

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur

et de la Recherche Scientifique



Université de Blida1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option: Biodiversité et Physiologie Végétale

**Évaluation de la diversité génétique chez le Figuier (*Ficus carica*),
par l'utilisation des marqueurs moléculaires: Les microsatellites.**

Présentées par:

Soutenu le 13/07/2021

BENFARES ABDELHAK

AMIRI ZAKARIYA

Devant le jury:

M^{me} ZERKAOUI A.	MAA UDB1	Présidente
M^r GRANDI M.	MCB UDB1	Examineur
M^{me} AMEJKOUH H.	MAA UDB1	Promotrice

Année Universitaire: 2020/2021

REMERCIEMENTS

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH Miséricordieux le tout puissant qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

Nous tenons à exprimer notre profond remerciement et nous vive reconnaissance à notre promotrice, Mme AMEJKOUH, Enseignante au département de biologie, Faculté des SNV, Université Saad Dahleb Blida 1, pour nous avoir fait l'honneur de diriger ce travail. Nous voudrions qu'elle trouve ici toute nos reconnaissance pour ses encouragements, ses conseils, ses recommandations, le temps qu'elle nous a consacrée et sa bienveillance.

Nous remercions vivement les membres de ce jury :

Mme Zerkaoui, Enseignante à la Faculté SNV, Université Saad Dahleb Blida 1. Nous sommes très honorées que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et soyez assuré de notre profonde gratitude. Mr Grandi , Enseignant a la Faculté des SNV, Université Saad Dahleb Blida 1, Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à notre travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer.

Un grand merci pour notre très chère Mme chérif H. chef d'option BPV.

A tous nos enseignants qui nous ont accompagné tout au long de notre parcours :

Mme Bradea , Mme Teouaibia, Mme Benaasel , Mme Faidi, Mme Amara, Mme Bensalah, Mr Rouibi, Mr Guedioura, Et surtout Mme Kebbas lah yerhamha .

À toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de notre très vif remerciement

Dédicaces

*Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée
la force et la patience.*

Aux êtres les plus chers : Mes parents,

A mon père,

*Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de
l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à
m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.*

*J'espère que cette thèse sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle soit
l'accomplissement de tous tes efforts.*

A ma mère,

*À celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour
mon bonheur et ma réussite*

*Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son
écoute permanent et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles
de*

*ma vie et son aide si précieuse qui a rendu possible la soutenance de ce
mémoire.*

A mon binôme Zakaria

*Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement à
ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts*

A mes chers frères, mes amis :

*ma grande sœur Fatima qui ma encourager jusqu'à la fin, Yousra ,
Abderrahmane, boualem ,a ma cousine zineb, a mon compatriote Riad ,
Amina ,et une personne précieuse et très chère pour moi Nana*

ABDELHAK

DÉDICACES

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire " Ya Kayoum".

Je dédie ce modeste travail

A mon père

Qui a été mon ombre durant toutes les années de mes études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger, aucun mot ne peut exprimer mon respect et mon amour.

A ma mère

La femme combattante que sans elle je n'ai pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de son effort, son amour et son encouragement durant toutes mes années d'études, A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à la lumière de mes yeux

Que dieu les garde et les protège.

A mon binôme Benfares Abdelhak

Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.

A mes frères mes sœurs mes amis toute ma famille

qui m'ont soutenu pour y arriver à ce que je suis maintenant

ZAKI

Résumé

La présente étude est une synthèse des travaux et des articles basés sur la caractérisation de la diversité génétique du figuier (*Ficus carica*) cultivés en Algérie, au Maroc et en Tunisie, par l'utilisation des marqueurs moléculaires : les microsatellites (SSR).

Sur la base des paramètres de la diversité génétique à savoir : le nombre d'allèles, la fréquence allélique, l'hétérozygotie observée, l'hétérozygotie attendue et l'indice de fixation ; l'analyse moléculaire a révélé la fiabilité des marqueurs utilisés pour l'analyse du polymorphisme génétique et pour résoudre le problème de la confusion dans les appellations de différentes variétés du figuier, ce qui engendre des cas d'homonymie et de synonymie entre les variétés.

Ainsi, le génotypage microsatellite a permis de distinguer sans ambiguïté des variétés bien définies.

Mots clés : diversité génétique ; *Ficus carica* ; les microsatellites ; polymorphisme génétique.

Abstract

This study is a synthesis of the results of work based on the characterization of the genetic diversity of the fig tree (*Ficus carica*) cultivated in Algeria, Morocco and Tunisia, by the use of molecular markers: microsatellites (SSR). On the basis of the parameters of genetic diversity, we must know : the number of alleles, the allele frequency, the observed heterozygosity, the expected heterozygosity and the fixation index; the molecular analysis has revealed the reliability of the markers used for the analysis of genetic polymorphism and the solving of the problem of confusion in the naming of different varieties of the fig tree, which leads to cases of disambiguation and synonymy between varieties. Thus, the genotyping of microsatellites made it possible to unambiguously distinguish well-defined varieties.

Keywords: genetic diversity; *Ficus carica*; microsatellites; genetic polymorphism.

الملخص :

وهذه الدراسة عبارة عن تأليف لنتائج العمل استناداً إلى توصيف التنوع الجيني لشجرة التين (*Ficus carica*) التي تنمو في تونس والجزائر والمغرب ، باستخدام الوسومات الوراثية:

وعلى أساس خصائص التنوع الجيني على وجه التحديد: عدد الأليل ، وتواتر الأليل ، والتباين الملاحظ ، والتباين المتوقع ، ومؤشر التنشيط ؛ وكشف التحليل الجزيئي عن موثوقة العلامات المستخدمة في تحليل المتعددات الوراثية وفي حل مشكلة الخلط في أسماء مختلف أنواع شجرة التين ، مما أدى إلى حالات من تحديد الهوية والترادف بين الأنواع

ومن ثم ، فإن النموذج الجيني للسوائل الصغيرة قد مكن من التمييز بوضوح عن الأنواع المحددة جيداً. **الكلمات المفتاحية :** التنوع الجيني , *Ficus carica* : نوع من انواع التين:, الوسومات الوراثية:,متعددات الجينات

:

.

LISTE DES FIGURES

- Figure 1** : Organisation d'une pousse (unité de croissance) de *Ficus carica*4
- Figure 2** : Figure 02: Fruit de la variété Tharanimt de *Ficus carica*.....5
- Figure 3** : Illustration qui représente la pollinisation du figier6

Liste des tableaux

- Tableau I :** Les Caractéristique Microsatellite SSR et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica* (Achtak et al., 2009).....16
- Tableau II:** Les Caractéristique Microsatellite SSR et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica* (Sadoud et al.,2009).....17
- Tableau III :** Les Caractéristique Microsatellite SSR et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica* (Bentayeb, 2018).....annexe I
- Tableau IV:** Les Caractéristique Microsatellite SSR et les paramètres de la diversité génétiqu chez *Ficus carica* (Boudchicha2019)..... annexe I

Sommaire

Synthèse bibliographique

Chapitre I. Généralités sur le figuier (*Ficus carica* L.)

I.1. Origine et domestication.....	3
I.2. Classification.....	3
I.3. Description botanique.....	4
I.4. Pollinisation de figuier.....	5
I.5. Répartition.....	6

Chapitre II : Diversité génétique

II.1. Introduction	8
II.2. Les marqueurs biologiques.....	8
II.2.1 Les marqueurs morphologiques.....	8
II.2.2. Les marqueurs biochimiques.....	9
II.2.3. Les marqueurs moléculaires.....	10
II.2.3.1. Les marqueurs AFLP.....	10
II.2.3.2. Les marqueurs RAPD.....	11
II.2.3.3. Les marqueurs RFLP.....	11
II.2.3.4. Les marqueurs SSR.....	11

Partie Expérimentale

I. Matériel et Méthodes

I.1. Matériel végétal	13
I.1.1. Les marqueurs moléculaires	14
I.2. Méthodes.....	14
I.2.1. les paramètres de la diversité génétique	14

II. Résultats et Dissection

II.1.Résultats de la diversité génétique chez <i>ficus carica</i> cultivé au Maroc.....	16
Résultats de la diversité génétique chez <i>ficus carica</i> cultivé en Tunisie	17
Résultats de la diversité génétique chez <i>ficus carica</i> cultivé en Algérie	18
II.2.Discussion.....	20
Conclusion.....	21
Références bibliographiques	

Introduction

Introduction

La biodiversité est un concept qui englobe tous les êtres vivants peu importe leurs origines et les interactions qu'ils peuvent avoir entre eux et avec leurs environnements. L'évolution de n'importe quelle espèce végétale est en premier lieu basée sur l'existence d'une diversité génétique dans la population qui est définie par le niveau de similarité ou de la différence et représente le fondement de la biodiversité (Budak *et al.*, 2003).

La diversité intraspécifique représente le potentiel et la capacité à répondre aux changements environnementaux sur le court terme (faculté d'adaptation) et sur le long terme (potentiel d'évolution) (Giancola *et al.*, 2006).

La connaissance et la caractérisation des ressources phytogénétique sont des enjeux majeurs afin de valoriser le patrimoine génétique tel que le Figuier (*Ficus carica*), qui est un arbre emblématique du bassin méditerranéen possédant une identification complexe (Boudchicha, 2019).

L'Algérie, la Tunisie et le Maroc, possèdent un patrimoine riche et diversifié de variétés de figuier, constituées d'individus parfaitement adaptés aux conditions eco-géographique de ces pays (Saadoud, 2007; Achtak, 2009; Boudchicha 2019). Mais la confusion dans les appellations de ces variétés rend leurs identification difficile, ce qui engendre des cas d'homonymie et de synonymie entre les variétés (Oukabli, 2003)

Dans un programme de sélection des plantes, l'étude de la diversité génétique repose sur le choix du type de marqueur, susceptible de la traduire le plus fidèlement possible (Rave *et al.*, 2004). Ainsi, le recours aux marqueurs moléculaires est nécessaire, c'est un outil précis et non ambigu qui permet une identification correcte des végétaux et présentent un niveau de polymorphisme élevé (Gomes et al., 2012).

Objectif de ce présent travail est la caractérisation de la diversité génétique du figuier : *Ficus carica*, par l'utilisation des marqueurs microsatellites ; cette étude est basée principalement sur la synthèse des résultats des travaux réalisés par :

- (Achtak et al., 2009) : Microsatellite Markers as Reliable Tools for Fig. Cultivar Identification

- (Sadoud et al., 2007) : Tunisien fig (*Ficus carica* L.) genitic diversity and cultivar characterization using microsatellite markers .
- (Bentayeb, 2018) : Les Caractéristique Microsatellite SSR et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica*.
- (Boudchicha, 2019) : Les Caractéristique Microsatellite SSR et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica*.

Synthèse bibliographique

**Chapitre I/ Généralités sur le
figuier (*Ficus carica* L.)**

I.1. Origine et domestication

Le figuier est l'un des plus anciens arbres fruitiers cultivés par l'Homme. En raison de son ancienneté, l'origine de *Ficus carica* fait l'objet d'hypothèses divergentes, mais toutes admettent que celle-ci précède la domestication du blé, le figuier est la plus ancienne plante domestiquée dans le monde et sa domestication a été contemporaine avec l'olivier et la vigne. (Janick, 2005)

Khadari et al., a (2005) considèrent que *Ficus carica* dérive de *Ficus palmata*, plus précisément de la forme *rupestris*, et qu'il a été diffusé naturellement dans le bassin méditerranéen. (Zohary et al., 2012) estiment que le figuier a été domestiqué à partir d'un groupe de divers figuiers spontanés au sud et à l'est de la région méditerranéenne durant l'ancienne période du Néolithique. L'étude des populations spontanées méditerranéennes à l'aide d'outils moléculaires a montré en effet que la domestication a lieu plutôt sur les rives est et ouest de la méditerranée et qu'elle est multilocale (Khadari et al., a, 2005).

I.2. Classification

Le figuier (*Ficus carica*L.) appartient au genre *Ficus*, de la famille des *Moraceae*, l'ordre des *Rosales*. Le genre *Ficus* possède le plus grand nombre d'espèces, entre 600-1500 espèces, classées en 6 subgenres, se répartissant majoritairement dans les régions tropicales et subtropicales (Berg, 2003).

D'après Berg (2003), le figuier est classé comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones

Ordre : Rosales

Famille : Moracées

Genre : *Ficus*

Espèce: *Ficus carica* L.

I.3. Description botanique

Le figuier possède une grande capacité d'adaptation à différents climats, ce qui a permis d'engendrer plusieurs types de variétés avec des aspects et des morphologies différentes. Il se trouve sous une forme d'arbre qui pourrait atteindre 12 à 15 m de hauteur dans les régions humides, ou sous forme d'arbuste. Il peut être caducifolié ou sempervirent de forme ouverte et tombante à érigée et compacte (Ferguson et al., 1990).

Il possède des rameaux couverts d'écorce fine non rugueuse qui tourne avec l'âge de vert à blanc ou gris pale, l'arbre contient un jus laiteux, aigre et gommeux, nommé le latex (Giraldo, 2008)

Ficus carica est un arbre à feuilles caduques, alternes, épaisses, palmatilobées (3 à 5 ou 7 lobes), ondulés et dentés avec stipules caduques, elles ont un aspect rugueux à la face supérieure, et velouté à la face inférieure en raison de la présence de petits poils (fig1). Elles présentent des nervures principales marquées, la surface supérieure est de couleur vert plus foncé que celle de la face inférieure (Rameau, 2008).



Figure1 : Organisation d'une pousse de figuier (unité de croissance)(Berg,2003)

Le figuier se reconnaît aisément grâce à sa figue ou sycone (Figure 02), qui est d'abord une inflorescence puis devient un fruit (Lespinasse et Leterme, 2005). La particularité de cette inflorescence réside dans le fait que les fleurs ne sont pas visibles de l'extérieur, elles sont renfermées dans une sorte d'urne présentant un orifice appelé ostiole. Les figues peuvent être oblongues, pyriformes, rondes, de couleur violacée, noire, verte, rouge ou brune (Vidaud, 1997).

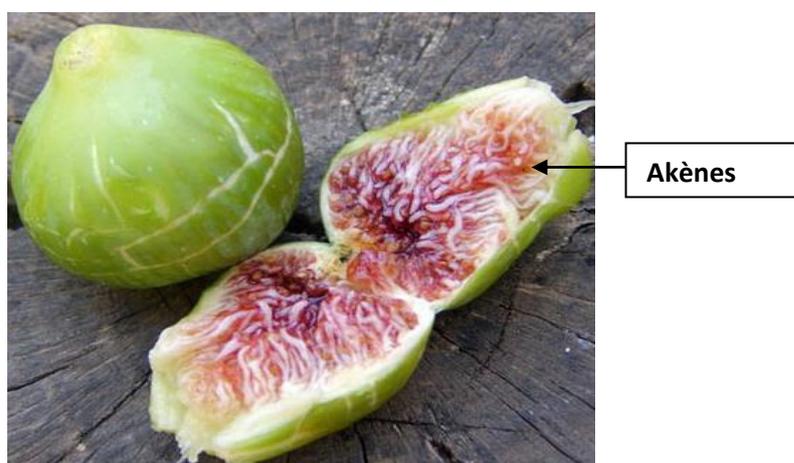


Figure 02: Fruit de la variété Tharanimt de *Ficus carica*

- Le système racinaire est peu profond et très dispersé, 80% se rencontre à 45 cm de profondeur (Flores, 1990) et peut atteindre 11 à 15 m de largeur.

I.4. Pollinisation du figuier

Les figuiers sont totalement dépendants de minuscules guêpes, pour leur propagation et leur survie. Ces guêpes à figuier sont les seuls pollinisateurs des figuiers ils ne peuvent se reproduire nulle part ailleurs qu'à l'intérieur des figues, une relation qui est un exemple classique d'un mutualisme obligatoire. Chaque espèce de figuier est généralement pollinisée par une espèce de guêpe figuier qui n'est associée qu'à cette espèce de figuier (Berg 2003)

Dans le cas de *Ficus carica* l'insecte pollinisateur est *Blastophaga psenes* (Jousselin, 2008) ; qui appartient à l'ordre des Hyménoptères et à la famille des Agaonidae (Jullien et Jullien, 2009).

Ficus carica est une espèce fonctionnellement dioïque. le figuier mâle ou caprifiguier assure la production de pollen et la survie du pollinisateur symbiotique. Le blastophage ne

se reproduit exclusivement que dans les figues de caprifiguier. L'insecte dépose ses œufs dans les ovaires des fleurs femelles à style court (Kjellberg et al., 1983).

Le figuier est dominé par un remarquable décalage entre le développement de ces deux types de fleurs (fig3): lorsque les fleurs femelles sont réceptives,

+

les organes des fleurs mâles sont à peine différenciés ; la fécondation des fleurs d'une figue réceptive ne peut donc se faire que par du pollen venant de l'extérieur de cette figue ; ce pollen, ne peut être introduit dans la figue réceptive que par le blastophage qui y pénètre, attiré par une odeur suave émise à ce moment par les fleurs, en se glissant entre les bractées ostiolaires (Kjellberg, 2008).



Fig3: illustration qui représente la pollinisation du figuier (Kjellberg 2021).

A. L'inflorescence de l'Arbre femelle, C. L'inflorescence de l'Arbre male

B. Détail des stigmates allongés.

D. Figue de quelques jours après la ponte

I.5. Répartition

Le figuier a un large spectre d'adaptation écologique et se montre peu exigeant vis-à-vis des conditions pédoclimatiques. Il réussit un peu partout dans le monde, notamment dans

les régions tropicales et subtropicales, mais il est particulièrement bien adapté sur le pourtour méditerranéen où les hivers sont frais et les étés chauds et secs, et il s'est parfaitement acclimaté dans le Nouveau Monde tant en Amérique du Nord (Californie)

qu'en Amérique du Sud (Brésil, Argentine) dans des situations climatiques identiques, voire plus favorables (Vidaud, 1997).

En Algérie, Le figuier constitue avec l'olivier, la principale richesse du massif de la Kabylie. Pour près de 93 %, le figuier domestique se concentre dans la région centre est dupays : Tizi-ouzou, Bouira, Bejaia, Bordj Bou Arreridj, Sétif et Jijel. Les vergers de type industriel sont rares, il est cultivé principalement en culture d'appoint en vergers familiaux (Benhammouda, 1991).

Chapitre II / La diversité génétique

II.1. Introduction

La diversité génétique est la variation qui existe au niveau des gènes. C'est la variation de la quantité d'informations génétiques des individus, des populations, des espèces, et des communautés. Elle est définie par le niveau de similarité ou de différence et représente le fondement de la biodiversité (Budaket al., 2003).

La diversité spécifique (polymorphisme génétique) représente le potentiel et la capacité à répondre aux changements environnementaux, à la fois sur le cours terme (faculté d'adaptation) et sur le long terme (potentiel d'évolution) (Giancola et al., 2006).

II.2. Les marqueurs biologiques

La diversité génétique est le résultat de plusieurs phénomènes dont la sélection, les mutations, la migration et la dérive génétique (Samouelian et al., 2009). L'utilisation de la diversité génétique dans un programme de sélection passe inévitablement par son estimation et par le choix du type de marqueur susceptible de la traduire le plus fidèlement possible (Ravel et al., 2004). Trois types de marqueurs sont largement utilisés pour l'évaluation de la variabilité génétique, à savoir les marqueurs morphologiques, les marqueurs biochimiques et les marqueurs moléculaires (Cui et al., 2001).

II.2.1. Les marqueurs morphologiques

Dans les programmes de sélection des plantes, les caractères morphologiques sont les premiers à être observés. Ces caractères intéressent diverses parties de la plante : la longueur des tiges, les surfaces foliaires, l'initiation de la floraison et le fruit (Gomez et al., 2004).

Les marqueurs morphologiques ont été retenus dans un premier temps parce qu'ils présentaient l'avantage d'être immédiatement disponibles et nécessitent seulement un équipement simple. Ils représentent des variations de type qualitatif (couleur), morphologique (forme), des résistances à des maladies ou des ravageurs (Samouelian et al., 2009). L'étude des différents caractères quantitatifs se rapporte aux parties morphométriques : longueur et largeur des feuilles, longueur des pétioles, longueur des stipules et le fruit (Cronk, 2010).

Ces critères sont utilisés pour décrire et identifier les lignées et les variétés chez les végétaux. Cependant, ces marqueurs sont peu polymorphes et en général dominants, ils ont

fréquemment une base génétique complexe, ils sont limités en nombre et leur expression est souvent fortement influencée par l'environnement (Andersson et al., 2006).

II.2.2. Les marqueurs biochimiques

Les marqueurs biochimiques ont été mis en œuvre pour étudier la variabilité génétique (Harry, 2001). Ils se caractérisent par un pouvoir de discrimination plus élevé que les marqueurs morphologiques (Bank et al., 2001) ; ils sont représentés par les marqueurs enzymatiques et les marqueurs polyphénoliques :

. Les marqueurs enzymatiques

Les premiers marqueurs biochimiques qui ont été utilisés pour l'identification des génotypes ont été les enzymes basés sur la séparation de protéines (représentées par des bandes) par électrophorèse verticale (Taksley et Orton., 1983). Ce sont des formes moléculaires distinctes (isoenzyme1 et alloenzyme2) d'une enzyme chez un même organisme et ayant la même activité catalytique. Ces marqueurs ont la caractéristique d'être codominants et leur principal désavantage c'est que la variabilité étudiée se trouve limitée par le nombre des systèmes enzymatiques disponibles, surtout quand il s'agit d'étudier des variétés génétiquement proches, ils sont influencés aussi par l'environnement, ce qui limite leur efficacité (Giraldo., 2005).

. Les marqueurs polyphénoliques

Les composés phénoliques forment un groupe de composés phytochimiques le plus important des plantes (Beta et al., 2005), comme c'est le cas pour la plupart des substances naturelles qualifiées de métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques (Sarni-Cachado et Cheynier, 2006), d'où leur utilisation en tant que marqueurs biochimiques en chimiotaxonomie pour caractériser les cultivars ou les variétés de différentes espèces (Van Sumere et al., 1993).

Ces marqueurs ont été également utilisés en combinaison avec des marqueurs morphologiques pour comparer la structuration de la diversité génétique (Van Sumere et al., 1993).

Vu le faible niveau de polymorphisme révélé par les marqueurs biochimiques et sa variabilité en fonction des conditions environnementales, il est souvent nécessaire d'utiliser les marqueurs moléculaires pour compléter l'évaluation et l'étiquetage des ressources génétiques.

II.2.3. Les Marqueurs moléculaires

Les marqueurs moléculaires sont par définition des caractères héréditaires qui correspondent au polymorphisme révélé au niveau de l'ADN (Aouane, 2015). Ils sont utilisés depuis plus d'une vingtaine d'années, car ils présentent diverses applications (amélioration des plantes, recherche des gènes liés aux traits de valeur commerciale) et avantages (couvrent le génome entier, indépendants des influences environnementales, de la partie de la plante prélevée et de son stade de développement) en comparaison avec les marqueurs morphologiques et biochimiques. Les marqueurs moléculaires sont en nombre illimité et très polymorphes. Ils permettent à la fois un diagnostic rapide et extrêmement fin de la variabilité génétique des individus ainsi que la mise en place de stratégies très rapides de création et de sélection variétale (Khadari et al., 2003) . Ce diagnostic permet aussi de constituer une base de données qui servira pour confirmer l'identité du matériel végétal candidat à la multiplication et établir une collection de référence.

Les diverses techniques de marquage moléculaire qui sont actuellement disponibles sont :

II.2.3.1. Les marqueurs AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism)

Le Polymorphisme de Longueur de Fragments Amplifiés (AFLP) est une technique d'empreinte génétique qui est fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de site de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires. Elle consiste à l'amplification sélective d'un sous ensemble de fragments de restriction génomique utilisant la PCR. L'ADN est digéré avec une endonucléase de restriction et des adaptateurs d'ADN à double brin sont ligaturés aux extrémités des fragments d'ADN pour générer l'ADN modèle pour l'amplification. Ainsi, la séquence des adaptateurs et le site de restriction adjacent servent de site de liaison d'amorces pour une amplification ultérieure des fragments de restriction par PCR.

Les avantages de l'AFLP résident dans le grand nombre de marqueurs polymorphes qu'elle génère (reproductibilité) et sa capacité de différenciation individuelle dans une population donnée (haut niveau de détection du polymorphisme), ce qui l'a rendue utile pour l'analyse de paternité (Baraket et al., 2009).

II.2.3.2. Les marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

La technique RAPD (Polymorphisme de l'ADN Amplifié Aléatoirement) a été utilisée à partir de 1989. Elle est basée sur la réaction d'amplification en chaîne (PCR) de séquences prises au hasard d'ADN génomique à l'aide d'amorces arbitraires (aléatoires) de taille courte d'environ 10 nucléotides et d'une enzyme la Taq polymérase. Les fragments générés en nombre quasiment illimité, sont répartis dans tout le génome. Cette technique peut produire de nombreux fragments polymorphes (Shteyahetal., 2014) et le polymorphisme observé se traduit par la présence ou l'absence de bandes chez les différents génotypes. Ainsi, l'amplification avec les marqueurs RAPD obéit à la loi de «tout ou rien» mettant en jeu des amorces très spécifiques (konaté, 2007). Les variations de séquences nucléotidiques entre les génomes, révélées par ces marqueurs, sont le résultat d'une modification (mutation ou insertion) au niveau du site de fixation de l'amorce (Caliskan et al., 2012).

II.2.3.3.RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

La technique du RFLP (Polymorphisme de Longueur des Fragments Restriction) repose principalement sur la détection de la variabilité de la taille des séquences nucléotidiques de l'ADN génomique, générées par digestion à l'aide d'enzymes de restriction et révélée par hybridation avec une sonde marquée (séquence anonyme, séquence clonée, ADN génomique total et ADN cytoplasmique ou mitochondrial). Le polymorphisme révélé par cette technique peut être illimité et concerne toutes les parties du génome, notamment en fonction des diverses enzymes de restriction et des sondes utilisées Ce type de marqueur a été utilisé chez plusieurs espèces végétales et permet une analyse directe du génotype. (Khadari et al., b, 2005).

II.2.3.4.Les marqueurs SSR (Simple sequence repeats)

Les marqueurs SSR (Séquences Simples Répétées) sont de petites unités (2-6 paires de bases) répétées de nombre variable se trouvant dans différent loci, généralement leur longueurs ne dépasse pas les 100 paires de bases et sont distribués largement dans le génome. L'analyse de la variabilité est basée sur la différence de taille des allèles qui sont associés à la variation d'un nombre de motifs répétés en tandem (Soleimani et al.,2007)

.Les microsatellites sont des marqueurs de choix pour l'identification de la diversité génétique, ceux sont des marqueurs hautement polymorphes, codominant et très bien reproductibles, permettant de standardiser les protocoles dans différents laboratoires. La codominance et la possibilité de les transférer entre les espèces représentent l'un des avantages des SSR en comparaison avec les autres marqueurs moléculaires, plusieurs SSR ont été développés pour les différentes espèces fruitières (Wunsch et Hormaza, 2002). Cependant, le principal inconvénient de ses marqueurs réside dans le fait qu'il faut connaître leurs séquences nucléotidiques pour pouvoir désigner leurs régions flanquantes.

Les SSR peuvent être obtenus de différentes manières, l'une d'entre elles consiste en la recherche de séquences dans les bases de données telles que GenBank. Toutefois, cette méthode est efficace seulement pour quelques espèces ayant un nombre élevés de séquences inscrites dans les bases de données. L'autre technique pour obtenir des SSR est le développement de bibliothèques enrichies avec des motifs répétées. D'autre part, les séquences flanquantes des microsatellites sont des régions conservées ce qui permet leur transfert et leur utilisation entre les différentes espèces et genres apparentés (Cipriani et al., 1999 ; Hormaza, 2002).

Le choix du système de marquage moléculaire dépend de l'objectif fixé et de la performance du laboratoire, mais les microsatellites sont considérés comme étant le système de marquage plus faible pour l'identification variétale du figuier (Mavsar et al., 2008).

Partie Expérimentale

Matériels et méthodes

Notre travail a été basé sur l'analyse des Articles et les thèses suivantes :

Articles :

- Microsatellite Markers as Reliable Tools for Fig. Cultivar Identification (Achtak et al., 2009).
- Tunisien fig (*Ficus carica* L.) genitic diversity and cultivar characterization using microsatellite markers (Sadoud et al., 2007).

Thèses de doctort

- Caractérisation moléculaire et morphologique du figuier (*Ficus carica* L.) d'Algérie (Bentayeb, 2018).
- Etude de la diversité génétique de quelques variétés locales de figuier (*Ficus carica* L) en Algérie (Boudchicha, 2019)

L'objectif de notre Travail est étudié de la diversité génétique du figuier, (*Ficus carica*) cultivé au Maroc, en Tunisie et en Algérie, par les marqueurs microsatellites (SSR).

I .Matériel

I.1.1. Matériel végétal

La caractérisation moléculaire a été effectuée sur la poudre végétale des feuilles de *Ficus carica*, a savoir :

- 75 individus cultivés au Maroc (Achtaket al., 2009)
- 72 individus cultivés en Tunisie (Saddoud et al., 2007)
- 73 individus cultivés en Algérie (Bentayeb 2018)
- 77 individus cultivés en Algérie (Boudchicha, 2019).

I.1.2. les marqueurs moléculaires

Les marqueurs moléculaires SSR ont été sélectionnés en fonction de leurs polymorphismes et la facilité de leurs marquages :

- 6 marqueurs SSR ont été utilisés par (Achtak et al,2009) : MFC2, MFC4, MFC8, LMFC24, LMFC 30 et LMFC26
- 6 SSR on été utilisés par (Saddoud et al., 2007) :MFC2, MFC4, MFC5, MFC6, MFC7, MFC8
- 5 marqueurs SSR ont été utilisés par(Bentayeb 2018) :MFC2, MFC4, MFC5, MFC7, MFC8
- 6 marqueurs SSR ont été utilisés par(Boudchicha 2019) :LMFC24, LMFC30, LMFC 26, MFC4, LMFC22 et LMFC27

I. 2. Méthodes

Le marquage moléculaire a été réalisé à l'aide des microsatellites (SSR), selon les méthodes décrites dans les différents articles et les thèses étudiés. Il consiste en l'amplification par PCR(polymérase chaines réaction) de fragment de l'ADN génomique, en utilisant des amorces SSR ; les produits d'amplification sont séparés par une électrophorèse et le génotypage microsatellites a été réalise sur séquenceur automatique. Couplé a un ordinateur équipé de logiciel spécifique.

Les données SSR ont été marquées allèles par des locus distingués par leur taille pour calculer les paramètres de la diversité génétique.

Les images obtenus se présentent sous forme d'électrophorégramme, ou chaque pic représente un allèle dont la couleur indique le marqueurs utilisé.

I.2.1.Les paramètres de la diversité génétique :

Pour chaque marqueur SSR, les allèles ont été détectés et identifiés par la tailles des allèles en paire de base pb, et par le nombre des allèles par locus (N) qui traduit la richesse en allèle d'une population.

Différents indices de la diversité génétique ont été estimés pour chaque locus :

- Fréquence allélique (F) : c'est la richesse allélique d'une population à un locus donné par rapport au nombre total des allèles.

I. Matériel et méthodes

- L'hétérozygotie observé (H_o) : c'est le taux d'individus hétérozygotes au locus donné.
- L'hétérozygotie attendue (H_e): c'est la fréquence théorique des hétérozygotes au locus déterminé

Si : $H_o > H_e$ excès en hétérozygote = déficit en homozygote

$H_o < H_e$ déficit en hétérozygote = excès en homozygote

Indice de fixation ou coefficient de consanguinité il mesure l'écart entre la population d'individus trouvé al' écart hétérozygotie observée et le taux d'hétérozygotie attendue

Si : $F_{is} < 0$ population présente un excès en hétérozygotes

$F_{is} > 0$ population présente un déficit en hétérozygotes

$F_{is} = 0$ population en équilibre de Hardy-Weinberg

$F_{is} = 1$ fixation complète (cas d'autofécondation)

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II .1. Résultats de la diversité génétique chez *Ficus carica* cultivé au Maroc.

Les résultats de la diversité génétique chez *Ficus carica* cultivé au Maroc sont mentionnés dans le tableau I :

Tableau1: Les Caractéristiques des Microsatellites SSR et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica*.

Marqueur	Pb	N	F	Ho	He	Fis
MFC2	154-170	6	0.21	0.66	0.64	-0.028
MFC4	104-138	3	0.10	0.50	0.46	-0.086
MFC8	167-177	4	0.14	0.66	0.47	-0.384
LMFC24	272-276	3	0.10	0.55	0.43	-0.276
LMFC30	231-261	9	0.32	0.86	0.74	-0.158
LMFC26	224-236	3	0.10	0.15	0.14	-0.053
Moyenne	/	4.66	0.16	0.56	0.55	-0.096

(Achtak et al., 2009).

Pb : Nombre de paire de base
N : le nombre d'allèle.
F ; fréquence allélique.

Fis : indice de fixation des populations
Ho : hétérozygotie observée
He : hétérozygotie attendue

L'analyse de 75 échantillons de feuille de figuier utilisant 6 loci SSR a révélé 28 allèles. Le nombre des allèles varie de 3 à 9 allèles par locus avec une moyenne de 4.66 allèles. Le nombre le plus élevé d'allèles (neuf allèles) a été détecté au locus LMFC 30 tandis que le nombre le plus faible (3allèles) a été obtenu pour les loci LMFC26, LMFC24 et MFC4. La taille des allèles varie de 104 pb au locus MFC4 à 276 pb au locus LMFC24. Les fréquences allélique se situent entre 0.10 et 0.32 avec une moyenne de 0.16.

L'hétérozygotie attendue (He) varie de 0.14 au locus LMFC26 à 0.74 au locus LMFC30.

L'hétérozygotie observée (Ho) varie entre 0.14 au locus LMFC26 à 0.86 au locus LMFC30, avec une moyenne 0.55 D'après tableau1, $Ho > He$ pour tout les loci, ceci exprime un excès en hétérozygotes. La valeur Fis était négative pour tout les locus, ceci exprime un excès en hétérozygotes.

II.2. Résultats de la diversité génétique chez *Ficus carica* cultivé en Tunisie

Les résultats de la diversité génétique chez *Ficus carica* cultivé en Tunisie sont illustrés dans le tableau II :

Tableau II: Les Caractéristiques des Microsatellites SSR et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica*

Marqueur	Pb	N	F	Ho	He	Fis
MFC2	170-228	7	0.12	0.72	0.81	/
MFC3	124-194	14	0.24	0.51	0.87	/
MFC5	118-165	10	0.17	0.77	0.82	/
MFC6	166-188	7	0.12	0.84	0.77	/
MFC7	130-148	6	0.10	0.73	0.82	/
MFC8	141-202	14	0.24	0.61	0.86	/
Moyenne	/	9.66	0.16	0.69	0.82	0.053

(Sadoud et al.,2009)

Le tableau, un total de 58 allèles allant de 6 (MFC7) à 14 (MFC3, MFC8) et de 118 pb (MFC5) à 228 (MFC2) ont été évalués. Le nombre moyen d'allèles par locus est de 9.66.

Les valeurs de H_o notées varient de 0.51 au locus (MFC3) à 0.84 au locus MFC6 avec une moyenne de 0.69 suggérant que le Figuier Tunisien est caractérisé par un haut niveau de polymorphisme au niveau de l'ADN.

L'hétérozygote attendu (H_e) varie entre 0.77 au locus MFC6 et 0.87 au locus MFC3.

De plus, l'hétérozygotie observée était inférieure aux valeurs de l'hétérozygotie attendue, selon l'équilibre Hardy-Weinberg (HW), suggérant un déficit d'individus hétérozygotes.

Les fréquences allélique allaient de 0.10 pour le locus MFC7 à 0.24 pour les loci MFC3 et MFC8.

La valeur moyenne de l'indice de fixation $F_{is}=0.053$, (>0). Ce qui indique un déficit en individus hétérozygotes.

II.3. Résultats de la diversité génétique chez *Ficus carica* cultivé en Algérie

Les résultats de la diversité génétique chez *Ficus carica* cultivé en Algérie sont mentionnés dans les tableaux III et IV. / voir annexe I

Le diagnostic moléculaire à l'aide de 5 loci microsattellites a permis de détecter un nombre total de 16 marqueurs à une moyenne de 3.2 allèles par locus. La taille des allèles révélée est comprise entre 110 pb au locus MFC7 et 210 pb au locus MFC4 et leurs distributions entre 2 minimum et 5 maximum selon les locus. Ainsi, on note 2 allèles pour les locus MFC5 et MFC8, 3 allèles pour MFC4, 4 allèles pour MFC2, 5 allèles pour MFC7. Ces chiffres indiquent un niveau modéré de polymorphisme génétique du figuier étudié. Les fréquences alléliques moyennes calculées pour chaque locus varient entre 0.12 (MFC5 et MFC8) et 0.31(MFC7).

L'hétérozygotie observée moyenne des 5 marqueurs est plus élevée (0.78) que celle attendue (0.50). La valeur du taux d'hétérozygotie observée et attendue ont permis de calculer l'indice de fixation Fis qui est négatif sur l'ensemble des loci indiquant aussi que la population étudiée présente un excès en hétérozygote

Pour tous les individus de l'étude, un total de 20 allèles a été observé allant de 2 allèles (LMFC24, LMFC27, MFC4,) à 8 allèles (LMFC30) avec une moyenne de 3,33 allèles par locus (Tableau4). La taille des allèles varie de 186pb pour LMFC 27 à 286 pb pour LMFC22.

La fréquence allélique varie de 0.10 au locus LMFC24 à 0.40 au locus LMFC 22.

L'hétérozygotie observée (H_o) varie entre 0.220 (LMFC22) à 0.818 (LMFC27) avec une moyenne de 0.49, L'hétérozygotie attendue H_e varie entre 0.20 (LMFC22) à 0.73 (LMFC30), la comparaison entre ces deux paramètres a été effectuée par l'indice de fixation de Wright (tableau4) pour les 5 loci (LMFC24, LMFC30, LMFC26 LMFC22, LMFC27), ce paramètre est négatif, ce qui indique un excès d'hétérozygotes. Alors que pour le locus restant (MFC4) ; les Fis est positif indiquant un déficit en hétérozygotie

II.2. Discussion

Les marqueurs microsatellites sont largement utilisés pour caractérisation des arbres fruitiers :

La vigne (*Vitis vinifera L*) (Tessier et al, 1999), abricotier (*Prunus ameniaca*) (Hormaza., 2002) et l'olivier et d'autre (*Olea europea*) (Haouane, 2012).

Une étude comparative des marqueurs microsatellites et d'autres marqueurs (RAPD, RFLP) pour la caractérisation de la diversité des figuiers a montré que les marqueurs SSR sont plus informatifs que les autres marqueurs (Khadari et al., 2003) .

D'autres études ont confirmé l'efficacité des marqueurs SSR pour l'identification des variétés de *Ficus carica* (Khadari et al ., 2004; Saadoud et al., 2007;Giraldo et al.,2008) et ils ont été largement utilisés pour la caractérisation de la diversité génétique des différentes espèces du genre *Ficus* : *Ficus carica* (Khadari et al., 2001 ; Giraldo et al.,2005), *Ficus hirta* (Zheng et al., 2015), *Ficus virens* (Fu et al.,2017) et *Ficus sycomorus* (Salah et al., 2007)

Ceci se traduit par une grande transférabilité des marqueurs microsatellites chez les différentes espèces du genre *Ficus* (Ikten et al., 2018).

La synthèse des résultats des articles étudiés a montré une différence au niveau des paramètres de la diversité génétique, dû à la différence des marqueurs SSR utilisés, au nombre des échantillons analysés et à leurs origines géographiques (Lopes et al., 2004; Boudchicha, 2018).

Conclusion

L'exploitation des résultats des travaux réalisés pour la caractérisation moléculaire de la diversité génétique de (*Ficus carica*) en se basant sur les différents paramètres (le nombre d'allèles, la fréquence allélique, l'hétérozygotie observée, l'hétérozygotie attendue et l'indice de fixation) nous a permis de signaler :

Un taux d'hétérozygotie observée (H_o) supérieur au taux d'hétérozygotie attendue (H_e) pour tout les loci, ceci exprime un excès en hétérozygotes confirmé par les valeurs négatives de l'indice de fixation (F_{is}), chez *Ficus carica* étudiée au Maroc et en Algérie.

Par contre une valeur moyenne positive de l'indice de fixation indique un déficit en individus hétérozygotes chez la population de *Ficus carica* étudiée en Tunisie.

Les marqueurs moléculaires utilisés dans cette étude se sont révélés fiables et démontrent leurs importances dans la gestion de la variabilité et la différenciation entre les variétés du figuier.

Références bibliographiques

- Achtak H., oukabli A., ater M., santoni S., kjellberg F., khadari B., 2009. Microsatellite Markers as Reliable Tools for Fig Cultivar Identification, 624–631. Tetouan, Morocco.
- Abdennabi S., Benrali I., 2015. Contribution à la caractérisation morphologique, chimiotaxonomique et moléculaire du figuier du hoggar (*Ficus salicifolia* vahl), Thèse de master/ génomique et biotechnologie végétale, université blida1. 65 p.
- Anderssonms., Schultz-Krafr., Petersm., Hincapie B et lascanoce., 2006. Morphological, agronomic and forage quality diversity of the flemingia macrophylla word collection. Field Crops Research 96:387-406.
- Bank H.V.D., Bank M.V.D et Wyk B.E.V., 2001. A review of the use of allozyme electrophoresis in plant systematics. Biochem. Syst. Ecol. 29: 469-483.
- Baraket G., Chatti K., Saddoud O., Mars M., Marrakchi M., Trifi M., Salhi Hannachi A., 2009. Genetic analysis of Tunisian fig (*Ficus carica* L.) cultivars using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. Sci. Hortic, (120) : 487–492.
- Ben Hamouda S., 1991. Influence de la sévérité de la taille sur la productivité et la qualité des fruits chez *Ficus carica* L. cas des variétés THARANIMT (figue de Tizi-Ouzou) et TAMERIOUT (figue de bougie) dans la station expérimentale de Tassala El Merdja. Thèse d'ingénieur. U.S.T.H.B.
- Bentayab z., 2018. Caractérisation moléculaire et morphologique du figuier (*Ficus carica* L) d'Algérie, Thèse de Doctorat, Université d'Oran, 108P.
- Berg, C. C. (2003). Flora Malesiana precursor for the treatment of Moraceae 1: the main subdivision of *Ficus*: the subgenera. *Blumea - Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, 48(1), 166-177.
- Beta T., Nam S., Dexterj. E. et Sapirsteinh. D., 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. Cerealchem., 390-393pp.
- Boudchicha R.H, Hormaza J.I., Benbouza H. 2018 Diversity analysis and genetic relationships among local Algerian fig cultivars *Ficus carica* L. Using SSR marker – South African journal of Botany 116 :207 -215
- Boudchicha, R.H. , 2019. Étude de la diversité génétique de quelques variétés locales de figuiers (*Ficus carica* L) en Algérie, thèse de doctorat, université de Moustafa bounboulaid, 128 p.
- Budak H., Pedraza F., Baenzigerp S., Creganp B et Dweikat I., 2003. Development and utilization of SSR to estimate genetic diversity in a collection of pearl mill et germplasm. *Crop Sci.* 43: 2284-2290.

Références bibliographiques

- Caliskan O., Polat A.A., Celikkol P., Bakir M., 2012. Molecular characterization of autochthonous Turkish fig accessions. *Span. J. Agric. Res.*, 10(1) : 130–140.
- Cipriani, G., Lot, G., Huang, W. G., Marrazzo, M. T., Peterlunger, E., & Testolin, R. (1999). AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L) Batsch]: isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 99(1-2), 65-72.
- Cronkq C., 2010. Plant evolution and development in a post-genomic context. *Nat. Rev. Genet.* 2:607-619.
- Cui Z., Carter TE, Burtonjw JR., et Wells R., 2001. Phenotypic Diversity of Modern Chinese and North American Soybean Cultivars. *CropSci*41:1954-1967.
- Ferguson, L., Michailides, T. J., Shorey, H. H. (1990). The California fig industry. *Horticultural Reviews*, 12, 409-490.
- Fu, Yun-Xiang Li ,Mei Liu, and Qiu-MeiQuan, 2017. Development of 15 polymorphic microsatellite markers for *Ficus virens* (Moraceae), *Applications in Plant Sciences* 2017 5(1): 1600101.
- Giancola S., mckhann H., Berard A., Camilleri C., Durand S., Libeaup., Roux F., Reboud x., Guti. G et Brunel D., 2006. Utilization of the three high-throughput SNP genotyping methods, the GOOD assay, Amplifluor and Taq Man, in diploid and polyploidy plants. *Theor Appl Genet* 112: 1115-1124.
- Giraldo, E. (2012). Caracterización morfológica y molecular de higuera: *Ficus carica* L. Tesis doctoral. Editorial Académica Española
- Giraldo, E., Lopez-Corrales, M., & Hormaza, J. I. (2008). Optimization of the management of an ex-situ germplasm bank in common fig with SSRs. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 133(1), 69-77.
- Giraldo, E., Viruel, M. A., López-Corrales, M., & Hormaza, J. I. (2005a). Characterisation and cross-species transferability of microsatellites in the common fig (*Ficus carica* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80(2), 217-224.
- Gomez OJ. , Blair W., Frankow-lindberg BE et Gullberg U., 2004. Molecular and Phenotypic Diversity of Common Bean Landraces from Nicaragua. *CropSci* 44:1412-1418.
- Haouane H., 2012. Origines, domestication et diversification variétale chez L'olivier (*Olea europaea* L.) à l'ouest de la Méditerranée ; thèse de doctorat , Montpellier, France. 323 P
- Harrym., 2001. Génétique moléculaire et évolutive. Editions Maloine., Paris.p39.

Références bibliographiques

- Janick J., 2005. The Origins of Fruits, Fruit Growing, and Fruit Breeding. *Plant breed, Rev.*, (25) : 255–320.
- Ikten , H., Solak, S.S., Yilmaz, Y. (2018): Transferability of SSR markers from related *Ficusspeice* to *Ficuscarica* L. and assessment of effectiveness of the markers. –*Applied Ecology and Environmental Research* 16(2):1909-1919.

- Khadari B., Grout C., Santoni S., Kjellberg F., (b), 2005. Contrasted genetic diversity and differentiation among Mediterranean populations of *Ficuscarica* L.: A study using mtDNA RFLP. *Genet. Resour. Crop. Ev.*, (52) : 97–109.

- Khadari B., Hochu I., Bouzid L., Roger J.P., Kjellberg F., 2003. The use of microsatellite markers for identification and genetic diversity evaluation of the fig collection in CBNMP. *Acta Hortic.*, (605) : 77–86
- Khadari B., Hochu I., Santoni S., Kjellberg F., 2001. Identification and characterization of microsatellite loci in the common fig (*Ficus carica* L.) and representative species of the genus *Ficus*. *Mol. Ecol.*, (1) :191–193.

- Khadari, B., Grout, C., Santoni, S., Kjellberg, F. 2005 (a). Contrasted genetic diversity and differentiation among Mediterranean populations of *Ficuscarica* L.: a study using mtDNA RFLP. *Genetic resources and crop evolution*, 52(1), 97-109.
- Khadari, B., Oukabli ,A.,Ater, M., Mamouni, A., Roger, J.P., Kjellberg, F. (2004) : Moléculaire caractérisation of Moroccan fig germplasm using intersimple sequence repeat markers to establish a reference collection.-*Journal of the American Society for Horticultural Sciences* 40 :29-32

- Kjellberg F. 2008. Coévolution et spéciation : le cas des chalcidiens associés aux figues. Ed Belin, Paris. P : 253-262.

- Kjellberg F., Aljibouri A., Valdeyron G., 1983. Observations récentes sur la pollinisation du figuier, vol38, N° 7-8, P 567-569.

- Konaté I., 2007. Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier (*Ceratonia siliqua*L.) et des Bactéries Endophytes qui lui sont Associées. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V-Agdal . Faculté des sciences . Rabat, Maroc, 196 p.

- Lespinasse J-M. et Leterme E., 2005. De la taille à la conduite des arbres fruitiers. Ed Rouergue. 326p.

- Lopes, M .S. Mendonça, D.,Sefc ,K.M.,Sabino,G.F., Câmara Machado, A(2004) :Genetic evidence of intra –cultivar variability within Iberian olive cultivar –*Journal of the American Society for Horticultural Sciences* 39 :1562-1565

Références bibliographiques

- Mavsar D.B., Jakse J., Javornik B., 2008. Development of Molecular Markers for Identification of Fig Varieties in Istria: 84-89 pp. In The Common Fig (*Ficus carica* L.) in Istria. Morphological, Molecular and Some Chemical Characteristics. University of Primorska, Science and Research Centre Koper, Publishing House Annales. Project RGFI – Revitalization of Fig Cultivation in Istria, 104 p.
- Oukabli, A. (2003) .Le figuier: un patrimoine génétique diversifié à exploiter. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA 106, 4 p.
- Rameau J.C., 2008. Flore forestière française : région méditerranéenne. Vol 3. 2426p.
- Ravel C., Praud S., Canaguier A., Dufour P., Giancola S., Balfourier F., Chalhoub B., Brunel D., Linossier L., Dardeve M., Beckert M., Rousset M., Murigneux A., Charmet G., 2004. DNA sequence polymorphism and their application in bread wheat. In: Vollmann J., Grausgruber H, Ruckebauer P (eds) Genetic variation for plant breeding. Eucarpia:Tulln,
- Saddoud o., chatti k., salhi-hannachi a., mars m., rhouma a., marrakchi m. and Trifi M., 2007. Genetic diversity of Tunisian figs (*Ficus carica* L.) as revealed by nuclear microsatellites. Hereditas 144:149–157.
- Samouelian F., Gaudin V. et Boccaram., 2009. Génétique moléculaire des plantes. Edition Quae. 208p.
- Samouelian T., Vegaj M., Hanf., Lamb J., Cetricher J.A., 2009. Advances in plant chromosome identification and cytogenetic techniques. Current Opinion in Plant Biology. 8:148-154.
- Sarni-cmandop .et cheyner V., 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Lavoisier (Tecet Doc), Paris, pp300-398.
- Soleimani V.D., Baum B.R et Johnson D.A., 2007. Analysis of genetic diversity in barley cultivars reveals incongruence between S-SAP, SNP and pedigree data. Genet. Res. Crop Evol. 54: 83-97.
- Tanksley SD, Orton T. (1983). Isozymes in plant genetics and breeding. Elsevier, Amsterdam Technique et Interprofessionnel des fruits et de légumes. Paris, 263 p
- Tessier D., Boursiquot J.M. and Charrier., 1999. Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera* L. Theor. Appl. Genet. 98:171–177.
- Vidaud, J. (1997). Le figuier, monographie. CTIFL Edition.
- Wünsch, A., & Hormaza, J. I. (2002). Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. *Euphytica*, 125 (1), 59.

Références bibliographiques

- Zheng, J D. nason, Dan L, Xu E et Hui YU, 2015. Développement et caractérisation des microsatellite loci pour Ficus hirta (moraceae) , application in plant sciences 2015 3(7) : 1500034.
- Zohary D, Hopf M., Weiss E., 2012. Domestication of plants in the old world. Oxford University Press, 264 p