. Agric. Sci.* 3, 286–290.

Evanno, G., Regnaut, S., et Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14, 2611–2620.

Fetzner, JW Jr., et Crandall, KA. (1999) Genetic variability within and among populations of the golden crayfish (*Oronectes luteus*): a comparison using amplified fragment length polymorphism (AFLPs) and mitochondrial 16S gene sequences. *Freshwater Crayfish* 12. 396 – 412.

Fortin, D., Lô, M., et Maynard, G. (1997). Plantes médicinales du Sahel, série Études et Recherches nos 187–188–189. Enda-Éditions Dakar P 280.

Gad, M.Z., El-Sawalhi, M.M., Ismail, M.F., et El-Tanbouly, N.D. (2006). Biochemical study of the anti-diabetic action of the Egyptian plants Fenugreek and *Balanites*. *Mol. Cell. Biochem.* 281, 173–183.

Gardette, J.-L., et Baba, M. (2013). FTIR and DSC studies of the thermal and photochemical stability of *Balanites aegyptiaca* oil (Toogga oil). *Chem. Phys. Lipids* 170–171, 1–7.

Glèlè, K.R., Salako, V.K., Padonou, E.A., et Lykke, A.M. (2016). Méthodes statistiques multivariées utilisées en écologie. *Ann. Sci. Agron.* 20, 139–157.

Godwin, I.D., Aitken, E.A., et Smith, L.W. (1997). Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. *Electrophoresis* 18, 1524–1528.

Goldblatt, P. (1979). Miscellaneous chromosome counts in angiosperms, II. Including new family and generic records. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 856–861.

Gouda, M.A. (2015). Common pitfalls in reporting the use of SPSS software. *Med. Princ. Pract.* 24, 300.

Gour, V.S., et Kant, T. (2012). *Balanites aegyptiaca* (L.) Del.: a multipurpose and potential biodiesel tree species of the arid regions. *Int J Sci Nat* 3, 472–488.

Gupta, S.C., Shenoy, S., et Kotecha, M. (2012). Pharmacognostical and phytochemical evaluation of *Balanites aegyptiaca* Linn. Delile stem bark. *Int Res J Pharm* 3, 169–173.

Hall, J.B. (1992). Ecology of a key African multipurpose tree species, *Balanites aegyptiaca* (Balanitaceae): the state-of-knowledge. *For. Ecol. Manag.* 50, 1–30.

Hall J.B, et Walker D.H (1991). *Balanites aegyptiaca*: a Monograph (School of Agricultural and Forestry Sciences Publication, University of Wales, Bangor).

Hamrick, J.L., Godt, M.J.W., et Sherman-Broyles, S.L. (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *Popul. Genet. For. Trees* 95–124.

Hardman, R., et Sofowora, E.A. (1971). Effect of enzymes on the yield of steroidal sapogenin from the epicarp and mesocarp of *Balanites aegyptiaca* fruit. *Planta Med.* 20, 124–130.

Hollman, P.C., et Katan, M.B. (1998). Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. In *Diversification in Toxicology—Man and Environment*, (Springer), pp. 237–248.

Hussain, S.A.M., Velusamy, S., et Muthusamy, J. (2019). *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. for dermatophytoses: Ascertaining the efficacy and mode of action through experimental and computational approaches. *Inform. Med. Unlocked* 15, 100177.

Jaaska, V. (2005). Isozyme variation and phylogenetic relationships in *Vicia* subgenus *Cracca* (Fabaceae). *Ann. Bot.* 96, 1085–1096.

Jain, S.K., et DeFilippis, R.A. (1991). *Medicinal plants of India*. (Reference Publications).

Kamel, M.S. (1998). A furostanol saponin from fruits of *Balanites aegyptiaca*. *Phytochemistry* 48, 755–757.

Kamel, M.S., Ohtani, K., Kurokawa, T., Assaf, M.H., El-Shanawany, M.A., Ali, A.A., Kasai, R., Ishibashi, S., et Tanaka, O. (1991). Studies on *Balanites aegyptiaca* fruits, an antidiabetic Egyptian folk medicine. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 39, 1229–1233.

Karp, A., et Edwards, K. (1997). Molecular techniques in the analysis of the extent and distribution of genetic diversity. In: Ayad, W., Hodgkin, T., Jaradat, A., Rao, V. (eds.), *Molecular genetic techniques for plant genetic resources*, 9-11 October 1995, IPGRI, Rome, Italy, pp 11-22.

Khamis, G., Schaarschmidt, F., et Papenbrock, J. (2017). Genetic diversity among populations of the xerophytic tree species *Balanites aegyptiaca* and its morpho-physiological responses to water deficiency. *Afr. J. Agric. Res.* 12, 3252–3269.

Kim, D.-O., Chun, O.K., Kim, Y.J., Moon, H.-Y., et Lee, C.Y. (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6509–6515.

Kjeldahl, C. (1883). A new method for the determination of nitrogen in organic matter. *Z Anal Chem* 22, 366.

Kremer, A. (1994). Diversité génétique et variabilité des caractères phénotypiques chez les arbres forestiers. *Genet. Sel. Evol.* 26, S105.

Kumar, P., Gupta, V.K., Misra, A.K., Modi, D.R., et Pandey, B.K. (2009). Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics* 2, 141.

Laakili, A., Belkadi, B., Medraoui, L., Alami, M., Yatrib, C., Pakhrou, O., Makhloufi, M., El Antry, S., Laamarti, A., et Filali-Maltouf, A. (2018). Diversity and spatial genetic structure of natural Moroccan *Quercus susber* L. assessed by ISSR markers for conservation. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 24, 643–654.

Liu, D. (2008). *Handbook of Listeria monocytogenes* (CRC press).

Mangenot, S., et Mangenot, G. (1957). Nombres chromosomiques nouveaux chez diverses Dicotyledones et Monocotyledones d’Afrique occidentale. *Bull. Jard. Bot. L’État Brux.* 27, 639.

Matig, O.E., Ndoye, O., Kengue, J., et Awono, A. (2006). Les fruitiers forestiers comestibles du Cameroun (Bioversity International).

Medhi, K., Sarmah, D.K., Deka, M., et Bhau, B.S. (2014). High gene flow and genetic diversity in three economically important *Zanthoxylum Spp.* of Upper Brahmaputra Valley Zone of NE India using molecular markers. *Meta Gene* 2, 706–721.

Mhya, D.H., Amigo, K.M., Umar, I.A., et Alegbejo, J.O. (2016). Evaluation of hypoglycemic potential of extracts of *Balanites aegyptiaca* parts. *Int J Innov. Adv. Stud.* 3, 135–138.

Mohamed, A.M., Wolf, W., et Spiess, W.E.L. (2002). Physical, morphological and chemical characteristics, oil recovery and fatty acid composition of *Balanites aegyptiaca* Del. kernels. *Plant Foods Hum. Nutr.* 57, 179–189.

Mohamed Vall, A. (2009). Contribution à l’étude des plantes médicinales de Mauritanie. *Ann Univ Lomé Togo* 17, 9–27.

Morgante, M., et Olivieri, AM. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant. J.* 3, 175–182.

Moustapha, B.S., Aly, D., Papa, S.S., Ousmane, N., Deborah, G., et Aliou, G. (2014). Biochemical composition and nutritional value of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del fruit pulps from Northern Ferlo in Senegal. *Afr. J. Biotechnol.* 13, 336–342.

Munthali, C.R.Y., Chirwa, P.W., Changadeya, W.J., et Akinnifesi, F.K. (2013). Genetic differentiation and diversity of *Adansonia digitata* L (baobab) in Malawi using microsatellite markers. *Agrofor. Syst.* 87, 117–130.

Nadeem, M.A., Nawaz, M.A., Shahid, M.Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., et Labhane, N. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 32, 261–285.

NAS 2005. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients) Executive Summary. URL: <http://www.nap.edu/openbook.php?isbn=0309085373>.

Ndoye, M. (2004a). Biologie de la reproduction et potentialités organogènes in vitro chez *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Thèse de doctorat de 3ème cycle de Biologie Végétale. FST-UCAD.

Ndoye, M. *et al* (2004b). Reproductive biology in *Balanites aegyptiaca* (L.) Del., a semi-arid forest tree. *Afr. J. Biotechnol.* 3, 40–46.

Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 70, 3321–3323.

Niang, K., Ndiaye, O., Diallo, A., et Guisse, A. (2014a). Flore et structure de la végétation ligneuse le long de la Grande Muraille Verte au Ferlo, nord Sénégal. *J. Appl. Biosci.* 79, 6938–6946.

Niang, K., Sagna, M.B., Ndiaye, O., Thiaw, A., Diallo, A., Akpo, L.E., Saleh, M.M., Diome, N., Diatta, S., et Faye, M.N. (2014b). Revisiting tree species availability and usage in the Ferlo region of Senegal: a rationale for indigenous tree planting strategies in the context of the Great Green Wall for the Sahara and the Sahel Initiative. *J. Exp. Biol. Agric. Sci.* 2, 529–537.

Nour, A.-A.A., Ahmed, A.-H.R., et Abdel-Gayoum, A.-G.A. (1985). A chemical study of *Balanites aegyptiaca* L.(Lalob) fruits grown in Sudan. *J. Sci. Food Agric.* 36, 1254–1258.

Oh, T.J., Gorman, M., et Cullis, C.A. (2000). RFLP and RAPD mapping in flax (*Linum usitatissimum*). *Theor. Appl. Genet.* 101, 590–593.

Okello, J., Okullo, J.B.L., Eilu, G., Nyeko, P., et Obua, J. (2018). Morphological variations in *Tamarindus indica* LINN. Fruits and seed traits in the different agroecological zones of Uganda. *Int. J. Ecol.* 2018.

Pakhrou, O. (2017). Évaluation de la diversité génétique des populations naturelles d'arganier (*Argania spinosa* L.) par les marqueurs moléculaires AFLP et les éléments transposables, constitution d'une core collection et détection des «outliers». Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Rabat.

Pasqualone, A. (2013). Cultivar identification and varietal traceability in processed foods: A molecular approach. In *Cultivars: Chemical Properties, Antioxidant Activities and Health Benefits*; Carbone, K., Ed.; Nova Science Publishers: Hauppauge, NY, USA.83–105.

Peakall, R., et Smouse, P.E. (2012). GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. *Bioinformatics* 28, 2537–2539.

Peakall, R.O.D., et Smouse, P.E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Resour.* 6, 288–295.

Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., et Rafalski, A. (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.* 2, 225–238.

Prevost, A., et Wilkinson, M.J. (1999). A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 98, 107–112.

Quentin, M., Bellefontaine, R., et Boffa, J.-M. (2006). Le drageonnage pour la régénération d'espèces médicinales en Afrique tropicale: cas du *Spathodea campanulata* en Ouganda. *VertigO- Rev. Électronique En Sci. Environ.* 7.

Ram, H., Kumar, A., Sharma, S.K., et Rao, S.R. (2008). Genetic variation and chromosomal mosaicism in the natural populations of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. from Rajasthan, India. *J. Sustain. For.* 26, 328–343.

Rand, D.M. (1996). Neutrality tests of molecular markers and the connection between DNA polymorphism, demography, and conservation biology. *Conserv. Biol.* 10, 665–671.

Retallick, S.J., et Sinclair, F.L. (1992). Primary observation of precocious flowering in *Balanites aegyptiaca* (L.) Del.

Reynes, M., Bouabidi, H., Piombo, G., et Risterucci, A.-M. (1994). Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djérid en Tunisie. *Fruits* 49, 289–298.

Rohlf, F.J. (1997). NTSYS-pc Version. 2.02 i Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Applied Biostatistics Inc., Exeter Software. Setauket N. Y.

Roldàn-Ruiz, I., Dendauw, J., Van Bockstaele, E., Depicker, A., et De Loose, M. (2000). AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Mol. Breed.* 6, 125–134.

Sagna, M.B., Niang, K.S., Guisse, A., et Goffner, D. (2014). *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile: distribution géographique et connaissances ethnobotaniques des populations locales du Ferlo (nord Sénégal). *Biotechnol. Agron. Société Environ.* 18, 503–511.

Salve, K.M. (2016). Pharmacognostic effectiveness of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. *Int. J. Res. Biosci. Agric. Technol.* 4, 165–167.

Sands, M.J. (2001). The desert date and its relatives: A revision of the genus *Balanites*. *Kew Bull.* 1–128.

Sheahan, M.C., et Chase, M.W. (2000). Phylogenetic relationships within Zygothylaceae based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on Zygothylloideae. *Syst. Bot.* 25, 371–384.

Singelton, V.L., et Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16, 144–158.

Singh, A.K. *et al* (2007). Assessment of genetic diversity in *Ziziphus mauritiana* using inter-simple sequence repeat markers. *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 16, 35–40.

Singh, S.K., Chhajer, S., Pathak, R., Bhatt, R.K., et Kalia, R.K. (2017). Genetic diversity of Indian jujube cultivars using SCoT, ISSR, and rDNA markers. *Tree Genet. Genomes* 13.

Soloviev, P., Daouda Niang, T., Gaye, A., et Totte, A. (2004). Variabilité des caractères physico-chimiques des fruits de trois espèces ligneuses de cueillette, récoltés au Sénégal : *Adansonia digitata*, *Balanites aegyptiaca* et *Tamarindus indica*. *Fruits* 59, 109–119.

Taira, S. (1996). Astringency in persimmon. In *Fruit Analysis*, (Springer), pp. 97–110.

Tayeau, F., Faure, F., Sechet-Sirat, J. (1955). Etude sur le soumpe (*Balanites aegyptiaca*) valeur alimentaire de ses protéines. *J. Agric. Trop. Bot. Appl.* 2(1), 40–49.

Thomas, E., Jalonen, R., Loo, J., Boshier, D., Gallo, L., Cavers, S., Bordács, S., Smith, P., et Bozzano, M. (2014). Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *For. Ecol. Manag.* 333, 66–75.

Von Maydell, H.-J. (1983). Arbres et arbustes du Sahel (Eschborn).

Von Maydell, H.-J. (1986). Trees and shrubs of the Sahel, their characteristics and uses. (Eschborn [Germany] : Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit).

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman J., Kuiper, M., et Zabeau M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nuc. Acids Res.* 23, 4407-4414.

Weckmüller, H., Barriocanal, C., Maneja, R., et Boada, M. (2019). Factors Affecting Traditional Medicinal Plant Knowledge of the Waorani, Ecuador. *Sustainability* 11, 4460.

Wiesner, I., et Wiesnerová, D. (2003). Effect of resolving medium and staining procedure on inter-simple-sequence-repeat (ISSR) patterns in cultivated flax germplasm. *Genet. Resour. Crop Evol.* 50, 849–853.

Yadav, J.P., et Panghal, M. (2010). *Balanites aegyptiaca* (L.) Del.(Hingot): A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. *Int. J. Green Pharm. IJGP* 4.

Yatrib, C., Belkadi, B., Pakhrou, O., Alami, M., Medraoui, L., El, A., Mousadik, A.F., Msanda, F., El Modafar, C., et Souda-Kouraichi, S.I. (2015). Assessment of genetic diversity of *Argania spinosa* L. growing in arid and semi-arid areas of Morocco as revealed by Inter-Simple Sequence Repeats. *J Agric Sci Technol B* 5, 336–346.

Ya'u, J., Abdulmalik, U.N., Yaro, A.H., Chindo, B.A., Anuka, J.A., et Hussaini, I.M. (2011). Behavioral properties of *Balanites aegyptiaca* in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 135, 725–729.

Yousfi, M., Bombarda, I., Hamia, C., Djeridane, A., Stocker, P., et Gaydou, E. (2009). Fatty acid, triglyceride and tocopherol composition of Algerian Argan (*Argania spinosa*) fruit seed lipids. *Mediterr. J. Nutr. Metab.* 2, 197.

Zhishen, J., Mengcheng, T., et Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555–559.

Zietkiewicz, E., Rafalski, A., et Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20, 176–183.

ANNEXES

Annexe 1: Article (1) Selouka *et al.* Phytochemicals, Antioxidant Activity and Ethnobotanical Uses of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Fruits from the Arid Zone of Mauritania, Northwest Africa. *Plants* 2020, 9(3), 401. <https://doi.org/10.3390/plants9030401>

Article

Phytochemicals, Antioxidant Activity and Ethnobotanical Uses of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Fruits from the Arid Zone of Mauritania, Northwest Africa

Selouka Mint Abdelaziz ^{1,2}, Fouteye Mint Mohamed Lemine ¹, Hasni Ould Tfeil ³,
Abdelkarim Filali-Maltouf ²  and Ali Ould Mohamed Salem Boukhary ^{1,*} 

¹ Université de Nouakchott Al Aasriya, Faculté des Sciences et Techniques, Unité de recherche génomes et milieux, nouveau campus universitaire, Nouakchott, P.O. Box 880, Mauritanie; selouka@gmail.com (S.M.A.); fouteye@yahoo.fr (F.M.M.L.)

² Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Faculty of Sciences, Mohammed Vth University, Rabat 10100, Morocco; filalimaltouf@gmail.com

³ Laboratoire de chimie, Office national d'inspection sanitaire des produits alimentaires (ONISPA), Nouakchott P.O. Box 137, Mauritanie; hasni2002002@yahoo.fr

* Correspondence: alimedsalem@gmail.com; Tel.: +222-2677-9299

Received: 2 March 2020; Accepted: 8 March 2020; Published: 24 March 2020



Abstract: Phytochemicals and antioxidant activity of fruits of 30 *B. aegyptiaca* trees naturally growing in the hyper-arid and arid zones in Mauritania were evaluated by following standard procedures. Ethnobotanical uses of fruit pulps and kernel were assessed using a structured questionnaire. *Balanites aegyptiaca* fruit pulp is a good source of sugars (33 g/100 g dry matter (DM)), polyphenols (264 mg GAE/100 g DM) and flavonoids (34.2 mg/100 g DM) with an average antioxidant activity of 519 μ mol TEAC/100 g DM. The fruit kernel is rich in lipids (46.2 g/100 g DM) and proteins (29.5 g/100 g DM). Fruits from the hyper-arid zone exhibited high level of polyphenols, antioxidant activity and soluble tannins. Almost all of the informants (97.14%) reported the use of fruit pulp in folk medicine to treat diabetes, while 72.86% reported using the fruit pulp to treat hypertension. Kernel oil is mainly employed as ointments in the treatment of paronychia (57.14%) and dermal infections (35.71%). The predominant methods for preparing/administering fruit pulp/Kernel were maceration (58.8%), sucking fruit pulp (25.7%) and decoction (24.2%). *Balanites aegyptiaca* fruit contain both nutritional and health-promoting phytochemicals that could be of interest in the development of strategies for sustainable use of this neglected indigenous fruit tree.

Keywords: *Balanites aegyptiaca*; the desert date; phytochemicals; antioxidant activity; folk medicine; aridity; Mauritania; Sahel; Sahara

1. Introduction

Balanites aegyptiaca (L.) Del. is an evergreen dicotyledonous multibranched Savannah tree species native to arid and semi-arid areas of Africa, the Arabian Peninsula and South Asia [1]. The question of whether the genus *Balanites* is a member of the family *Zygophyllaceae* or the family *Balanitaceae* is still a matter of continuing controversy among scientists [2–5].

Balanites aegyptiaca, known in Mauritania as Teichot, tolerates drought and salinity, and thrives on a wide variety of soil types [6–8]. The tree is highly appreciated throughout Sahelian and Saharan regions for its woods (suitable for cooking), edible fruits (sweet mesocarp and nutritive kernel oil), animal feed value, shade and shelter and numerous ethnomedicinal uses [7,9–12].

The fruit commonly known as desert date in English has different names according to the ethnic groups living in Mauritania. Thus, it is called *Toogga* in Hassaniya (the Arabic dialect spoken by the Moorish ethnic group), and *Séxéné*, *Mortodé* and *Sump* in Soninke, Pular and the Wolof Black African languages, respectively. It is a plum-sized and faintly five-grooved drupe consisting of epicarp (5%–9%), mesocarp (28%–33%), endocarp (49%–54%) and kernel (8%–12%) [13]. Immature fruits are green and pubescent, turning yellow to brownish and glabrous after ripening with a sweet-bitter taste. The fleshy pulp of the desert date fruit contains a high amount of sugars (35%–42%) of which 81.3%–91.1% is present as reducing sugars [14,15]. The fruit kernel contains a considerable amount of nutritive oil (40%–51%) made up of 11 different fatty acids comprising both saturated (mainly palmitic and stearic) and unsaturated (predominantly oleic and linoleic) [13,16–18]. The fruit kernel is also rich in proteins (26.1%–34.3%) [13,18] and is reported to contain a variable amount of polyphenols (47.8–117.5 mg/100 g) [8]. However, saponins, referred to as balanitins, remain by far the most reputed chemical constituents of the *B. aegyptiaca* fruit, representing 7.2% in the pulp and 6.7% in the kernel [19]. Saponins are steroidal glycosides (steroidal sapogenins), which yield diogenin, a precursor for the synthesis of cortisones, oral contraceptives and other steroidal drugs in the pharmaceutical industry [9,20–22]. Other bioactive compounds such as alkaloids, flavonoids, tannins and vitamins have been reported in the fruit as well as the leaves, branches and roots of the desert date [2,15,22].

Moreover, numerous ethnopharmacological surveys showed that all of the parts of *B. aegyptiaca* have medicinal properties; most notable is the use of the fruit pulp as an antidiabetic medicine in Egypt and Sudan [18,23], and against helminthes infection [24], while the seed extract is used against *Bilharzia* [25]. The root is used in the treatment of abdominal pains and asthma [24]. The bark of the plant is used as a remedy for malaria and syphilis and also as an antijudice agent [22]. In the neighboring country of Senegal, squeezed pulp is used to treat gastric ulcer, hypertension and constipation [12]. In addition to the above-mentioned ethnomedicinal uses, saponin fractions of the desert date fruits' mesocarp were shown to possess high larvicidal activity against the *Aedes aegypti* mosquito, the major vector of dengue fever [26].

Due to its high ecological plasticity and economic interest, *B. aegyptiaca* was recently suggested among other tree species native to the saharo-sahelian ecosystem to build the so called "great green wall", which is part of the Sahara and Sahel initiative aiming at the restoration of the forest landscapes and degraded lands [27].

Natural populations of *B. aegyptiaca* are common in the Sahelian and Saharan ecoclimatic zones of Mauritania [28]. Although the tree is considered one of the popular trees in the Mauritanian folk medicine, empirical knowledge on its health benefits is still transmitted in oral form among local communities and the phytochemicals and functional potentials of this neglected indigenous fruit tree are not yet fully explored. The purposes of this study were to evaluate the phytochemicals and the antioxidant potential of the fruit of *B. aegyptiaca* trees naturally growing in the hyper-arid and arid zones in Mauritania, and assess its ethnobotanical uses. This could help in developing new economic opportunities for rural communities.

2. Results and Discussion

2.1. Descriptive Statistics Analysis of Physicochemical Variables

Morphological and physicochemical characteristics of the fruit were measured for all the collected *B. aegyptiaca* trees and the average, minimum and maximum values, as well as the standard deviations and coefficients of variations were reported for each study site and over all the study sites. Results are summarized in Tables 1 and 2. The pH of the fruit pulp exhibited the lowest coefficient of variation (3.2%) and titratable acidity the highest (58.8%) (Table 1). Over the 13 morphological and physicochemical variables studied, lipids content, pH and proteins content exhibited coefficients of variation lower than 10%, fruit length and fruit width showed coefficients of variation between 10% and 20% and the remaining variables (fruit weight, moisture content, total sugars, titratable acidity, soluble tannins,

polyphenols, flavonoids and antioxidant activity) exhibited variation values higher than 20% (Table 1). The values of coefficient of variation in fruit species are generally considered low below 10%, medium ranging from 10% to 20% and high above 20% [29].

Table 1. Descriptive statistics of 13 physicochemical parameters measured in fruits of 30 *Balanites aegyptiaca* trees from five locations in Mauritania, Northwest Africa.

Parameter (Unit)	Min	Max	Mean	SD	CV (%)
Fruit morphology					
Fruit length (mm)	18.5	29.3	23.7	3.1	13
Fruit diameter (mm)	13.5	23.0	19.0	2.2	11.5
Fruit weight (g)	3.5	6.8	4.5	0.9	21
Pulp characteristics					
Moisture content (%)	5.41	30.1	21.9	12.2	56
Total sugars (g/100 g DM)	17.5	54.0	33	9.1	27.5
pH	4.43	5.1	4.9	0.16	3.2
Titrate acidity (g/100 g DM)	0.01	0.35	0.17	0.1	58.8
Soluble tanins (mg TAE/100 g DM)	280	971	559.6	191.6	34.2
Total polyphenols (mg GAE/100 g DM)	173	429	265	75.3	28.4
Flavonoids (mg QE/100 g DM)	14.7	63.2	34.2	15.9	46.4
Antioxidant activity (μ mol TEAC/100 g DM)	220	800	519	176	34
Kernel characteristics					
Lipid content (g/100 g DM)	42.6	49.7	46.2	2.1	4.5
Protein content (g/100 g DM)	27.5	32.7	29.5	1.8	6.1

Abbreviations: DM: dry matter; CV: coefficient of variation; SD: standard deviation; TAE: tannic acid equivalent; GAE: gallic acid equivalent; QE: quercetin equivalent; TEAC: trolox equivalent antioxidant capacity.

Means comparison of the fruit morphological and physicochemical properties of *B. aegyptiaca* trees from the five sites are presented in Table 2.

The significantly highest average fruit weight was observed in trees from the arid site of Aghchorguit with 5.8 ± 0.9 g. Fruit weight from the other sites showed comparable values. Trees from the hyper-arid site of Yaghref and the arid site of Aleg showed the lowest values of fruit length (19.5 ± 1.1 mm) and diameter (15.8 ± 1.9 mm), respectively, and those from Aleg (25.7 mm) and Aghchorguit (20.5 mm) the highest. Overall, the average fruit weight (4.56 g), length (23.7 mm) and diameter (19.0 mm) found in this study are comparable to those found in countries where *B. aegyptiaca* naturally occurs such as Senegal [30] and Niger [31]. For instance, *B. aegyptiaca* fruits from Senegal possessed weight, length and diameter averages of 4.03 g, 24.4 mm and 18 mm, respectively [30]. However, values reported from Sudan were higher regarding fruit weight (7.1 g), length (27.7 mm) and diameter (21.6 mm), than those reported in the present study [8]. Variations in fruit morphology among populations of the same species have been reported in other tree species such as *Tamarindus indica* [32] and *Acacia Tortilis* [33]. The observed variations could be the results of adaptive evolution in response to different factors such as environmental and climatic conditions.

The average sugar content was significantly higher in the fruit pulps from the hyper-arid site of Yaghref (45.8 ± 7.1 g/100 g dry matter (DM)) compared to the other sites (Table 2). Sagna et al. [15] found a comparable value (42.60 ± 0.63 g/100 g DM) in the dry pulp of *B. aegyptiaca* fruit from Senegal. However, Soloviev et al. [30] reported lower sugar contents (13 g/100 g DM). The difference in the method of analysis used, the age of the mature fruit and the agro-ecological origins of the desert date accessions studied could explain these variations. The comparison with other saharo-sahelian indigenous fruit trees showed that the sugars content of *B. aegyptiaca* fruit pulp was higher than those of wild Jujube (*Ziziphus mauritiana*) (20.5g/100 g DM) and the Baobab (*Adansonia digitata*) (7.2 to 11.8 g/100 g DM) [30,34]. The moisture contents of fruit pulp from the arid sites of Aleg (28.1%) and Aghchorguit (24.6%) were higher than those of the hyper-arid site of Yaghref (20.3%) and Chami (21.1%). These results are close to those reported by Soloviev et al. [30] in *B. aegyptiaca* fruit from

Senegal (14.6 to 24.1%), but slightly higher than that found by Sagna et al. [15], who reported an average of 16% humidity. There is a close relationship between the sugar and moisture contents in some fruits. For instance, the ratio of total sugar to moisture content expressed as a quality index (QI) has been used to classify the date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits into soft ($QI < 2$), semi-dry ($2 < QI < 4$) and dry ($QI > 4$) [35].

Accordingly, *B. aegyptiaca* fruits analyzed in the present study showed a mixture of soft and semi-dry fruits regarding their QI (Aleg = 1.2; Aghchorguit = 1; Boutilimit = 1.8; Yaghref = 2.2; Chami = 1.4). A quality index of 2.6 was reported in some fruits of *B. aegyptiaca* from Senegal [15].

Titrateable acidity expressed as equivalent citric acid was significantly higher (0.3 ± 0.1 g/100 g DM) in the trees from Aghchorguit (arid zone) and Yaghref (hyper-arid zone). This value is in accordance with the quasi-absence of acidity from the flavor of the study fruit pulp. Pulp juice with the lowest pH values (4.7 ± 0.1) was that of the Aleg trees. Fruits from Aghchorguit (arid zone) and Yaghred and Chami (hyper-arid zone) shared the highest pH values of pulp juice (4.9 ± 0.1).

Significant differences were observed between the accessions for the total kernel oil (Table 2). It ranged between 43.3 g/100 g DM in the Aleg fruit accessions and 48.9 g/100 g DM in the Yaghref accessions. Fruit accessions from Aghchorguit contained a significantly high level of proteins (32.5 ± 0.4 g/100 g DM) compared to the other accessions (28.1–29.2 g/100 g DM). These results are in close accordance with those reported by Ahmed et al. [8] in eight Sudanese desert date accessions (47.3% for lipids and 30% for proteins) and by Mohamed et al. [13], which reported values of 49% and 32.4% for lipids and proteins content, respectively, from one Sudanese fruit accession. The present study showed that the fruit kernel of *B. aegyptiaca* contains more lipids than that of some oleaginous trees of agro-industrial importance like the Argan tree (*Argania spinosa*) that possessed 36% lipids [36]. This finding demonstrates the great socio-economic potential of this species beside its ecological importance in combating desertification in the Sahel and Sahara.

Table 2. Means \pm standard deviation of some physicochemical variables measured in fruits of 30 *B. aegyptiaca* trees from five locations in Mauritania, Northwest Africa.

Study Site	Fruit Weight (g)	Fruit Length (mm)	Fruit Width (mm)	Moisture Content (%)	Total Sugars (g/100 g DM)	Protein Content* (g/100 g DM)	Lipid Content* (g/100 g DM)	pH	Titrateable Acidity (g/100 g DM)
Aleg	4.1 \pm 0.5 ^a	25.7 \pm 3.4 ^a	15.8 \pm 1.9 ^a	28.1 \pm 9.0 ^a	35.4 \pm 5.3 ^a	28.3 \pm 1.1 ^a	43.3 \pm 1.0 ^a	4.7 \pm 0.1 ^a	0.2 \pm 0.05 ^a
Aghchorguit	5.8 \pm 0.9 ^b	25.2 \pm 1.4 ^a	20.5 \pm 2.1 ^b	24.6 \pm 2.6 ^a	23.6 \pm 1.5 ^a	32.5 \pm 0.4 ^b	45.1 \pm 1.3 ^b	4.9 \pm 0.1 ^b	0.3 \pm 0.1 ^b
Boutilimit	4.5 \pm 1.0 ^a	23.5 \pm 3.1 ^a	19.4 \pm 1.2 ^b	18.3 \pm 4.0 ^b	32.5 \pm 5.3 ^b	29.2 \pm 0.2 ^a	46.4 \pm 0.2 ^c	4.8 \pm 0.2 ^{a,b}	0.1 \pm 0.02 ^c
Yaghref	4.0 \pm 0.2 ^a	19.5 \pm 1.1 ^b	19.7 \pm 0.8 ^b	20.3 \pm 5.7 ^{a,b}	45.8 \pm 7.1 ^c	28.1 \pm 0.1 ^a	48.9 \pm 1.1 ^d	4.9 \pm 0.1 ^b	0.3 \pm 0.1 ^b
Chami	4.4 \pm 0.4 ^a	23.9 \pm 0.7 ^a	19.4 \pm 2.8 ^b	21.1 \pm 3.0 ^{a,b}	29.5 \pm 8.1 ^a	ND	ND	4.9 \pm 0.1 ^b	0.1 \pm 0.02 ^c

* Proteins and lipid content were measured in the fruit kernel. ND: not determined. Means in the same column sharing the same letter(s) are not significantly different at ($p < 0.05$) according to the Student–Newman–Keuls test.

2.2. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Fruit Pulp

Bioactive compounds and antioxidant activities of *B. aegyptiaca* fruits varied significantly between the study sites (Table 3). Fruit pulp from the hyper-arid sites of Yaghref and Chami showed the highest phenolic contents (396 ± 4.8 and 268 ± 1.9 mg GAE/100 g DM, respectively) and antioxidant activities (750 ± 5.5 and 730 ± 10.5 μ mol TEAC/100 g DM, respectively). They also showed the highest values of the soluble tannins (714 ± 17.3 and 756 ± 8.4 mg TAE/100 g DM, respectively). However, total flavonoids were significantly higher in the fruit of the arid site of Boutilimit (47.4 ± 6.4 mg QE/100 g DM) than the other sites. Literature data showed a wide range of bioactive compounds and antioxidant potential of *B. aegyptiaca* fruit pulp of various origins [37–41]. Polyphenol and flavonoid contents found in the present study were lower than those reported by Abdallah et al. [37] in methanolic extracts of *B. aegyptiaca* fruit from Sudan (212 mg GAE/g DM and 11.5 mg QE/g DM, respectively). These authors also showed a dose-dependent scavenging activity of pulp extract against the 2,2-diphenyl-1-pyrrylhydrazyl (DPPH)-radical with a half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of 3μ g/mL.

Table 3. Means \pm standard deviation of bioactive compounds and antioxidant activity of *B. aegyptiaca* fruit pulp from 5 locations in Mauritania, Northwest Africa.

Study Site	Total Polyphenols (mg GAE/100 g DM)	Total Flavonoids (mg QE/100 g DM)	Soluble Tannins (mg TAE/100 g DM)	Antioxidant Activity (μ mol TEAC/100 g DM)
Aleg	245 ± 8.1^a	28.8 ± 5.4^a	471 ± 8.8^a	440 ± 7.5^a
Aghchorguit	236 ± 5.7^b	$32.5 \pm 1.2^{a,b}$	479 ± 12^a	490 ± 13.8^b
Boutilimit	222.5 ± 2.5^c	47.4 ± 6.4^d	436 ± 9.9^b	340 ± 10.2^c
Yaghref	396 ± 4.8^d	34.3 ± 1.8^b	714 ± 17.3^c	750 ± 5.5^d
Chami	268 ± 1.9^e	19.7 ± 2.2^c	756 ± 8.4^d	730 ± 10.5^e

Means in the same column sharing the same letter(s) are not significantly different at $p < 0.05$ according to Student–Newman–Keuls test; GAE: gallic acid equivalent; QE: quercetin equivalent; TAE: tannic acid equivalent; TEAC, trolox equivalent antioxidant capacity; DM: dry matter.

Correlation between bioactive compounds and antioxidant activity was not examined in the present study. However, literature data showed that the antioxidant potential of many medicinal plants was generally correlated to the presence of polyphenols and/or flavonoids [40].

2.3. Principal Component Analysis (PCA)

The PCA was applied to all physical and chemical variables to determine variables that differentiate the desert date fruit from different sites and to identify any group patterns. Three principal components (PC1, PC2 and PC3) explain 59% of the total variance (25.7%, 18.9% and 14.4% for PC1, PC2 and PC3, respectively) (Table S1). Total polyphenols (0.85), antioxidant activity (0.92) and soluble tannins (0.83) were high positively correlated with the PC1, while fruit length (-0.5) was negatively correlated with the PC1. The factors that contributed most positively to the PC2 were proteins content of the fruit kernel (0.66), fruit width (0.62) and fruit weight (0.82), and that contributing most negatively was total sugars (-0.68). The PC3 was positively correlated to the lipid contents (0.84) and negatively correlated to the moisture content (-0.69). The PC1 versus PC2 scatter plot (Figure 1) clearly distinguished two main clusters: the first one grouped *B. aegyptiaca* trees from the hyper-arid sites of Chami and Yaghref characterized by high polyphenols contents, important antioxidant activity and high soluble tannins compared to *B. aegyptiaca* trees from the arid sites. The second cluster consisting of trees from the arid site of Aghchorguit, which are characterized by high fruit weight, important proteins content of the fruit kernel and large fruit. Based on the PCA analysis, fruits from the hyper-arid zone (Yaghref and Chami) appeared the most interesting regarding the bioactive compounds and antioxidant activity.

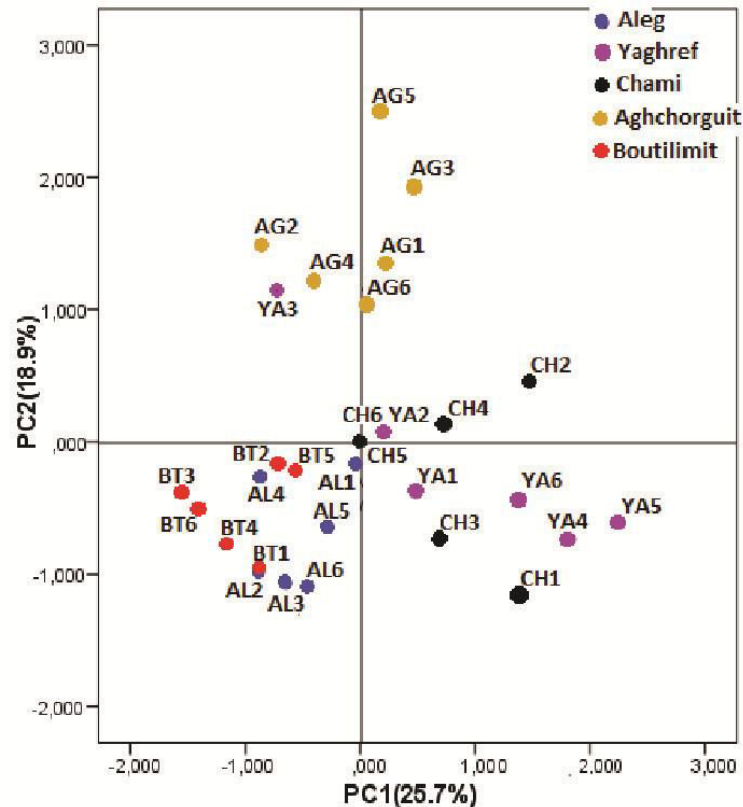


Figure 1. Principal component analysis plots (axis 1–2) of 30 *Balanites aegyptiaca* trees from 5 locations in Mauritania based on fruit morphological and phytochemical components.

2.4. Ethnobotanical Uses of *Balanites Aegyptiaca* Fruits

A total of 70 informants including seven traditional healers were interviewed: 43 (61.4%) men and 27 (38.6%) women ($P = 0.064$), ranging in age between 30 and 70 years (mean age = 50; median age = 53) (Table 4). In general, interest and therefore knowledge in medicinal plants generally increases with age as shown in a similar study [42]. Respondents originated from seven out of the thirteen provinces of the country, including Nouakchott, and belong to the main ethnolinguistic groups of Mauritania: Moorish of Arab descent (87.1%) and black Africans (12.9%). The educational background of the respondents consisted of 27 (38.6%) with tertiary educational level, while 16 (22.8%) and 13 (18.6%) reached secondary and primary educational levels, respectively, and 14 (20%) had no formal educational level. Of the 70 respondents, 52 (74.3%) actively use plant-based medicine as a first line to treat their ailments against 18 (25.7%) that prefer conventional medicine as a first recourse.

Table 4. Sociodemographic characteristics of the 70 participants in the ethnobotanical survey from Nouakchott, Mauritania, Northwest Africa.

Characteristics	No.	%
Gender (n = 70)		
Male	43	61.4
Female	27	38.6
Age groups (year) (n = 70)		
30–40	19	28.6
41–50	21	30
> 50	30	41.4
Ethnicity (n = 70)		
Moors	61	87.1
Black Africans	9	12.9
Educational level (n = 70)		
No formal education	14	20
Primary education	13	18.6
Secondary education	16	22.8
Tertiary education	27	38.6

All informants recognized the fruit of *B. aegyptiaca* and gave its correct name in their native language (Table 5). However, only 20% (14/70) indicated exactly that the best period to collect mature fruits from the wild is in the winter (December–February). The most commonly used plant part of the desert date fruit is the pulp, either as food or as medicine (Table 5). Traditional kitchen is the main reported culinary use (74.3%) of the desert date fruit. Using the pulp in pastry was also reported in 8.6% of the informants. Most of the participants reported using fruit pulp as medicine to treat diabetes (97.1%), hypertension (72.8%), constipation (40%) and cough (35.7%) while they employed the fruit kernel to treat paronychia (57.1%), various dermal diseases (35.7%) and asthma (25.71%). The preparation/administration methods included maceration (58.8%), decoction (28.5%), sucking fruit pulp (25.7%) and ointment (12.8%). The majority of respondents reported using three fruit pulps once a day (53.4%) during the period of treatment.

The present ethnobotanical survey revealed that desert date fruit provides remedies for 8 human ailments according to the interviewed individuals, including diabetes, hypertension, constipation and cough. The study also reported the use of the fruit pulp for culinary purposes. Similar traditional medicinal and culinary uses of *B. aegyptiaca* fruit were also reported elsewhere. For instance, in Senegal, fruit pulp is used to treat human illness such as hypertension [12], in Egypt and Sudan to treat diabetes [43] and in Burkina Faso, Algeria and Senegal to treat constipation [10]. In Senegal, culinary uses of fruit pulp and kernel were reported [12]. The similarity in the medicinal and culinary uses of *B. aegyptiaca* fruit pulp between populations living in the Sahel and Sahara including the Mauritians is a demonstration of the nutritional value, as well as the medicinal and pharmacological potentialities of the plant.

Biological evidence from in vivo and in vitro studies supported the potential medicinal virtues of the desert date fruits [37,40,44,45]. For instance, aqueous extract of *B. aegyptiaca* fruit demonstrated hypoglycemic properties in diabetic experimental rats [45]. It was also reported that whole and extracted pulp of *B. aegyptiaca* fruits exhibited a hypocholesterolemic effect when tested on adult albino rats [44]. Moreover, methanol extract of the pulp was also found to exhibit anti-dermatophytic activity on *Microsporum gypseum* and *Trichophyton rubrum* [40]. Fixed fruit oils exhibited anticancer activity against lung, liver and brain human carcinoma cell lines, possessed anthelmintic activity against hepatic worms (*Schistosoma mansoni* and *Fasciola gigantica*) and showed antimicrobial activity against selected strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria [17]. Ethanol extract of the roots of *B. aegyptiaca* possess a bioactive compound that exerts sedative and anxiolytic properties in mice [46]. It is worth noting that most of these studies reported the active compounds to be saponins.

Table 5. Ethnobotanical and medicinal uses of the fruit of *B. egyptiaca* reported by 70 informants from Nouakchott, Mauritania, Northwest Africa.

Characteristics	Frequency (%) *	
Local name of the fruit	Desert date **	70 (100)
	False answer	0
	I don't know	0
Period of harvest	Winter (December–February)	14 (20)
	Spring (March–May)	43 (61.4)
	Summer (June–August)	12 (17.1)
	Autumn (September–November)	1 (1.4)
Taste (pulp)	Sweet-bitter	62 (88.6)
	Bitter	7 (10)
	Sweet	1 (1.43)
Culinary use	Traditional kitchen	52 (74.3)
	Pastry	6 (8.6)
	Juice	2 (2.8)
	Pastry and traditional kitchen	10 (14.3)
Medicinal uses of fruit pulp	Diabetes	68 (97.1)
	Hypertension	51 (72.8)
	Cardiovascular illnesses	1 (1.4)
	Cough	25 (35.7)
Medicinal uses of Kernel oil	Constipation	28 (40)
	Dermal infections	25 (35.7)
	Asthma	18 (25.7)
	Paronychia	40 (57.1)
Traditional method of preparation/administration	Maceration	41 (58.8)
	Sucking (fruit pulp)	18 (25.7)
	Decoction	20 (28.5)
	As ointment (kernel oil)	9 (12.8)
Frequency of use ***	Three fruit pulps once a day	37 (53.4)
	Four to seven fruits pulp a day	33 (46.5)

* Percentages who do not add up to 100 are from multiple response questions; ** the name of the fruit was given in the native language of the respondent (see main text for the correspondence); *** during the period of treatment.

3. Materials and Methods

3.1. Study Sites

Five study sites (Aleg, Aghchorguit, Boutilimit, Yaghef and Chami) located in the central arid and northern hyper-arid zones in Mauritania where prospected (Figure 2). Annual rainfall in the study sites follows a south–north gradient with an average of 200 mm over the arid sites of Aleg and Aghchroguit and 50 mm or less along the hyper-arid sites of Chami and Yaghref. *Balanites aegyptiaca* trees abundance across the study zone follows the rainfall gradient with Aleg showing the highest density and Chami and Yaghref the lowest. These later represent the northernmost limit of distribution area of the desert date tree in Mauritania. In each study site, sampling was performed within a distance of hundreds of meters from both sides of the national roads connecting Nouakchott, the capital city,

and Aleg to the southeast, Nouakchott and Nouadhibou to the north and, Nouakchott and Atar to the northeast (Figure 2).

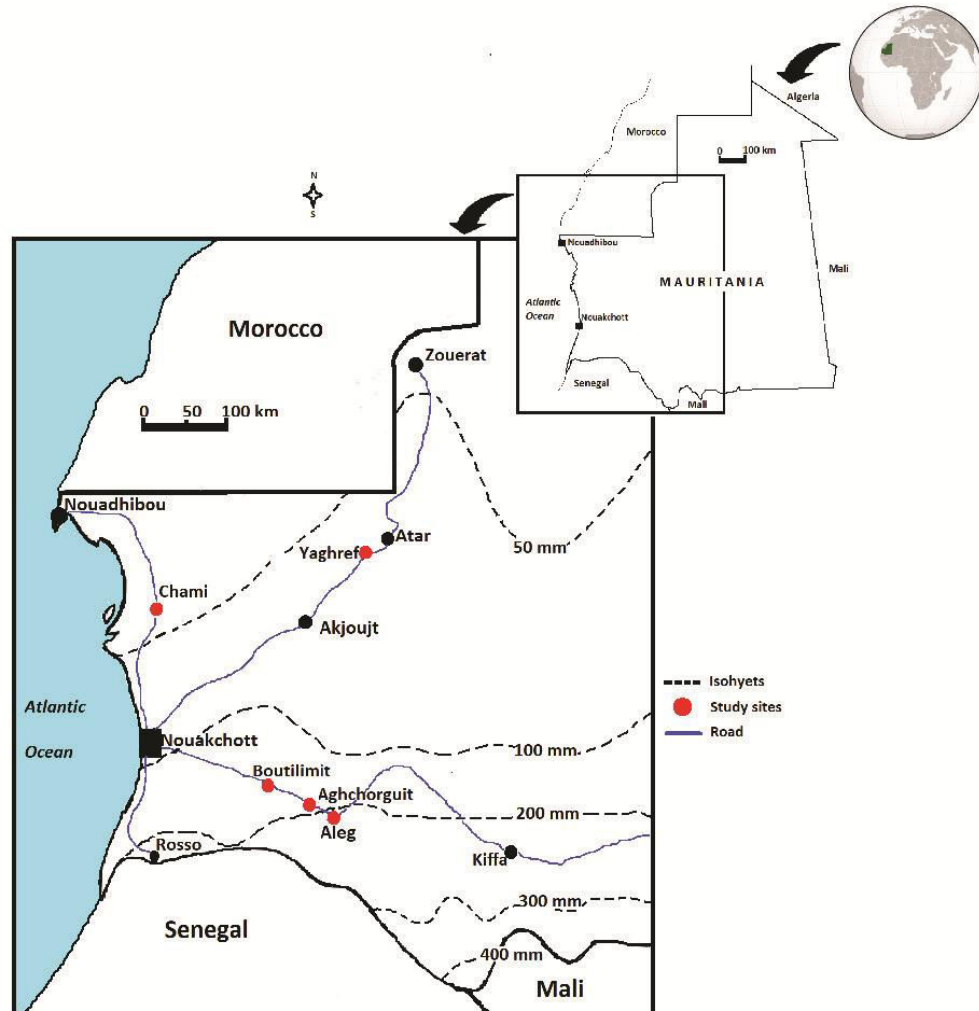


Figure 2. Distribution map of the five locations of *Balanites aegyptiaca* trees in the central arid (Aleg, Aghchorguit and Boutilimit) and northern hyper-arid (Yaghref and Chami) zones in Mauritania, Northwest Africa. Professor Ali Ould Mohamed Salem Boukhary created Figure 2 by using the Microsoft Paint application.

3.2. Sampling and Measurement of Fruit Morphological Variables

Fruits were collected during the harvest seasons of 2016 and 2017, from 30 *B. aegyptiaca* trees (six trees from each site) naturally growing in the study sites. After spreading a plastic sheet around the trunk of the tree, fruits from each tree were collected by shaking the upper tree branches using a long stick and 30 among the fully mature dropped fruits were randomly selected and mixed as a single lot. They were then rapidly transported in a cooler to the laboratory where fruit morphological variables were immediately measured. Fruit collections were then stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for further phytochemical characterization.

Ten fruits from each lot were used to describe fruits. Fruit weight was measured with an accuracy of 0.01 g using an analytical balance (Ohaus, Heuwinkelstrasse, Switzerland). Fruit length and diameter were measured to the nearest 0.1 mm using a digital calliper.

3.3. Phytochemical Analysis

A total of 10 physicochemical variables related to fruit pulp (mesocarp) (eight parameters) and fruit kernel (two variables) were measured.

Moisture content was determined by drying 1 g of fruit pulp in an oven at 65 °C until the weight stabilized, and the moisture percentage was calculated according to the following formula:

$$\text{Moisture (\%)} = [(\text{fresh weight} - \text{dry weight})/\text{fresh weight}] \times 100.$$

Titrateable acidity and pH were estimated by homogenizing 10 g of fruit pulp in 100 mL distilled water. The pH of 25 mL of the resultant pulp juice was estimated using a digital pH meter (Hanna instruments HI84435-01 Mini Titrator and pH Meter) previously calibrated with buffered solutions (pH 4.0 and 7.0). Titrateable acidity was estimated on 50 mL of the same juice pulp by titration to pH 8.0 using a 0.1 N NaOH solution and a phenolphthalein indicator [47]. The results were expressed as grams citric acid equivalents per 100 g dry matter.

Sugars were extracted from 1 g of dried fruit pulp using 80% ethanol aqueous solution and quantified according to the spectrophotometric phenol-sulfuric acid method developed by Dubois et al. [48]. A calibration curve was prepared using glucose solution as a standard. Absorbance was measured at 490 nm. Sugars content was expressed in grams of glucose equivalents per 100 g dry matter.

To quantify kernel oil and proteins, fruit external tissues (epicarp and mesocarp) were removed manually using a thin sharp knife and the kernel was separated from the enclosing woody part after gentle hand hammering. Total fats were extracted according to the Soxhlet method using hexane as the extraction solvent [47]. One gram of homogenized fruit kernel, 10 g sea sand and 200 mL hexane were extracted by Soxhlet for 6 h. Then, the solvent was evaporated at 35 °C using a rotary evaporator. Finally, the lipid content of the samples was determined gravimetrically.

Proteins content in the fruit kernel was determined according to the Kjeldahl method as described in the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) International [49]. Briefly, 1 g of fruit kernel was digested with 15 mL concentrated sulfuric acid containing two copper catalyst tablets in a heat block (Kjeltec system 2020 digester, Tecator Inc., Herndon, VA, USA) at 420 °C for 2 h. After cooling, distilled water was added to the hydrolysates before neutralization and titration. The amount of total nitrogen in the pulp was multiplied with the traditional conversion factor of 6.25 to convert the measured nitrogen concentration to a protein concentration.

Polyphenols and flavonoids were extracted from 1 g of dried fruit pulp using 80% methanol aqueous solution. Polyphenols were quantified using Folin–Ciocalteu's reagent according to the colorimetric method of Singelton and Rossi [50] as modified by Kim et al. [51]. A standard curve was prepared with gallic acid. The absorbance was read at 750 nm and results were expressed as mg of gallic acid equivalents (GAE) per 100 g dry matter. Flavonoids were quantified using Aluminium chloride colorimetric assays according to the protocols described by Zhishen et al. [52] and Kim et al. [51]. The absorbance of the tested samples and standard quercetin solutions were measured at 430 nm. Results were expressed as mg quercetin equivalents (QE) per 100 g dry matter.

Soluble tannins were extracted from 1 g of dried fruit pulp using 70% acetone aqueous solution. Soluble tannins were estimated using the Folin–Denis colorimetric method as described by Taira [53]. This method is based on the reduction of phosphomolybdic-phosphotungstic acids by tannins to molybdenum blue in alkaline solution. A calibration curve was constructed using tannic acid in acetone aqueous solution. The absorbance was measured at 760 nm. Tannins content was expressed as mg tannic acid equivalents (TAE) per 100 g dry matter.

3.4. Antioxidant Activity of Fruit Pulp

Antioxidant activity of fruit pulp methanolic extracts was estimated using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical assay as described by Brand-Williams et al. [54] and Mint Mohamed Lemine et al. [55]. The Absorbance was measured at 517 nm. The antioxidant activity was given in μmol of trolox equivalents antioxidant capacity (TEAC) per 100 g of dry matter.

3.5. Ethnobotanical Uses of the Desert Date Fruit

The survey took place during June–July 2019 in Nouakchott, the capital city of Mauritania. Ethnobotanical uses of the desert date fruit were assessed using a structured questionnaire with close-ended multiple-choice questions translated into the participants' native languages (Hassaniya, Pular, Soninke and Wolof). The survey was conducted face-to-face in order to maximize response rates [56]. Before obtaining the verbal consent, the aims and objectives of the survey were explained to each prospective respondent. The questions included the local name of the fruit, the harvest period, the culinary and medicinal uses, the mode of preparation/administration and the frequency of use. The questionnaire also comprised socio-demographic data on each informant (age, gender, ethnicity and education). Interviews were carried out at homes, in the street or in different local markets in Nouakchott. Seven traditional healers having practical knowledge of medicinal plants were also included in the survey.

3.6. Data Analysis

All measurements were conducted on three replicate samples. Means \pm standard deviation (SD), minimum, maximum values and the coefficient of variation for each physicochemical variable were calculated. Means of the measured variables were compared among the study sites using the Student–Newman–Keuls test [57]. Principal components analysis (PCA) was performed on the collected data to assess the relationships between desert date trees from the different study sites. Information obtained through the ethnobotanical survey was analyzed and expressed as percentages. All statistical analyses were carried out using SPSS software (Version 12) or MS Excel (2007). The significance level was accepted at $p < 0.05$.

4. Conclusions

This is the first study on the phytochemical properties and ethnobotanical uses of the desert date fruit at the northern edge of its distribution area in Mauritania. Results show important diversity in their fruit phytochemicals and antioxidant activity, and highlight a body of indigenous ethnobotanical and ethnomedicinal uses that constitute a basis for the development of strategies of conservation and sustainable use of these underutilized genetic resources.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2223-7747/9/3/401/s1>; Table S1: Eigen values and proportion of the variance explained for the three principal components of the 30 *B. aegyptiaca* trees based on fruit morphological and phytochemical components

Author Contributions: Conceptualization, A.O.M.S.B., A.F.-M.; methodology, S.M.A.; investigation, S.M.A.; formal analysis, S.M.A., F.M.M.L. and H.O.T.; validation, A.O.M.S.B., F.M.M.L. and A.F.-M.; data curation, A.O.M.S.B.; writing—original draft preparation, A.O.M.S.B., S.M.A. and A.F.-M.; writing—review and editing, A.O.M.S.B. and A.F.-M.; supervision, A.O.M.S.B. and A.F.-M.; project administration, A.O.M.S.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: The authors thank the French Embassy in Nouakchott for providing a six-month scholarship to S.M.A. They also thank Saad Bouh Regad for his help in the statistical analyses.

Conflicts of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Hall, J.B.; Walker, D.H. *Balanites Aegyptiaca: A Monograph*; School of Agricultural and Forestry Sciences Publication, University of Wales: Bangor, UK, 1991.
2. Maksoud, S.A.; El Hadidi, M.N. The flavonoids of *Balanites aegyptiaca* (Balanitaceae) from Egypt. *Plant Syst. Evol.* **1988**, *160*, 153–158. [CrossRef]
3. Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F.; Donoghue, M.J. *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach*; Sinauer Associate Inc.: Sunderland, MA, USA, 2002.
4. Sands, M.J. The desert date and its relatives: A revision of the genus *Balanites*. *Kew Bull.* **2001**. [CrossRef]
5. Stevens, P.F. Angiosperm Phylogeny Website. 2012. Available online: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (accessed on 20 January 2020).
6. Elfeel, A.A. Changes in vapour pressure deficit and air-to-leaf temperature difference due to the effects of watering frequency and seasonal variation-induced adaptive responses in *Balanites aegyptiaca* in Saudi Arabia. *Curr. Sci.* **2017**, *112*, 1176. [CrossRef]
7. Chothani, D.; Vaghasiya, H. A review on *Balanites aegyptiaca* Del (desert date): Phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activity. *Pharmacogn. Rev.* **2011**, *5*, 55–62. [CrossRef]
8. Ahmed, A.A.O.; Kita, A.; Nemš, A.; Miedzianka, J.; Foligni, R.; Abdalla, A.M.A.; Mozzon, M. Tree-to-tree variability in fruits and kernels of a *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. population grown in Sudan. *Trees* **2019**. [CrossRef]
9. Vgot, K. *Field Workers Guide to the Identification, Propagation and Uses of Common Trees and Shrubs of Dry Land Sudan*; SOS Sahel International: London, UK, 1995.
10. Chevallier, M.H.; Bensaïd, S.; Diallo, O.B.; Sahki, R.; Ganaba, S.; Sanou, J.; Bouguedoura, N.; Vaillant, A.; Babin, D. Biodiversité et multidisciplinarité: Méthodologie pour les zones arides. *Bois For. Trop.* **2003**, *276*, 33–41.
11. Fadl, K.E.M. *Balanites aegyptiaca* (L.): A multipurpose fruit tree in Savanna zone of western Sudan. *Int. J. Environ.* **2014**, *4*. [CrossRef]
12. Sagna, M.B.; Niang, K.S.; Guisse, A.; Goffner, D. *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile: Distribution géographique et connaissances ethnobotaniques des populations locales du Ferlo (nord Sénégal). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **2014**, *18*, 503–511.
13. Mohamed, A.M.; Wolf, W.; Spiess, W.E.L. Physical, morphological and chemical characteristics, oil recovery and fatty acid composition of *Balanites aegyptiaca* Del. kernels. *Plant Food Hum. Nutr.* **2002**, *57*, 179–189. [CrossRef]
14. Nour, A.A.A.; Ahmed, A.H.R.; Abdel-Gayoum, A.G.A. A chemical study of *Balanites aegyptiaca* L. (Lalob) fruits grown in Sudan. *J. Sci. Food Agric.* **1985**, *36*, 1254–1258. [CrossRef]
15. Sagna, M.B.; Diallo, A.; Sarr, P.S.; Ndiaye, O.; Goffner, D.; Guisse, A. Biochemical composition and nutritional value of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del fruit pulps from Northern Ferlo in Senegal. *Afr. J. Biotechnol.* **2014**, *13*, 336–342.
16. Gardette, J.L.; Baba, M. FTIR and DSC studies of the thermal and photochemical stability of *Balanites aegyptiaca* oil (Toogga oil). *Chem. Phys. Lipids* **2013**, *170–171*, 1–7. [CrossRef] [PubMed]
17. Al Ashaal, H.A.; Farghaly, A.A.; Abd El Aziz, M.M.; Ali, M.A. Phytochemical investigation and medicinal evaluation of fixed oil of *Balanites aegyptiaca* fruits (Balantiaceae). *J. Ethnopharmacol.* **2010**, *127*, 495–501. [CrossRef] [PubMed]
18. Osman-Bashir, N.A.; Elhussein, S.A.-A. Variability in Kernel Oil and Kernel Crude Protein Contents in Sudanese Fruit Accessions of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. *Pak. J. Sci. Ind. Res. Ser. Phys. Sci.* **2017**, *60*, 134–140.
19. Yadav, J.P.; Panghal, M. *Balanites aegyptiaca* (L.) Del.(Hingot): A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. *Int. J. Green Pharm.* **2010**, *4*, 140–146. [CrossRef]
20. Watt, J.M.; Breyer-Brandwijk, M.G. *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*, 2nd ed.; E. & S. Livingstone: London, UK; University of Michigan: Ann Arbor, MI, USA, 1962; p. 1457.
21. Abdel Hafeez, S. Recovery of Saponin from *Balanites aegyptiaca* by Foaming. Master's Thesis in chemical engineering, Chemical engineering department, Faculty of Engineering and Arch., UK, 1999.
22. Farid, H.; Haslinger, E.; Kunert, O. New Steroidal Glycosides from *Balanites aegyptiaca*. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 1019–1026. [CrossRef]

23. Kamel, M.S.; Ontani, K.; Kurokawa, T.; Assaf, M.H.; El-Shannawany, M.A.; Ali, A.A.; Kasai, R.; Ishibashi, S.; Tanaka, O. Studies on *Balanites aegyptiaca* fruits, an antidiabetic Egyptian folk medicine. *Phytochemistry* **1991**, *31*, 3565–3569. [CrossRef]
24. Neuwinger, H.D. *African Ethnobotany: Poisons and Drugs-Chemistry, Pharmacology and Toxicology*; Chapman and Hall: New York, NY, USA; GmbH: Weinheim, Germany, 1996.
25. Mohamed, A.H.; Eltahir, K.E.H.; Ali, M.B.; Galal, M.; Ayeed, I.A.; Adam, S.I.; Hamid, O.A. Some pharmacological and toxicological studies on *Balanites aegyptiaca* bark. *Phytother. Res.* **1999**, *13*, 439–441. [CrossRef]
26. Chapagain, B.P.; Wiesman, Z. Larvicidal activity of the fruit mesocarp extract of *Balanites aegyptiaca* and its saponin fractions against *Aedes aegypti*. *Dengue Bull.* **2005**, *29*, 203–207.
27. Berrahmouni, N.; Tapsoba, F.; Berte, C.J. The Great Green Wall for the Sahara and the Sahel Initiative: Building resilient landscapes in African drylands. In *Genetic Considerations in Ecosystem Restoration Using Native Tree Species*; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Roma, Italy, 2014; p. 15.
28. Govaerts, C. *World Checklist of Zygophyllaceae*; Royal Botanic Gardens: Kew, UK, 2016.
29. Aubergon, J. Elements de réflexion pour une stratégie dans l'amélioration variétale des arbres fruitiers (exemple de l'abricotier). *Fruits* **1987**, *42*, 725–734.
30. Soloviev, P.; Daouda Niang, T.; Gaye, A.; Totte, A. Variabilité des caractères physico-chimiques des fruits de trois espèces ligneuses de cueillette, récoltés au Sénégal: *Adansonia digitata*, *Balanites aegyptiaca* et *Tamarindus indica*. *Fruits* **2004**, *59*, 109–119. [CrossRef]
31. Abasse, T.; Weber, J.C.; Katkore, B.; Boureima, M.; Larwanou, M.; Kalinganire, A. Morphological variation in *Balanites aegyptiaca* fruits and seeds within and among parkland agroforests in eastern Niger. *Agrofor. Syst.* **2011**, *81*, 57–66. [CrossRef]
32. Okello, J.; Okullo, J.B.L.; Eilu, G.; Nyeko, P.; Obua, J. Morphological variations in *Tamarindus indica* L. fruits and seed traits in the different agroecological zones of Uganda. *Int. J. Ecol.* **2018**, *2018*, 8469156. [CrossRef]
33. El Ayadi, F.; Msanda, F.; Baniaameur, F.; El Mousadik, A. Morphological and shape pods variability of *Acacia tortilis* ssp. *raddiana* (Savi) Brenan in south of Morocco. *Int. J. Plant Breed. Genet.* **2012**, *6*, 151–167. [CrossRef]
34. Danthu, P.; Soloviev, P.; Totte, A.; Tine, E.; Ayessou, N.; Gaye, A.; Niang, T.D. Caractères physico-chimiques et organoleptiques comparés de jujubes sauvages et des fruits de la variété Gola introduite au Sénégal. *Fruits* **2002**, *57*, 173–182. [CrossRef]
35. Reynes, M.; Bouabidi, H.; Piombo, G.; Risterucci, A.M. Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djérid en Tunisie. *Fruits* **1994**, *49*, 289–298.
36. Yousfi, M.; Bombarda, I.; Hamia, C.; Djeridane, A.; Stocker, P.; Gaydou, E. Fatty acid, triglyceride and tocopherol composition of Algerian Argan (*Argania spinosa*) fruit seed lipids. *Mediterr. J. Nutr. Metab.* **2009**, *2*, 197. [CrossRef]
37. Abdallah, E.M.; Hsouna, A.B.; Al-Khalifa, K.S. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigation of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. edible fruit from Sudan. *Afr. J. Biotechnol.* **2012**, *11*, 11535–11542.
38. Al-Malki, A.; Barbour, E.; Abulnaja, K.; Moselhy, S. Management of hyperglycaemia by ethyl acetate extract of *Balanites aegyptiaca* (desert date). *Molecules* **2015**, *20*, 14425–14434. [CrossRef]
39. Mhya, D.H.; Amigo, K.M.; Umar, I.A.; Alegbejo, J.O. Evaluation of hypoglycemic potential of extracts of *Balanites aegyptiaca* parts. *Int. J. Innov. Adv. Study* **2016**, *3*, 135–138.
40. Hussain, S.A.M.; Velusamy, S.; Muthusamy, J. *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. for dermatophytoses: Ascertaining the efficacy and mode of action through experimental and computational approaches. *Inform. Med. Unlocked* **2019**, *15*, 100177. [CrossRef]
41. Amadou, I.; Ilagouma, A.T.; Soumana, O.S.; Cheng, X.-R. Biochemical composition and sensory evaluation of desert date flowers (*Balanites aegyptiaca* Del) infusion. *Curr. Res. Nutr. Food Sci. J.* **2019**, *7*. [CrossRef]
42. Weckmüller, H.; Barriocanal, C.; Maneja, R.; Boada, M. Factors affecting traditional medicinal plant knowledge of the Waorani, Ecuador. *Sustainability* **2019**, *11*, 4460. [CrossRef]
43. Fortin, D.; Lô, M.; Maynard, G. *Plantes Médicinales du Sahel*; Série Études et Recherches, No.187–188–189; Enda-Éditions: Dakar, Senegal, 1997; p. 280.
44. Abdel-Rahim, E.A.; El-Saadany, S.S.; Wasif, M.M. Biochemical dynamics of hypocholesterolemic action of *Balanites aegyptiaca* fruit. *Food Chem.* **1986**, *20*, 69–78. [CrossRef]

45. Baragob, A.E.A.; AlMalki, W.H.; Shahid, I.; Bakhdhar, F.A.; Bafhaid, H.S.; Eldeen, O.M.I. The hypoglycemic effect of the aqueous extract of the fruits of *Balanites aegyptica* in Alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacogn. Res.* **2014**, *6*, 1.
46. Ya'u, J.; Abdulmalik, U.N.; Yaro, A.H.; Chindo, B.A.; Anuka, J.A.; Hussaini, I.M. Behavioral properties of *Balanites aegyptiaca* in rodents. *J. Ethnopharmacol.* **2011**, *135*, 725–729. [CrossRef]
47. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*; Association of Official Analytical Chemists: Colombia, MD, USA, 1990; Volume 1.
48. Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Rebers, P.A.; Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **1956**, *28*, 350–356. [CrossRef]
49. Latimer, G.W. *Official Methods of Analysis of AOAC International*; AOAC international: Gaithersburg, MD, USA, 2012.
50. Singelton, V.L.; Rossi, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, *16*, 144–158.
51. Kim, D.O.; Chun, O.K.; Kim, Y.J.; Moon, H.Y.; Lee, C.Y. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6509–6515. [CrossRef]
52. Zhishen, J.; Mengcheng, T.; Jianming, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* **1999**, *64*, 555–559. [CrossRef]
53. Taira, S. Astringency in persimmon. In *Fruit Analysis*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1996; pp. 97–110.
54. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* **1995**, *28*, 25–30. [CrossRef]
55. Lemine, F.M.M.; Ahmed, M.V.O.M.; Maoulainine, L.B.M.; Bouna, Z.E.A.O.; Samb, A.; Boukhary, A.O.M.S.O. Antioxidant activity of various Mauritanian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at two edible ripening stages. *Food Sci. Nutr.* **2014**, *2*, 700. [CrossRef] [PubMed]
56. Pero, L.V.; Crowe, T.M. Helmeted Guineafowl *Numida meleagris* in KwaZulu-Natal: A case for non-sustainability. *S. Afr. J. Wildl. Res.* **1996**, *26*, 123–130.
57. Sheskin, D.J. *Handbook of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures*, 5th ed.; Chapman and Hall/CRC: Boca Raton, FL, USA, 2011.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Annexe 2 : Article (2) Selouka *et al.* Inter simple sequence repeat markers to assess genetic diversity of the desert date (*Balanites aegyptiaca* Del.) for Saheliane ecosystem restoration. *Sci Rep.* 2020, 10:14948. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71835-9>.



OPEN

Inter simple sequence repeat markers to assess genetic diversity of the desert date (*Balanites aegyptiaca* Del.) for Sahelian ecosystem restoration

Selouka Mint Abdelaziz^{1,2}, Leila Medraoui¹, Mohammed Alami¹, Ouafae Pakhrou¹, Meryem Makkaoui¹, Ali Ould Mohamed Salem Boukhary² & Abdelkarim Filali-Maltouf^{1,✉}

Drought and desertification are the major environmental constraints facing the Sahelian agro-ecosystems for decades. Assessing genetic diversity of native tree species is critical to assist ecosystems restoration efforts. Here we describe genetic diversity and structure of seven *Balanites aegyptiaca* L. natural populations distributed across the Sahelian-Saharan zone of Mauritania using 16 polymorphic ISSR primers. These generated 505 polymorphic bands. Polymorphism information content (PIC) varied from (0.13–0.29) with an average 0.23, marker index (MI) averaged 7.3 (range 3.3–10.3) and resolving power (RP) ranged from (4.53–14.6) with an average 9.9. The number of observed alleles (Na) ranged from (0.62–1.39), Effective number of alleles (Ne) varied from (1.26–1.37), Shannon's information index (I) ranged from (0.25–0.36). AMOVA analysis showed that 80% of the genetic variation was fixed within populations, which is supported by a low level of genetic differentiation between population ($G_{ST} = 0.21$) and an overall estimate of gene flow among populations ($N_m = 1.9$). The dendrogram based on Jaccard's similarity coefficient and the structure analysis divided the seven populations into two main clusters in which two populations from the Saharan zone were grouped. Our results provide baseline data for genetic conservation programs of this Sahelian neglected crop and with an important econ-ecological role.

Balanites aegyptiaca Del. belongs to *Zygophyllaceae* family, commonly known as desert date tree, is a long-lived dicotyledonous spiny tree up to 10 m tall that is widely distributed in arid and semi-arid regions in Africa and South Asia^{1–3}. In Mauritania, *B. aegyptiaca* is widespread throughout the country. It is a xerophytic tree distributed in Sahelian as well as the Saharan zones. The Desert date is a multipurpose tree offering protection against desertification, provides food for human and animals in addition to many medicinal uses^{2,3}. For instance, fruit of *B. aegyptiaca* (locally known as *Tooga*) is used in traditional medicine to treat diabetes, asthma, epilepsy, malaria, etc. Moreover, the seed or Kernel of *B. aegyptiaca* fruit is very rich in oil (46.0–54.7%) particularly unsaturated fatty acid (up to 75% of the total fatty acids) and protein (26.1–34.3%)^{1,4}. Some authors successfully tested *B. aegyptiaca* oil for biodiesel production and showed that it can be an alternate diesel^{5,6}.

Due to its extreme resistance to drought as well as its diverse set of natural regeneration strategies through seeds, suckers and rejuvenation, *B. aegyptiaca* has recently identified as one of the native plants for restoring of degraded Sahelian ecosystem in the so called Great Green Well (GGW) project⁷. This project aims to create a 15-km-wide (north–south) green belt of trees south of the Saharan desert across more than 11 African countries (from Senegal to Djibouti)^{8,9}.

With two-third of its surface areas lying in the African great Sahara Desert, Mauritania like many other Sahelian countries was faced during the 1970s–1980s with the severe drought resulting in huge socio-economic and

¹Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Faculty of Sciences, Mohammed V University, Rabat, Morocco. ²Université de Nouakchott Al-Aasriya, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire santé, environnement et société (LE2S), Unité de recherche génomes et milieu (GEMI), Nouakchott, Mauritanie. ✉email: a.filalimaltouf@gmail.com

Primers	Sequence 5' → 3'	TNB	NPB	PIC	MI	RP
BTH1	(AG) ₈ C	31	31	0.16	5.0	6.9
BTH2	(AG) ₈ T	44	44	0.22	9.6	12.8
BTH3	(AG) ₈ TC	21	21	0.16	3.3	4.5
BTH4	(AG) ₈ CA	38	38	0.25	9.7	13.7
BTH5	(AG) ₈ TA	28	28	0.26	7.3	9.9
BTH6	(AG) ₈ CC	36	36	0.29	10.3	14.6
BTH8	(CT) ₈ G	35	35	0.13	4.7	5.9
BTH9	(CT) ₈ T	26	26	0.28	7.3	10.1
BTH10	(GA) ₈ C	32	32	0.27	8.6	11.8
BTH11	(GA) ₈ CT	36	36	0.17	6.0	7.7
BTH12	(GA) ₈ TT	28	28	0.28	7.9	11.2
BTH13	(GT) ₈ C	24	24	0.26	6.3	8.2
B1	(GT) ₆ CC	31	31	0.26	8.0	10.8
B2	(GT) ₆ GG	28	28	0.25	6.9	9.3
TH1	(GT) ₆ CG	32	32	0.23	7.4	10.0
TH2	(GT) ₆ TG	35	35	0.23	8.1	11.1
Average		31.5	31.5	0.23	7.3	9.9

Table 1. ISSR primer used and their respective markers performance indexes. *TNB* total number of bands, *NPB* number of polymorphic bands, *PIC* polymorphism information content, *MI* marker index, *RP* resolving power.

environmental impacts (massive rural exodus, food insecurity and desertification). The limited biodiversity that naturally characterizes arid and desert regions was significantly reduced due to that environmental condition.

Studying genetic variability is of great relevance in plant genetic resource management programs. Through information it provides, it is possible to identify genotypes of interest and use them in the establishment of effective conservation strategies.

Today, molecular markers are by far more suitable to analyze the genetic diversity than morphological and biochemical traits because they segregate as a single gene and they are not affected by the environment¹⁰. A vast array of molecular markers including restriction fragment length polymorphism (RFLP), randomly amplified polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP), inter simple sequence repeats (ISSR) and microsatellites or simple sequence repeats (SSR) have been used to assess genetic diversity in plant species from different parts of the world^{11–15}. ISSRs are segments of DNA that are flanked at both side by short DNA motifs of 2–5 nucleotide long repeated multiple time called microsatellite¹⁶. PCR-ISSR is a quick, cost-effective and high reproducibility molecular technique based on PCR amplification of such multilocus inter-microsatellite sequences. ISSRs are found to be useful in the analysis of genetic variation below the species level, mainly in studying population structure and differentiation¹⁷. Data on the genetic diversity of *B. aegyptiaca* germplasm worldwide are very limited. Domyati et al.²⁹ assessed genetic diversity in 7 medicinal plants, including *B. aegyptiaca* using ISSR, RAPD, and AFLP. They showed that ISSR markers revealed high genetic diversity in *B. aegyptiaca* compared to other markers (RAPD, AFLP). Moreover, AFLP markers have been successfully used to assess genetic diversity amongst *B. aegyptiaca* collected from different geographical regions¹⁸.

In the present study, we evaluate genetic diversity among and within *B. aegyptiaca* populations collected from different bioclimatic zones in Mauritania using ISSR markers. The main objective of this study was to provide baseline molecular information for this economically and ecologically important neglected crop for a best conservation and restoration program of Sahelian ecosystem.

Results

Polymorphism of the ISSR markers. The 16 ISSR primers used generated 505 polymorphic bands ranged in size between 40 and 3369 bp. The primer BTH3[(AG)₈TC] produced the lowest number of bands (21) whereas the primer BTH2[(AG)₈T] showed the highest number (42) with an average of 31.5 fragments per primer (Table 1). The PIC values ranged from 0.13 to 0.29 with an average of 0.23. Marker Index (MI) and resolution power (Rp) averaged 7.28 (range 3.3–10.3) and 9.9 (range 4.5–14.6), respectively.

At the population level, the number of observed alleles (*N_a*) ranged from 0.62 to 1.39 with an average of 1.12, while the number of effective alleles (*N_e*) ranged from 1.13 to 1.23 with an average of 1.2 (Table 2) and the private alleles (*P_a*) ranged from 2 to 14 with an average 8.29. Populations from the Saharo–Sahelian zone (Aghchorguit and Boutilimit) had the lowest (2) and the highest (14) number of private alleles, respectively. Shannon index (*I*) ranged between 0.13 and 0.24 with an average of 0.21. The highest percentage of polymorphic loci (%P = 68.32%) was observed in the population of Yaghref 2 and the lowest (%P = 30.1%) in the population of Tazazet (Table 2).

Code number	Population	Na	Ne	Pa	I	%P
1	Aleg	1.3	1.23	9	0.24	64.75
2	Yaghref_1	1.36	1.23	8	0.24	67.33
3	Yaghref_2	1.39	1.21	9	0.24	68.32
4	Boutilimit	1.3	1.23	14	0.24	64.16
5	Agchorguit	1.23	1.21	2	0.22	61.19
6	Tazyzet	0.62	1.14	5	0.13	30.10
7	Chami	0.63	1.13	11	0.13	30.30
Average		1.12	1.2	8.29	0.21	55.16

Table 2. Genetic diversity within *B. aegyptiaca* populations from Mauritania. *Na* observed number of alleles, *Ne* effective number of alleles, *Pa* private alleles, *I* Shannon's information index, *%P* percentage of polymorphic loci.

Source	df	SS	MS	Est. Var.	% of variation
Among populations	6	1,209,682	201,614	11,893	20
Within populations	84	4,087,373	48,659	48,659	80
Total	90	5,297,055		60,552	100

Table 3. AMOVA for *B. aegyptiaca* populations from Mauritania. *df* degree of freedom, *SS* sum of squares, *MS* mean of squares, *Est. Var.* estimated variation, *% of variation* percentage of variation.

Genetic differentiation and gene flow. The coefficient of genetic differentiation (G_{ST}) between populations and gene flow (Nm) were 0.21 and 1.91, respectively. Analysis of molecular variance showed that 20% of the molecular variance was between populations (Table 3).

Cluster analysis. The dendrogram based on Jaccard's similarity coefficient ranging from 0.14 to 0.56 was constructed using the whole ISSR data matrix (Fig. 1). The obtained dendrogram divided the populations in to two main groups, the largest one contains five geographically distant populations (Aleg, Aghchorguit, Boutilimit, Yaghref1, Yaghref2) and the second group contains Tazyzet and Chami populations. Tazyzet and Chami both from the Saharan zone.

The dendrogram grouped the studied populations into two major clusters and the individuals were separated according to their populations. Some populations of each region were placed into the same sub-cluster and showed high similarities with each other.

Principal coordinates analysis. Principal coordinates analysis (PCoA) was carried out to provide spatial representation of the genetic diversity among the desert date populations (Fig. 2). The first two principal coordinates accounted for 21.3% of the total variance (12.37% and 8.93%, respectively). Obtained picture confirmed the clustering pattern observed using UPGMA analysis and the classification of the *B. aegyptiaca* populations into two major groups. Indeed, populations of Chami and Tazyzet from the Saharan zone are genetically distant from the rest of the populations (Aleg, Agchorguit, Boutilimit, Yaghref 1 and Yaghref 2).

Population structure analysis. To provide further evidence and deduce population structure, Bayesian assignment analyses were used. The maximum log-likelihood given by STRUCTURE and ΔK method was $K=2$ followed by $K=5$ indicating that the populations of *B. aegyptiaca* studied could be grouped into two main populations and five subpopulations (Fig. 3). The populations Tazyzet and Chami form one cluster at $K=2$ and at $K=5$. Whereas the populations Aleg, Agchorguit, Boutilimit, Yaghref 1 and Yaghref 2 are more similar among them and form one genetic group at $K=2$. This group was further separated into 4 sub-clusters at $K=5$. The above analyses (UPGMA and PCoA) indicate a similar result and show two main clusters which is consistent with the STRUCTURE results at $K=2$.

Discussion

B. aegyptiaca is a woody plant endemic to Mauritania as well as the Sahel where it plays an important ecological and socio-economic role. In the present study, genetic diversity among seven *B. aegyptiaca* natural populations from different bioclimatic stages in Mauritania was assessed using a set of ISSR primers. The study revealed significant number of markers (505 polymorphic bands) in the 16 tested ISSR primers compared to that reported in *B. aegyptiaca* species from Egypt (177 bands and 17 ISSR primers)²⁹. Khamis et al.¹⁸ reported 477 polymorphic bands using AFLPs markers in *B. aegyptiaca* from different geographical origins. However, polymorphism information content (PIC) obtained in our study (0.23), is lower than that reported by Domyati et al.²⁹ who found a PIC value of 0.37. Variable PICs values from other perennial dicotyledonous species such as jujub (*Z. mauritiana*) (PIC = 0.42) and cork oak (*Quercus suber* L.) (PIC = 0.28) have been reported^{30,31}. Moreover, marker index (MI)

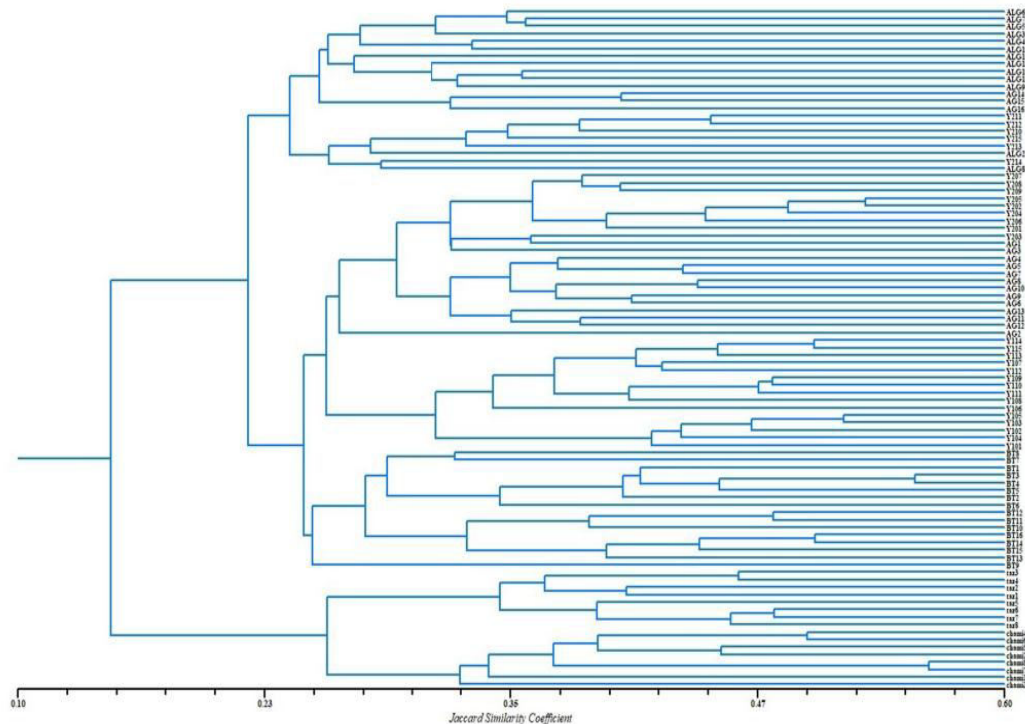


Figure 1. UPGMA-dendrogram based on Jaccard's similarity coefficient, of 7 natural populations of *B. aegyptiaca*, implemented by the software NTSYS-PC version 2.02 (Exeter software, New York).

for the present study populations (7.3) was very low compared to that of 53.34 found by Domyati et al.²⁹ in *B. aegyptiaca* using ISSR marker. The difference in the markers in formativeness and performance between our study and that of Domyati et al.²⁹ could be the results of the difference in the primers sequences used and the genetic background of the populations tested. Nevertheless, the level of polymorphism found in our study is consistent with that reported for similar long-lived perennial species such as Cork Oak³¹ and Baobab (*Adansonia digitata*)³².

Moreover, natural populations of *B. aegyptiaca* in the Saharan zone are subjected to several anthropogenic (the need of wood for fuel), animal (mainly dromedary grazing) and environmental (extreme aridity) pressures, that could be probably the cause of the low observed variability. It is worth noting that *B. aegyptiaca* trees in this desert region, which probably constitutes the northern limit of the species distribution in the country, are much dispersed and not abundant.

In addition, private alleles, particularly in the Saharan and Saharo-Sahelian populations, were noted. These alleles reveal information about the differentiation of species and could be involved in adaptation of the species to local environment. Also, the private alleles occur as a result of mutation³³ and can be studied to reveal genes of adaptation. These results can be used to identify the ecotypes of this tree.

The AMOVA values also provide an insight into intra- and inter-population differentiation of *B. aegyptiaca*. Indeed, AMOVA showed that 80% of the total genetic variations was attributed to variations within populations rather than between populations ($G_{ST} = 0.21$). These findings are comparable to those reported by Alansi et al.¹⁴ in *Z. spina-christi* L. ($G_{ST} = 0.17$) and Medhi et al.³⁴ in *Xanthoxylum* spp. ($G_{ST} = 0.24$). Furthermore, it was observed that 100% of the total variation in *B. aegyptiaca* populations from Egypt was attributed to difference within populations²⁹. The high level of the intra-population diversity in *B. aegyptiaca* corroborate that long-lived, cross-pollinated and widespread plant species maintains high level of intra- population differentiation and low level of inter-population diversity³⁵. For instance, an allopollination rate of 37% for *B. aegyptiaca* from Senegal was reported. This cross-pollination is brought about by wind and insects³⁶. It is worth noting that geographically distant populations are genetically related as revealed by principal coordinates analysis, UPGMA dendrogram, based on Jaccard's similarity coefficient, and population structure analysis. This finding can be explained by the absence of geographical barriers between the regions studied and effective gene flow ($N_m = 1.91$). One factor that could maintain gene flow between geographically separated populations is seed dispersal through animal grazing³⁵. In the case of *B. aegyptiaca*, one of the common preferred forage species of Camel dromedary, seeds can be transferred as Camel graze from one land to another during transhumance across Sahara, thus explaining why this species is common in the Sahel and Sahara.

To our knowledge, this is the first study addressing the genetic diversity of *B. aegyptiaca* from Mauritania. It demonstrates that ISSR markers offer a useful approach for characterizing genetic diversity within and among *B. aegyptiaca* populations. Further studies for analyzing genetic diversity using other ISSR primers and *B. aegyptiaca*

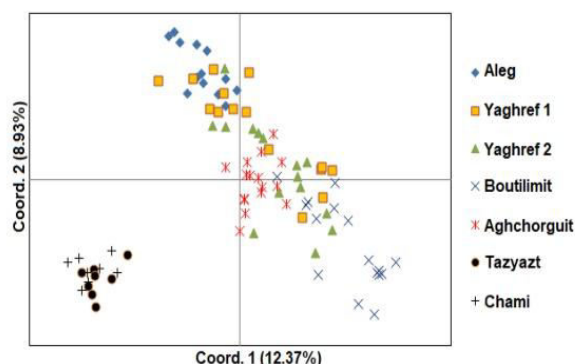


Figure 2. Two-dimensional representations of the first two axes of the principal coordinates analysis (PCoA) from the matrix of genetic distances of 91 samples from 7 populations.

populations may help the selection of plants of interest particularly in the context of the GGW project. Furthermore, it is useful to conduct comparative studies with different molecular and even morphological marker.

Materials and methods

Plant material. In this study, we evaluated 91 accessions belonging to 7 natural populations of *B. aegyptiaca*. These populations were collected from Aleg in the Sahelian zone (rainfall >200 mm), Boutilimit, and Aghchorguit, in the Saharo-Sahelian zone (rainfall between 100 and 200 mm) and Yaghref1, Yaghref2, Tazyazt and Chami from the Saharan zone (rainfall <100 mm) (Fig. 4).

The fresh leaves were collected from 10 to 15 trees per population and per study sites. Due to the asexual reproduction mode of the desert date tree through suckering¹⁵, a minimum distance of not less than 20 m was maintained between sampled trees for the majority of populations. The leaves were transported in a container in presence of ice to the laboratory where they were either stored at -80°C or lyophilized for further processing.

DNA extraction. Genomic DNA was extracted from 20 mg of lyophilized leaves using the commercial Isolate II Plant DNA Mini Kit (Bioline, France) according to the manufacturer's instructions. DNA integrity and purity were estimated using a spectrophotometer (NanoDrop 2000, USA) and 1% agarose gel electrophoresis.

DNA amplification by ISSR. We tested 17 anchored ISSR primers of which 16 given reproducible bands. Table 1 summarizes the main characteristics of the ISSR primers used. PCR was carried out according to the protocol of Zietkiewicz et al.²⁰ with slight modifications. Briefly, 25 μl of PCR mixture contained 4 ng/ μl genomic DNA, 1U of Taq DNA Polymerase, 1 \times PCR buffer, 2 mM of each dNTPs, 2.5 mM MgCl_2 and 4 μM of each primer. DNA amplification was performed in a 96-well thermal cycler (Veriti, California, USA). Cycling included a 5 min initial denaturation at 94°C , following by 32 cycles of: 30 s at 94°C , 45 s at annealing temperature of each primer, 2 min at 72°C and a final elongation cycle of 7 min at 72°C . The ISSR-PCR products were separated on 2.8% agarose gel, stained with ethidium bromide and visualized under UV. Band size was estimated by comparing the bands with 1 kb ladder (Invitrogen, USA).

Data analysis. The binary data matrix was analyzed using GelCompar II software (version 2.5, Applied Maths, Kortrijk, Belgium). Only clear and sharp bands were considered as ISSR markers. They were then coded as 1 for the presence and 0 for the absence. From this binary presence/absence matrix, we calculated the polymorphism information content (PIC) according to the formula, described by Roldán-Ruiz et al.²¹, $\text{PIC}_i = 2f_i(1 - f_i)$, where PIC_i is the polymorphic information content of marker i , f_i is the frequency of the present fragments and $(1 - f_i)$ is the frequency of the absent fragments. Marker index (MI) was calculated according to the Powell et al.²² formula: $\text{MI} = \text{PIC} \times \text{EMR}$, where EMR (effective multiple ratios) is defined as the product of the fraction of polymorphic loci (β) and the number of polymorphic loci (n). The resolving power (RP) for each primer was calculated using the formula of Prevost and Wilkinson²³: $\text{Rp} = \Sigma \text{Ib}$, where Ib is the informative fragment and calculated as follows: $\text{Ib} = 1 - [2 \times |0.5 - p|]$, where p is the proportion of the genotypes containing the fragment.

To estimate genetic diversity, five parameters were calculated using GenAlex v6.5^{23,24} including the number of alleles (N_a), the effective alleles (N_e), the private alleles (P_a), the Shannon's information index (I) and the percentage of polymorphic loci (%P).

POPGENE version 1.32²⁵ was used to compute the coefficient of gene differentiation (G_{st}) and the gene flow (N_m). Principal coordinate analysis (PCoA) and Molecular Analysis of Variance (AMOVA) were also calculated using the GenAlex v6.5 program.

The data were analyzed using the SIMQUAL (similarity for qualitative data) method to generate Jaccard similarity coefficients. These similarity coefficients were used to construct dendrogram using the Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean (UPGMA) employing the SAHN (Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested clustering) routine from NTSYS-PC v. 2.02 program (Applied Biostatistics, Setauket, N.Y.)²⁶

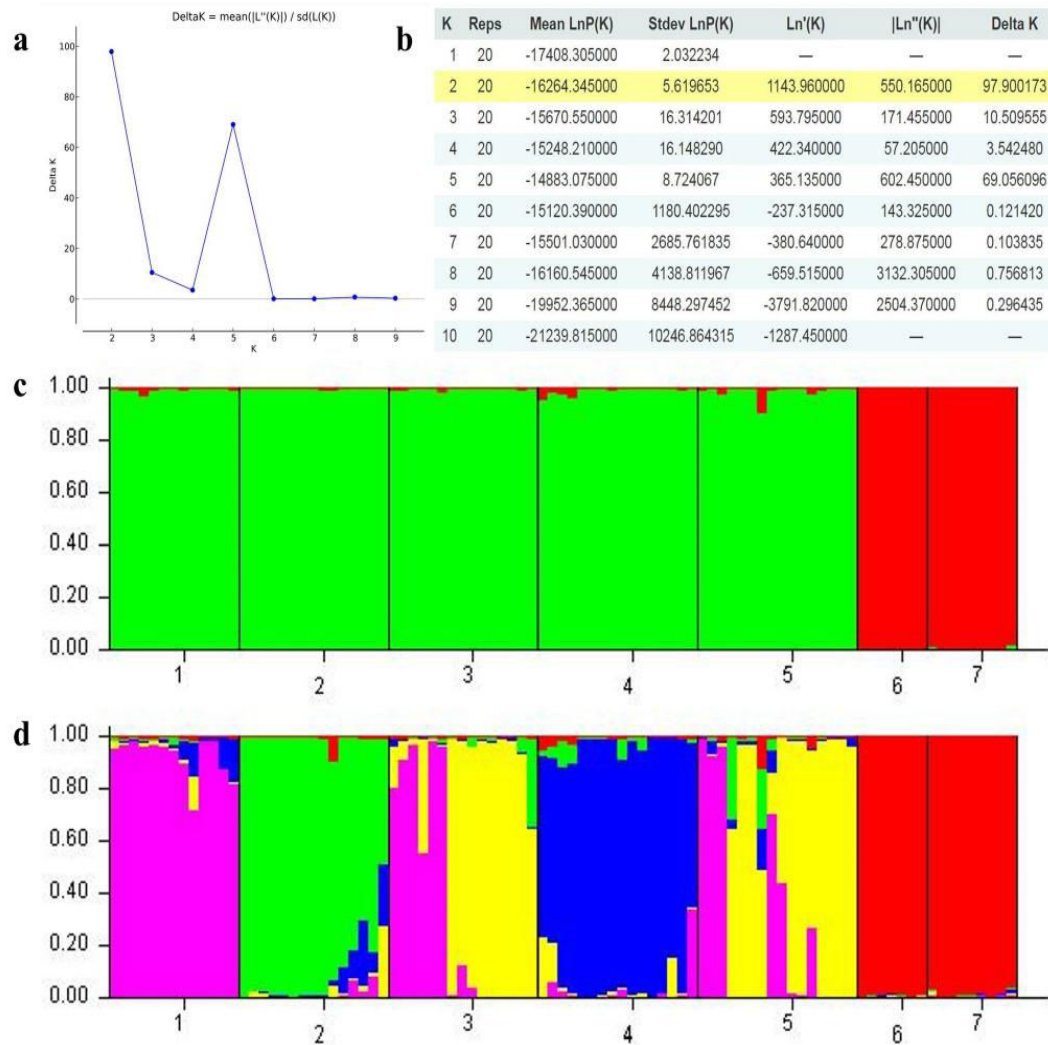


Figure 3. Results of Bayesian structure of the populations of *B. aegyptiaca* obtained with the structure program³⁷ The STRUCTURE HARVESTER based on the approach of Evanno et al.²⁷ indicates Delta K was achieved its highest peak when K=2 followed by K=5 (a). (b) Table output of the Evanno method results which Yellow highlight shows the maximum value in the Delta K column. From top to bottom the clusters at K=2 (b) and at K=5 (c). Each population is represented by a single vertical bar. The bar is divided into K colors, where K represents the number of genetic groups assumed as identified by the STRUCTURE program. Population's numbers see Table 2.

The genetic structure pattern was analyzed using a Bayesian algorithm implemented in the STRUCTURE 2.3.4 software which to infer the number of genetically distinct clusters (K) without a priori group designation. Twenty independent simulations were carried out for each simulated value of K (the number of populations). The range of possible clusters was set from 1 to 10. Analysis parameters included a burn-in period of 30,000 iterations and 50,000 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) repetitions with the selection of admixture and correlated allele frequencies models. The credible number of populations was assessed using the Evanno's ΔK method²⁷ based of maximum value of ΔK with online tool Structure Harvester²⁸.

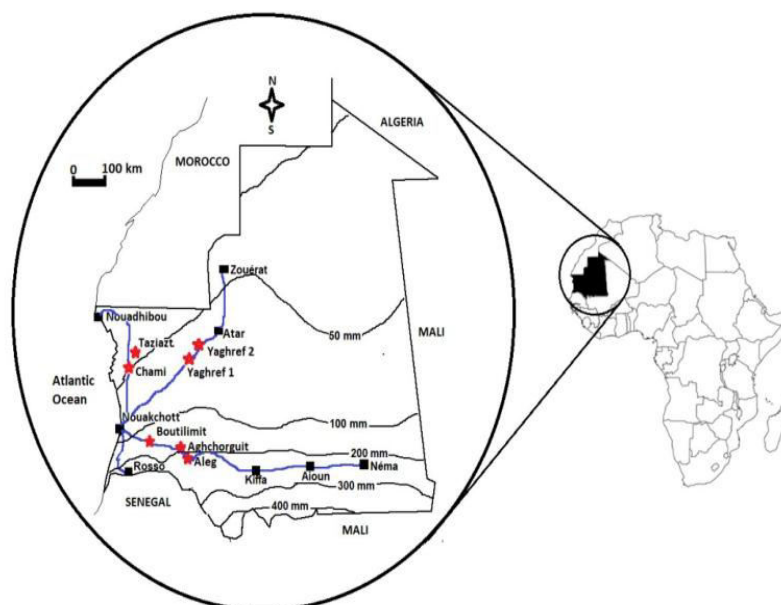


Figure 4. Map of Mauritania showing the study sites and rainfall patterns.

Data availability

All relevant data are within the paper.

Received: 11 November 2019; Accepted: 16 August 2020

Published online: 11 September 2020

References

- Mohamed, A. M., Wolf, W. & Spiess, W. E. L. Physical, morphological and chemical characteristics, oil recovery and fatty acid composition of *Balanites aegyptiaca* Del. kernels. *Plant Foods Hum. Nutr.* **57**, 179–189 (2002).
- Niang, K. *et al.* Revisiting tree species availability and usage in the Ferlo region of Senegal: a rationale for indigenous tree planting strategies in the context of the great green wall for the sahara and the Sahel initiative. *J. Exp. Biol. Agric. Sci.* **2**, 529–537 (2014).
- Chothani, D. & Vaghasiya, H. A review on *Balanites aegyptiaca* Del (desert date): phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activity. *Pharmacogn. Rev.* **5**, 55–62 (2011).
- Khalil, M. I. & Khalil, I. M. Re-evaluation of fatty acids composition, physicochemical properties and thermal stability of Sudan *Balanites aegyptiaca* (Lalob) fruit oil. *Agric. Biol. J. N. Am.* **8**, 51–57 (2017).
- Naik, N. S. & Balakrishna, B. Assessment of toxic content in *Balanites aegyptiaca* seed cake and use of enzymatic-catalysed biodiesel in diesel engine. *Int. J. Ambient Energy* **39**, 488–495 (2018).
- Sunil Naik, N. & Balakrishna, B. Effects of EGR on performance and emissions of a diesel engine fuelled with *balanites aegyptiaca*/diesel blends. *Int. J. Ambient Energy* **11**, 150–158 (2018).
- Niang, K., Ndiaye, O., Diallo, A. & Guisse, A. Flore et structure de la végétation ligneuse le long de la Grande Muraille Verte au Ferlo, nord Sénégal. *J. Appl. Biosci.* **79**, 6938–6946 (2014).
- Duponnois, R. *La Grande Muraille Verte: Capitalisation des recherches et valorisation des savoirs locaux* (IRD Éditions, 2013).
- Sagna, M. B., Niang, K. S., Guisse, A. & Goffner, D. *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile: distribution géographique et connaissances ethnobotaniques des populations locales du Ferlo (nord Sénégal). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **18**, 503–511 (2014).
- Kumar, P., Gupta, V. K., Misra, A. K., Modi, D. R. & Pandey, B. K. Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics* **2**, 141 (2009).
- Miller, J. C. & Tanksley, S. D. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor. Appl. Genet.* **80**, 437–448 (1990).
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. & Tingey, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* **18**, 6531–6535 (1990).
- Herselman, L. Genetic variation among Southern African cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes as revealed by AFLP analysis. *Euphytica* **133**, 319–327 (2003).
- Alansi, S., Tarrow, M., Al-Qurainy, F., Khan, S. & Nadeem, M. Use of ISSR markers to assess the genetic diversity in wild medicinal *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd. collected from different regions of Saudi Arabia. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **30**, 942–947 (2016).
- Mouhaddab, J. *et al.* Using microsatellite markers to map genetic diversity and population structure of an endangered Moroccan endemic tree (*Argania spinosa* L. Skeels) and development of a core collection. *Plant Gene* **10**, 51–59 (2017).
- Ng, W. L. & Tan, S. G. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: are we doing it right. *ASM Sci. J.* **9**, 30–39 (2015).
- Wei, L. & Wu, X.-J. Genetic variation and population differentiation in a medical herb *Houttuynia cordata* in China revealed by inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 8159–8170 (2012).
- Khamis, G., Schaarschmidt, F. & Papenbrock, J. Genetic diversity among populations of the xerophytic tree species *Balanites aegyptiaca* and its morpho-physiological responses to water deficiency. *Afr. J. Agric. Res.* **12**, 3252–3269 (2017).
- Tchiagam, J.-B.N., Ndzié, J.-P., Bellefontaine, R. & Mapongmetsem, P.-M. Multiplication végétative de *Balanites aegyptiaca* (L.) Del., *Diospyros mespiliformis* Hochst. Ex. A. Rich. et *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. au nord du Cameroun. *Fruits* **66**, 327–341 (2011).

20. Zietkiewicz, E., Rafalski, A. & Labuda, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* **20**, 176–183 (1994).
21. Roldán-Ruiz, I., Dendaub, J., Van Bockstaele, E., Depicker, A. & De Loose, M. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Mol. Breed.* **6**, 125–134 (2000).
22. Powell, W. *et al.* The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.* **2**, 225–238 (1996).
23. Prevost, A. & Wilkinson, M. J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. Appl. Genet.* **98**, 107–112 (1999).
24. Peakall, R. & Smouse, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* **28**, 2537–2539 (2012).
25. Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T., Ye, Z. H. & Mao, J. X. POPGENE, version 1.32: the user friendly software for population genetic analysis. *Mol. Biol. Biotechnol. Cent. Univ. Alta. Edmont. AB Can.* (1999).
26. Rohlf, F. J. *NTSYS-pc Version. 2.02 i Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* (Applied Biostatistics Inc., Exeter Software, Setauket, 1997).
27. Evanno, G., Regnaut, S. & Goudet, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* **14**, 2611–2620 (2005).
28. Earl, D. A. & von Holdt, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* **4**, 359–361 (2012).
29. Domyati, F. M. *et al.* Molecular markers associated with genetic diversity of some medicinal plants in Sinai. *J. Med. Plants Res.* **5**, 200–210 (2011).
30. Singh, A. K. *et al.* Assessment of genetic diversity in *Ziziphus mauritiana* using inter-simple sequence repeat markers. *J. Plant Biochem. Biotechnol.* **16**, 35–40 (2007).
31. Laakili, A. *et al.* Diversity and spatial genetic structure of natural Moroccan *Quercus subser* L. assessed by ISSR markers for conservation. *Physiol. Mol. Biol. Plants* **24**, 643–654 (2018).
32. Munthali, C. R. Y., Chirwa, P. W., Changadeya, W. J. & Akinnifesi, F. K. Genetic differentiation and diversity of *Adansonia digitata* L. (baobab) in Malawi using microsatellite markers. *Agrofor. Syst.* **87**, 117–130 (2013).
33. Mariette, S., Le Corre, V., Austerlitz, F. & Kremer, A. Sampling within the genome for measuring within-population diversity: trade-offs between markers. *Mol. Ecol.* **11**, 1145–1156 (2002).
34. Medhi, K., Sarmah, D. K., Deka, M. & Bhau, B. S. High gene flow and genetic diversity in three economically important *Zanthoxylum* spp. of Upper Brahmaputra Valley Zone of NE India using molecular markers. *Meta Gene* **2**, 706–721 (2014).
35. Hamrick, J. L., Godt, M. J. W. & Sherman-Broyles, S. L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New For.* **6**, 95–124 (1992).
36. Ndoye, M. *et al.* Reproductive biology in *Balanites aegyptiaca* (L.) Del., a semi-arid forest tree. *Afr. J. Biotechnol.* **3**, 40–46 (2004).
37. Pritchard, J. K., Stephens, M. & Donnelly, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945–959 (2000).

Acknowledgements

SMA obtained a financial support from: Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC), French Embassy, Nouakchott, Mauritania.

Author contributions

S.M.A., designed the study, performed the sampling and carried out laboratory experiments, M.A., O.P., M.M., supervised the laboratory experiments and analyzed the data, L.M. supervised the laboratory experiments, analyzed the data and drafted the manuscript, A.M.S.B. and A.F.M. supervised the laboratory work, drafted the manuscript and critically revised the final manuscript. All co-authors read and approved the manuscript.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Correspondence and requests for materials should be addressed to A.F.-M.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2020

PURIFYING GENOMIC DNA FROM PLANT

- 1 Homogenization**

Homogenize up to 100mg wet weight or up to 20mg dry weight (lyophilized) plant material.
Proceed to cell lysis using Lysis Buffer PA1 (step 2.1) or alternatively Lysis Buffer PA2 (step 2.2).
 - 2 Lysis**
 - 2.1 Cell lysis with Lysis Buffer PA1**

Transfer resulting powder to a new tube and add 400µl Lysis Buffer PA1.
Vortex mixture thoroughly.
Add 10µl RNase A solution and thoroughly mix sample.
Incubate at 65°C for 10 min.
Proceed to step 3.
 - 2.2 Cell lysis with Lysis Buffer PA2**

Transfer resulting powder to a new tube and add 300µl Lysis Buffer PA2.
Vortex mixture thoroughly.
Add 10µl RNase A solution and thoroughly mix sample.
Incubate at 65°C for 10 min.
Add 75µl Precipitation Buffer PL3, mix thoroughly and incubate for 5 min on ice to precipitate SDS completely.
Proceed to step 3.
 - 3 Filter crude lysate**

Place ISOLATE II Filter (violet) into a new 2ml Collection Tube and load lysate onto column.
Centrifuge 2 min at 11,000 x g.
Collect clear flow-through and discard ISOLATE II Filter.
If a pellet is visible in flow-through, transfer clear supernatant without disturbing pellet to a new 1.5ml microcentrifuge tube (not supplied).
 - 4 Adjust DNA binding conditions**

Add 450µl Binding Buffer PB. Mix thoroughly by pipetting up and down 5 times or by vortexing.
 - 5 Bind DNA**

Place ISOLATE II Plant DNA Spin Column (green) into a new 2ml Collection Tube and load sample (max. of 700µl).
Centrifuge 1 min at 11,000 x g and discard the flow-through.
-

6 Wash and dry silica membrane

- Add 400µl Wash Buffer PAW1.
Centrifuge 1 min at 11,000 x g and discard flow-through.
- Add 700µl Wash Buffer PAW2.
Centrifuge 1 min at 11,000 x g and discard flow-through.
- Add another 200µl Wash Buffer PAW2.
Centrifuge 2 min at 11,000 x g to remove wash buffer and to dry silica membrane completely.

7 Elute DNA

Place ISOLATE II Plant DNA Spin Column into a new 1.5ml microcentrifuge tube (not supplied).

Add 50µl preheated Elution Buffer PG (65°C) onto center of silica membrane.

Incubate 5 min at 65°C.

Centrifuge 1 min at 11,000 x g.

Repeat this step with another 50µl Elution Buffer PG (65°C) and elute into same tube.

8750121

Please consult the ISOLATE II Plant DNA Kit Product Manual before using this protocol for the first time. For technical support please email tech@bioline.com or visit www.bioline.com/isolate.



Annexe 4: Questionnaire Ethnobotanique

Questionnaire

Date:..... Région :..... Village :...
L'informateur :.....
Age : Profession:
Sexe : Masculin /__/ Féminin /__/
Niveau académique : Analphabète /__/ Primaire /__/ Secondaire /__/ Universitaire /__/

1) Connaissez-vous *Balanites egyptiaca*



2) Quelle est son nom vernaculaire :

- en Hassaniya /_____/
- en Pullar /_____/
- en Soninké /_____/
- en Wolof /_____/
- Je ne sais pas /_____/

3) Quelles est son abondance dans la zone :

- Très abondant
- abondant
- rare
- très rare

4) A quelle saison de l'année récoltez vous les fruits ?

- Automne /__/
- Hiver /__/
- Eté /__/
- Printemps /__/

5) A quel stade de maturation commence la récolte des fruits

- La maturité complète /__/
- La semi-maturation /__/

6) Quelle est la couleur de fruit au stade de maturation :

- Vert /__/
- Jaune /__/
- Vert-jaunâtre /__/

7) Le goût du fruit est :

- Sucré /__/
- Amère /__/
- Amère-sucré /__/

- Sans goût /__/
- 8) Quel est le mode de consommation du fruit
- Cru /__/
 - Cuit /__/
- 9) Quelle est la méthode utilisée pour la conservation du fruit
- A l'abri de la lumière /__/
 - Exposé à la lumière /__/
 - Autres /__/
- 10) Quelle est la destinée de la production de fruit de *B. aegyptiaca*
- Autoconsommation /__/
 - Marché local /__/
 - Autres /__/
- 11) Quels sont les usages de *B. aegyptiaca* relatifs à l'alimentation humaine ?
- Cuisine traditionnelle /__/
 - Pâtisserie traditionnelle /__/
 - Jus et des diverses boissons /__/
 - Autres /__/
- 12) Selon vous, quelles sont les recettes alimentaires les plus utilisées dans votre village à base de Balanites?
-
-
- 13) Dans le cadre des usages alimentaires impliquant les fruits, quelle partie du fruit utilisez-vous le plus souvent ?
- L'épicerpe et la pulpe ensemble
 - La pulpe débarrassée de l'épicerpe
 - L'amande
- 14) Si quelqu'un entre vous se sent malade, vous vous adressez à :
- la médecine traditionnelle /__/
 - la médecine moderne /__/
- Si c'est les deux qu'elle est la première :
- Médecine moderne /__/
 - Médecine traditionnelle /__/
- 15) Quelles sont les maladies que vous traitez par les fruits ou d'autres composants de *B.aegyptiaca* ?
- Diabète /__/
 - Hypertension /__/
 - L'asthme /__/
 - Les maladies cardiovasculaires /__/
 - Les maladies dermiques /__/
 - Contre la douleur abdominale /__/
 - Paludisme /__/
 - Purgative /__/
 - Autres (préciser) :
- 16) Quelles sont les parties les plus utilisées de *B.aegyptiaca*
- Tige /__/
 - Fleurs /__/
 - Fruits (pulpes) /__/

- Graine /__/
 - Écorce /__/
 - Feuilles /__/
 - Racines /__/
- 17) Dans le cadre du traitement impliquant les fruits, quelle partie du fruit utilisez-vous le plus souvent ?
- L'épicarpe et la pulpe ensemble
 - La pulpe débarrassée de l'épicarpe
 - L'amande
- 18) Pour les maladies dont les traitements impliquent les fruits, vous prescrivez combien de fruits ?
- 1fruit/jour
 - 3fruits/semaine
 - Autres
- 19) Pour les maladies dont les traitements impliquent les fruits, vous prescrivez l'usage des fruits sous quel état ?
- Fruits frais
 - Fruits séchés
 - Poudre
- 20) Forme d'emploi:
- Macération /__/
 - Décoction /__/
 - Infusion /__/
 - Poudre /__/
 - Huiles /__/
- Autres :
- 21) Quelle est la durée du traitement ?
- Un jour /__/
 - Une semaine /__/
 - Un mois /__/
 - Jusqu'à la guérison /__/
- 22) combien de prise par jour
- 1fois/jour
 - 2fois/jour
 - 3fois/jour
 - Autres

Annexe 5 : Tableau 16

Tableau 16: Moyennes et écartypes des variables physico-chimiques mesurées chez différentes populations de *B. aegyptiaca*.

Study site	Fruit Weight (g)	Fruit Length (mm)	Fruit width (mm)	Moisture content (%)	Total Sugars (g/100g DM)	Proteins Content* (g/100g DM)	Lipids Content* (g/100 g DM)	pH	Titrateable Acidity (g/100g DM)
Aleg	4,1±0,5 ^a	25,7±3,4 ^a	15,8±1,9 ^a	28,1±9,0 ^a	35,4±5,3 ^a	28,3±1,1 ^a	43,3±1,0 ^a	4,7±0,1 ^a	0,2±0,05 ^a
Aghchorguit	5,8±0,9 ^b	25,2±1,4 ^a	20,5±2,1 ^b	24,6±2,6 ^a	23,6±1,5 ^a	32,5±0,4 ^b	45,1±1,3 ^b	4,9±0,1 ^b	0,3±0,1 ^b
Boutilimit	4,5±1,0 ^a	23,5±3,1 ^a	19,4±1,2 ^b	18,3±4,0 ^b	32,5±5,3 ^b	29,2±0,2 ^a	46,4±0,2 ^c	4,8±0,2 ^{a,b}	0,1±0,02 ^c
Yaghref	4,0±0,2 ^a	19,5±1,1 ^b	19,7±0,8 ^b	20,3±5,7 ^{a,b}	45,8±7,1 ^c	28,1±0,1 ^a	48,9±1,1 ^d	4,9±0,1 ^b	0,3±0,1 ^b
Chami	4,4±0,4 ^a	23,9±0,7 ^a	19,4±2,8 ^b	21,1±3,0 ^{a,b}	29,5±8,1 ^a	ND	ND	4,9±0,1 ^b	0,1±0,02 ^c

* Proteins and lipid content were measured in the fruit kernel. ND: not determined. Means in the same column sharing the same letter(s) are not significantly different at ($p < 0.05$) according to the Student–Newman–Keuls test.

Annexe 6 : Tableau 17

Tableau 17 : Analyse en composantes principales réalisées sur la matrice des données.

Variable	Code	PC1	PC2	PC3
Total sugars	TS	,295	-,681	,138
Total Polyphenols	TP	,849	-,073	,137
Total flavonoids	TF	-,013	,236	,471
Antioxidant activity	AA	,916	-,003	-,284
Protein content	PC	-,182	,662	,519
Lipid content	LC	,086	-,104	,840
Width of the fruit	WF	,411	,623	,190
Soluble tanins	ST	,830	-,160	-,014
Fruit length	FL	-,501	,270	-,321
pH	pH	,439	,063	,299
Fruit weight	FW	-,081	,822	-,329
water content	WC	-,154	,106	-,694
Titratable acidity	TA	-,059	,485	,361

Annexe 7 : Figure 27

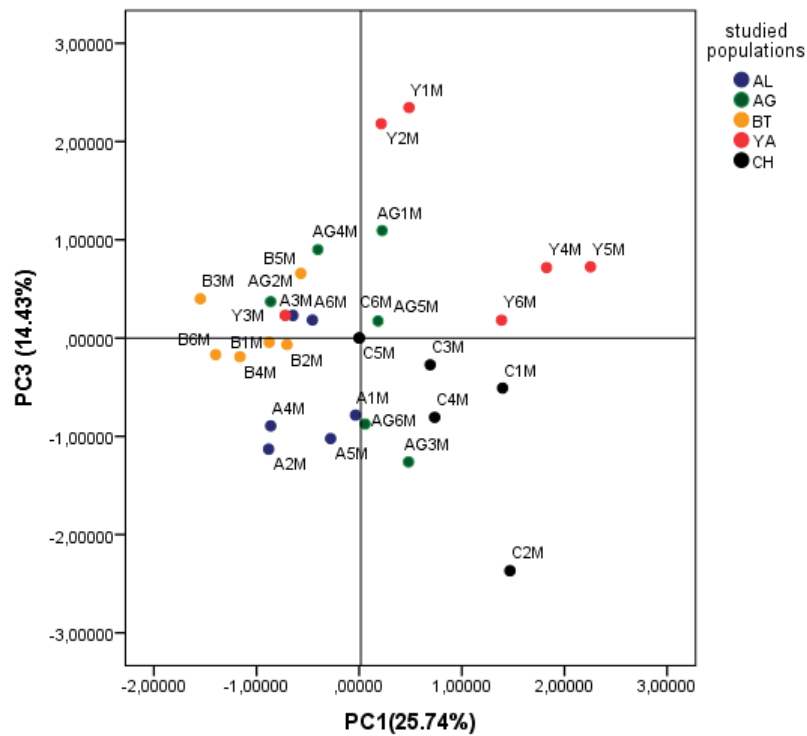


Figure 27 : Analyse en composantes principales réalisée sur les paramètres physicochimiques du fruit de *B. aegyptiaca* : projection des arbres sur les axes 1-3 de la composante principale.

Résumé

L'objectif de ce travail a été d'estimer et de comparer la diversité génétique intra et inter-population de *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. dans les régions sahélo-sahariennes en Mauritanie et aussi d'analyser et comparer la composition physicochimique des fruits.

Une enquête ethnobotanique réalisée auprès de 70 personnes à Nouakchott a montré que toutes les parties de la plante sont utilisées par la population mauritanienne à des fins alimentaires, médicinales et fourragères. Les fruits et les feuilles restent les parties les plus utilisées.

L'analyse physico-chimique a révélé que la pulpe de fruit de *B. aegyptiaca* est une bonne source de sucres (33 g/100 g MS), de composés bioactifs (polyphénols, flavonoïdes, tannins), avec une activité antioxydante relativement importante. Les graines sont riches en lipides (46.2 g/100 g MS) et en protéines (29.5 g/ 100 g MS). D'autre part, 16 amorces ISSR, ont été utilisées pour évaluer la diversité génétique de *B. aegyptiaca*. A partir de ces amorces, 505 bandes polymorphes ont été générées avec une moyenne de 31.5 fragments par amorce. Les principaux paramètres (PIC, MI, et RP) ont montré que les marqueurs utilisés présentent une informativité moyenne. Le coefficient de différenciation génétique (GST) est de 0,2 ; il a été confirmé par l'Analyse de Variance Moléculaire (AMOVA). Cette dernière a révélé que 80% de variations génétiques sont intra-populations et 20% entre les populations. Cette répartition de la variabilité est justifiée par à un flux de gènes élevé ($N_m = 1,91$). Le dendrogramme (UPGMA) basé sur le coefficient de similarité de Jaccard, PCoA et l'analyse de la structure génétique ont divisé les sept populations en deux principaux groupes. Un des groupes contient seulement les deux populations de la zone saharienne (Chami et Tazyazet). Ces résultats constituent des données de base pour les programmes de conservation de cette ressource génétique négligée.

Mots-clefs : *Balanites aegyptiaca*, physico-chimie, activité antioxydante, diversité génétique, conservation, Mauritanie

Abstract

The objective of this work was to estimate and compare the intra and inter-population genetic diversity of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. in the Sahelo-Saharan regions in Mauritania, also to analyse and compare the physicochemical composition of the fruits.

An ethnobotanical survey carried out among 70 people in Nouakchott showed that all parts of the plant are used by the Mauritanian population for food, medicinal and fodder purposes. Fruits and leaves remain the most used parts.

The physico-chemical analysis revealed that the fruit pulp of *B. aegyptiaca* is a good source of sugars (33 g / 100 g DM), of bioactive compounds (polyphenols, flavonoids, tannins), with a relatively important antioxidant activity. The seeds are rich in lipids (46.2 g / 100 g DM) and proteins (29.5 g / 100 g DM). On the other hand, 16 ISSR primers were used to assess the genetic diversity of *B. aegyptiaca*. From these primers, 505 polymorphic bands generated with an average of 31.5 fragments per primer. The main parameters (PIC, MI, and RP) showed that the markers used present medium informativity. The coefficient of genetic differentiation (GST) is 0.2; it was confirmed by the Analysis of Molecular Variance (AMOVA). The latter revealed that 80% of genetic variations are intra-populations and 20% between populations. This distribution of variability is justified by a high gene flow ($N_m = 1.91$). The dendrogram (UPGMA) based on Jaccard's coefficient of similarity, PCoA and genetic structure analysis divided the seven populations into two main groups. One of the groups contains only the two populations of the Saharan zone (Chami and Tazyazet). These results provide basic data for conservation programs for this neglected genetic resource.

Key Words: *Balanites aegyptiaca*, physico-chemistry, antioxidant activity, genetic diversity, conservation, Mauritania