

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de L'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique**

**Université De Blida 1**

---

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département de Biologie**



**Mémoire de fin d'études**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option: Biodiversité et Physiologie Végétale

**Thème**

**Évaluation de la diversité génétique chez  
quelques espèces du genre Ficus, par l'utilisation  
des marqueurs moléculaires: les microsatellites.**

**Présenté par :**

HAFFAF YOUSRA

KECHAD NARIMANE

**Soutenu, le 13 juillet 2021**

**Devant les jurys :**

Mr. GUEDIOURA A.

Maître de conférences (B)

UBI

Président

Mme. CHERIF H.

Maître de conférences (A)

UBI

Examinatrice

Mme. AMEDJKOUH H.

Maître assistante (A)

UBI

Promotrice

**Promotion: 2020/2021**

## **REMERCIEMENTS**

Après avoir rendu grâce à Dieu le tout puissant et le Miséricordieux nous tenons a remercier vivement tous ceux qui, de près ou de loin ont participé à la réalsation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier dans un premier temps, toute l'équipe pédagogique de département de Biologie.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre chère promotrice, Mme AMEDJKOUH H. Maitre assistante A à la faculté de Biologie Université de Blida I pour son suivi et pour son énorme soutien qu'elle n'a cessé de nous prodiguer tout au long de la période du ce travail.

Par ailleurs nous remercions Mr GUEDIOURA Maitre de conférence B à l'Université de Blida I pour avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions Mme CHERIF. Maitre de conférences A à l'Université de Blida I pour l'honneur de nous avoir accordé sa confiance en acceptant d'examiner ce mémoire.

A tous nos enseignants de l'option Biodiversité et physiologie végétale.

*Dédicaces*

*Dieu merci !*

*Je dédie ce travail à mes chers parents pour tout le soutien infaillible tout au long de ce parcours*

*A mon cher frère Khalil qui m'a toujours encouragé*

*Enfin, mon adorable Med Rafik !*

*En fin sans oublier Halim et sa famille*

*Yousra et sa famille*

*Amira et sa famille*

*Et ma regrettée ma chère grand-mère*

*Merci pour toute ma famille*

*Nariman*

## Dédicaces

*Dieu merci*

*Je dédie ce travail :*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : Mon chère père .*

*A la femme qui souffert sans me laisser souffrir, qui na jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargne aucun effort pour me rendre heureuse : Mon adorable Méré.*

*A mes moitiés mes sœurs Nesrine et Fatima .*

*A mes adorables frères Sofiane et Fayçal et mes beau Frères Hamid et Nabil.*

*A mes adorables neuves et niasses : Youcef. Younes. Anes. Oussama. Hind. Assia. Meriem. Salma.*

*A toutes les cousines spécialement Sabrina. Naziha et Siham.*

*Sans oublier mon binôme Narimane et sa famille pour soin soutien moral, sa patience tout au long de ce travail.*

*Enfin sans oublier Mr.Malik*

*Mes sincères gratitude a Mme Amejkouh pour la qualité de son enseignement, ses conseils et son intérêt.*

*yousra*

## Résumé

La présente étude est une synthèse des résultats des travaux basés sur la caractérisation de la diversité génétique chez trois espèces du genre *Ficus* (*Ficus carica*, *Ficus salicifolia* et *Ficus sycomorus*, 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 vérifier la conformité du matériel végétal.

Les marqueurs SSR utilisés ont permis d'isoler et de caractériser de nouveaux loci chez *Ficus sycomorus* et *Ficus carica*, ce qui explique une grande transférabilité des marqueurs microsatellites développés chez les différentes espèces du genre *Ficus*.

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

## **Abstract**

This study represents the results of research and calculations that have been done based on the characterization of genetic diversity in three species of the genus *Ficus* (*Ficus carica*, *Ficus salicifolia* and *Ficus sycomorus*, they use molecular markers: microsatellites (SSR).

Based on genetic diversity parameters, we found: the number of alleles, the allelic frequency, the heterozygosity observed, the expected heterozygosity and the fixation index. Molecular analysis revealed the reliability of the markers used for genetic polymorphism analysis, and also to verify the conformity of plant material.

The SSR markers used made it possible to isolate and characterize new loci in sycomorus *Ficus* and carica *Ficus*, which explains the great transferability of the markers microsatellite developed in the different species of the genus *Ficus*.

**Keys words:** Genetic diversity, *Ficus carica*, *Ficus salicifolia* , *Ficus sycomorus*, Microsatellite markers, Genetic polymorphism.

## ملخص

تعتبر هذه الدراسة ملخص لنتائج دراسات تعتمد على خصائص التنوع الجيني لثلاثة أنواع من صنف التين (*Ficus carica*, *Ficus salicifolia*, *Ficus sycomorus*) وذلك باستعمال الواسمات الجزيئية.

اعتمادا على مقاييس التنوع الجيني التالية: عدد الأليلات، تردد الأليلي، تغاير الزيغوت الملاحظ، ، تغاير الزيغوت المتوقع و مؤشر التثبيت، أظهر التحليل الجزيئي نجاعة الواسمات المستعملة لتحليل تعدد الأشكال الجيني و فحص مطابقة المعدات النباتية.

الواسمات SSR المستعملة مكنت من فصل و تخصيص لوسيات جدد لدى *Ficus sycomorus* و *Ficus carica* مما يفسر تحويل كبير للواسمات الجزيئية المطورة لدى مختلف أنواع التين.

## الكلمات المفتاحية

الساتلات الجزيئية ، *Ficus carica*, *Ficus salicifolia*, *Ficus sycomorus*، التنوع الجيني ،  
، الأشكال الوراثية

## Liste des Tableaux

**Tableau I :** Les caractéristiques des marqueurs microsatellites (SSR) et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica* ..... voir annex

**Tableau II :** Les caractéristiques des marqueurs microsatellites (SSR) et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica* ..... voir annex

**Tableau III :** Les caractéristiques des marqueurs microsatellites (SSR) et les paramètres de la diversité génétique chez le *Ficus carica* ..... voir annex

**Tableau IV :** Les caractéristiques des marqueurs microsatellites (SSR) et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus sycomorus* ..... voir annex

**Tableau V:** Les caractéristiques des marqueurs microsatellites (SSR) et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus salicifolia* ..... voir annex



## Liste de Figures

|  |   |
|--|---|
| <b>Figure 01</b> : Aspect générale de <i>Ficus caric</i> .....       | 6 |
| <b>Figure 02</b> : Aspect générale de <i>Ficus sycomorus</i> .....   | 7 |
| <b>Figure 03</b> : Aspect générale de <i>Ficus salicifolia</i> ..... | 8 |

# SOMMAIRE

|                   |   |
|-------------------|---|
| Introduction..... | 1 |
|-------------------|---|

## Partie bibliographique

### I. Généralités sur les espèces étudiées du genre *Ficus*

|   |   |
|---|---|
| I.1. Introduction.....                  | 5 |
| I .2. Classification.....               | 5 |
| I .3. Description botanique.....        | 6 |
| I.3.1. <i>Ficus carica</i> .....        | 6 |
| I .3.2. <i>Ficus sycomorus</i> .....    | 6 |
| I. 3. 3. <i>Ficus salicifolia</i> ..... | 7 |
| I.4. Pollinisation.....                 | 8 |
| I .5. Distribution géographique.....    | 9 |
| I.5.1. <i>Ficus carica</i> .....        | 9 |
| I.5.2. <i>Ficus sycomorus</i> .....     | 9 |
| I. 5. 3. <i>Ficus salicifolia</i> ..... | 9 |

### II. La diversité génétique

|  |    |
|--|----|
| II.1. Introduction.....  | 11 |
| II.2. Les marqueurs biologiques.....   | 11 |
| II.2.1 Les marqueurs morphologiques. ....  | 11 |
| II.2.2. Les marqueurs biochimiques.....  | 12 |
| II.2.3. Les marqueurs moléculaires.....  | 13 |
| II.2.3. 1.Les marqueurs moléculaire AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism)..... | 13 |
| II.2.3.2. Les marqueurs moléculaire RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....           | 14 |
| II.2.3.3. Les marqueurs moléculaire RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....   | 14 |
| II.2.3.4. Les marqueurs moléculaire microsatellites ou SSR (Simple sequence repeats).....  | 15 |

## **Partie expérimentale**

### **I. Matériel et méthodes**

|   |    |
|---|----|
| I.1. Matériel.....                                  | 18 |
| I.1.1. Matériel végétal.....                        | 18 |
| I.1.2. Les marqueurs moléculaires. ....             | 18 |
| I.2. Méthodes.....                                  | 19 |
| I.2.1. Les paramètre de la diversité génétique..... | 19 |

### **II. Résultats et discussion**

|  |    |
|--|----|
| II.1. Résultats.....   | 21 |
| II.1.1. Résultat de la diversité génétique chez <i>Ficus carica</i> .....      | 21 |
| II.1. 2. Résultat de la diversité génétique chez <i>Ficus sycomorus</i> .....  | 23 |
| II.1.3. Résultat de la diversité génétique chez <i>Ficus salicifolia</i> ..... | 24 |
| II. 2. Discussion.....   | 25 |
| Conclusion.....  | 26 |
| Références bibliographiques.....   | 27 |
| Annex.....   |    |

## 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 la différence et représente le fondement de la biodiversité (Budak *et al.*, 2003).

La diversité interspécifique 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 phylogénétique sont des enjeux majeurs afin de valoriser le patrimoine génétique tel que les espèces du genre *Ficus* (Boudchicha, 2019).

Le genre *Ficus* (Moraceae) est l'un des plus importants de la flore tropicale par le nombre d'espèces. Les études portées sur les caractères morphologiques, anatomiques et chimiotaxonomiques se sont révélées insuffisantes pour résoudre les difficultés rencontrées dans la taxonomie des espèces du genre *Ficus* (Diop, 2013).

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.*, 2004).

Le but du présent travail est la caractérisation de la diversité génétique de trois espèces du figuier : *Ficus carica*, *Ficus salicifolia* et *Ficus sycomorus*, 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.
- Saddoud et al., 2007 : Tunisian fig (*Ficus carica* L.) genitic diversity and cultivar characterization using microsatellite markers.
- Bentayeb, 2018 : Caractérisation moléculaire et morphologique du figuier (*Ficus carica* L.) d'Algérie.
- Ahmed et al., 2007: Characterization of microsatellite loci in the African fig (*Ficus sycomorus* L). Moraceae.

- Abdenni et Ben rali., 2015 : Contribution a la caractérisation morphologique chimio-taxonomique et moléculaire du figuier de Hoggar, (*Ficus salicyfolia Vahl*).

# Partie Bibliographique

## **I. Généralités sur les espèces étudiées :**

- *Ficus carica* L.

- *Ficus sycomorus* L.

- *Ficus salicifolia* Vahl.

### **I.1. Introduction**

La famille des Moracées comprend environ 1500 espèces classées en 52 genres parmi lesquels le genre *Ficus* décrit par Linné (Lespinasse et Leterme, 2005).

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 tous 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).

Les figuiers (*Ficus* spp., Moracées) sont des arbres, des buissons ou des héli-épiphytes, ils sont présents principalement en milieu tropical et subtropical mais se trouvent également en zones tempérées, ils sont caractérisés par la production de figue (Berg, 1989).

### **I.2. Classification**

La classification adoptée est basée sur le système APGIII (groupe phylogénétique des angiospermes) établie en 2009 (Chase et Revel, 2009) :

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Eudicotyledones
- Ordre : Urticales
- Famille : Moracées
- Genre : *Ficus*
- Espèce :- *Ficus carica* L.
  - *Ficus sycomorus* L.
  - *Ficus salicifolia* Vahl.



### I.3. Description botanique

#### I.3.1. *Ficus carica*

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 (Vidaud, 1997).

*Ficus carica* est un arbre robuste cultivé dans les oasis jusqu' à Tibesti, à Feuilles épaisses et coriaces, plus larges que longues, atteignant 30 cm de diamètre (figure 01), découpées en larges lobes, à limbe rugueux, à fleurs très petites réunies en grand nombre sur la paroi interne d'un réceptacle qui devient plus ou moins charnu à maturité (le fruit) (Ozenda, 2004).



a / Feuille de *Ficus carica*.



b/ Arbre de *Ficus carica*.

**Figure 01:** Aspect général de *Ficus carica* L. (Kjellberg, 2020).

#### I.3.2. *Ficus sycomorus*

*Ficus sycomorus* est un arbre qui peut atteindre jusqu' à 15 mètres de hauteur, les feuilles sont des formes elliptique à subcordiforme, de taille (14x10) cm, avec présence de 4 à 7 paires de nervures latérales basales et ramifiées (Berg, 1991).

Le fruit de *Ficus sycomorus* est de forme globuleuse à subpyriforme de 5 cm de diamètre, avec présence de pédoncule de (0.3-0.6) cm de long et des bractées basculés de ( 2.5 à 3) mm de long (Berg, 1992).



a / Feuille de *Ficus sycomorus*.



b / Arbre de *Ficus sycomorus*.

**Figure 02:** Aspect général de *Ficus sycomorus* . L (Berg. 2003).

### **I.3.3. *Ficus salicifolia* :**

*Ficus salicifolia*, est un arbre de taille moyenne de 6 à 12 mètres de hauteur cependant Berg et Wiebes (1992), rapportent qu'il peut atteindre 15 mètres de hauteur. Le tronc n'est jamais très large (Guère plus de 10 cm de diamètre) (Gast, 2000) ayant une écorce grise claire à fond verdâtre, elle est écailleuse chez les sujets âgés (Sahki, 2004). Les feuilles sont simples coriaces, avec une base en forme de cœur, de couleur vert pâle et ont des marges lisses. Elles présentent une nervure nette qui est perceptible des deux cotés mais elle est, plus exposée sur la face inférieure (Sahki, 2004). Les fruits sont positionnés par paires à l'aisselle des feuilles, ils sont de forme subglobuleuses de (0.5 à 1) cm de diamètre, de couleur rougeâtre à maturité (Berg ,1990).

a / Feuille de *Ficus salicifolia*.b / Arbre de *Ficus salicifolia*.**Figure 03:** Aspect général de *Ficus salicifolia* Vahl (Berg, 2003).

#### I.4. Pollinisation

Les espèces appartenant au genre *Ficus* ont une pollinisation entomogame (Ramade, 2008). En effet, le processus se réalise suite à une interaction entre *Ficus* (Moracées) et un insecte pollinisateur spécifique à chaque espèce de *Ficus* qui sont appartient à la famille des Agonides (Jousselin et al., 2003) :

- ✓ *Ficus carica* est pollinisé par l'insecte *Blastophaga psenes* (Jousselin, 2008).
- ✓ *Ficus sycomorus* est pollinisé par l'insecte *Ceratosole arabicus* et *Ceratisole galili* (Berg et Weibs, 1992).
- ✓ *Ficus salicifolia* est pollinisé par *Platyscapa awekei* (Jousselin et al., 2003).

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 : 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).

## **1.5. Distribution géographique**

### **1.5.1. *Ficus carica***

Le figuier est cultivé dans plusieurs régions du monde, principalement dans les climats tempérés et doux mais aussi les régions tropicales et subtropicales (Morton, 1987). En Algérie, il s'étend sur des altitudes allant de 300 m jusqu'au massifs montagneux du Djurdjura à une altitude de 800m (Aouane, 2015), il est parfois rencontré à des altitudes plus haute, à 1000 m voir 1200 m d'altitude, des valeurs que ne peut atteindre l'olivier (Aouane, 2015).

### **1.5.2. *Ficus sycomorus***

Selon Berg et Weibs (1992), cette espèce se rencontre dans l'Afrique du sud, au Sénégal, à Madagascar, il est cultivé aussi en Egypte, au Syrie et en Arabie Saoudite.

### **1.4.3. *Ficus salicifolia***

*Ficus Salicifolia* est une espèce endémique de Sahara central où elle est fréquemment rencontrée dans le Hoggar (Tamanrasset), l'espèce se trouve sur les Failles rocheuses, les ravins humides et à proximité des oueds (Sahki, 2004 ; Chenoune, 2005).

## **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 (Budak et al., 2003). La diversité spécifique (polymorphisme génétique) représente le potentiel et la capacité à répondre aux changements environnementaux, à la fois sur le court 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 photochimiques 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 (Khadari et al., 2001).

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. 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 (Khadari et al., 2003).

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

#### **II.2.3.1. Les marqueurs moléculaires 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 (Khadari et al., 2003). 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 (Van sumere et al., 1993).

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 moléculaires 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 (Shteyah et al., 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. Les marqueurs moléculaires RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) :**

La technique du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) 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 Microsatellites ou SSR (Simple sequence repeats) :**

Les marqueurs SSR (Séquence simple répétées) ou les microsatellites sont de petites unités (2-6 paires de bases) répétées de nombre variable se trouvant dans différents loci, généralement leur longueur 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 SSRs ont été développés pour les différentes espèces fruitières (Wunsch et Hormaza., 2002). Cependant, le principal inconvénient de ces marqueurs réside dans le fait qu'il faut connaître leurs séquences nucléotidiques pour pouvoir désigner leurs régions flanquantes (Hormaza, 2002).

Les SSRs 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 élevé de séquences inscrites dans les bases de données. L'autre technique pour obtenir des SSRs est le développement de bibliothèques enrichies avec des motifs répétés. 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 ultime pour l'identification variétale du figuier (Mavsar et al., 2008).

# Partie expérimentale

# **I. Matériel 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).
- Characterization of microsatellite loci in the African fig *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) (Ahmed et al., 2007) .
- Tunisian fig (*Ficus caroica* L.) genitic diversity and cultivar characterization using microsatellite markers (Sadoud et al., 2007).

### Thèses :

- Contribution à la caractérisation morphologique, chimio-taxonomique et moléculaire du figuier de Hoggar (*Ficus salicyfolia* Vahl) (Abdennbi et Ben rali .,2015).
- Caractérisation moléculaire et morphologique du figuier (*Ficus carica* L.) d'Algérie (Bentayeb., 2018).

L'objectif de notre Travail est l'étude de la diversité génétique chez trois espèces du genre *Ficus* (*Ficus carica* , *Ficus salicifolia*, *Ficus sycomorus*), par les marqueurs microsatellites (SSR).

## I .1. Matériel

### I.1.1. Matériel végétal

-La caractérisation moléculaire a été effectuée sur la poudre végétale des feuilles de Fiquier à savoir :

-75 individus de *Ficus carica* cultivés au Maroc (Achtak et al., 2009) ;73 individus de *Ficus carica* cultivés au Algérie (Bentayeb., 2018) ;72 individus de *Ficus carica* cultivés au Tunisie (Saddoud et al., 2007).

- 75 individus de *Ficus sycomorus* (Ahmed et al., 2007) .

-15 individus de *Ficus salicifolia* (Abdennbi et Ben rali., 2015).

### I.1.3. les marqueurs moléculaires

Les marqueurs moléculaires SSR on été sélectionnées selon leurs degré de polymorphisme et la facilité de leurs marquage, ainsi:

- Parmi les 17 marqueurs SSR utilisés par (Achtak et al., 2009), nous avons choisi 6 marqueurs: MFC2, MFC7, MFSC8, FSYC01, LMFC26, LMFC30.

- Parmi les 12 marqueurs SSR utilisés par (Ahmed et al., 2007), nous avons choisi 6 marqueurs: Fsync01, Fsync02, Fsync04, Fsync05, Fsync06, Fsync07.
- 6 marqueurs SSR ont été utilisés par (Saddoud et al., 2007): MFC2, MFC3, MFC5, MFC6, MFC7, MFC8.
- 6 marqueurs SSR ont été utilisés par ( Abdennbi et Ben rali., 2015): MFC2, MFC8, MFC12, LMFC26, LMFC30, FSYC01.
- 5 marqueurs SSR ont été utilisés par (Bentayeb, 2018): MFC2, MFC4, MFC5, MFC7, MFC8.

### I.2. Méthodes

Le marquage moléculaire a été réalisé à l'aide des microsatellites (SSR), selon les méthodes décrites dans les différents articles étudiés. Il consiste en l'amplification par PCR (polymérase chaîne 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 réalisé sur séquenceur automatique, couplé à un ordinateur équipé de logiciel spécifique.

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

Les images obtenues se présentent sous forme d'électrophorégramme où chaque pic représente un allèle dont la couleur indique le marqueur utilisé.

#### I.2.1. Les paramètres de la diversité génétique

Pour chaque marqueur SSR, les allèles ont été détectés et identifiés par la taille des allèles en paires de bases (Pb) et par le nombre d'allèle 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 donnée par rapport au nombre total des allèles.
- Hétérozygotie observé ( $H_o$ ) : c'est le taux d'individus hétérozygotes au locus donné.
- Hétérozygotie attendue ( $H_e$ ) : c'est la fréquence théorique des hétérozygotes au locus déterminé.

Si :  $H_o > H_e$  excès en hétérozygote.

$H_o < H_e$  déficit en hétérozygote

- Indice de fixation ou coefficient de consanguinité ( $F_{is}$ ) : il mesure l'écart entre la population d'individus trouvés à l'écart hétérozygotie observée  $H_o$  et le taux d'hétérozygotie attendue  $H_e$ .

Si :  $F_{is} < 0$  population présent un excès en hétérozygote.

$F_{is} > 0$  population présent un déficit un hétérozygote.

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

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

**II .1. Résultats**

**II .1.1. Résultats de la diversité génétique chez *Ficus carica*.**

Les résultats de la diversité génétique chez *Ficus carica* sont mentionnés dans les tableaux : **I, II et III.**

**Tableau I:** Les caractéristiques des marqueurs microsatellites (SSR) et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica* cultivée au Maroc.

| Marqueurs      | Pb      | N    | F     | He   | Ho   | Fis    |
|----------------|---------|------|-------|------|------|--------|
| <b>MFC2</b>    | 154-170 | 6    | 0,187 | 0,64 | 0.66 | -0.028 |
| <b>MFC8</b>    | 167-177 | 4    | 0,125 | 0,47 | 0.66 | -0.384 |
| <b>LMFC24</b>  | 272-276 | 3    | 0,093 | 0,43 | 0.55 | -0.276 |
| <b>LMFC26</b>  | 224-236 | 3    | 0,093 | 0,14 | 0.15 | -0.053 |
| <b>LMFC30</b>  | 231-261 | 9    | 0,281 | 0,74 | 0.86 | -0.158 |
| <b>FSYCO01</b> | 117-169 | 7    | 0,218 | 0,52 | 0.54 | -0.028 |
| <b>Moyenne</b> | /       | 5,33 | 0,305 | 0,49 | 0.57 | 0.154  |

(Achtak et al., 2009 )

**N :** le nombre d'allèle. **Pb :** nombre de base. **F :** fréquence allélique. **Ho :** hétérozygotie observée. **He :** hétérozygotie attendue. **Fis :** indice de fixation des populations.

L'analyse de 75 échantillons de feuille de figuier utilisant 6 loci SSR a révélé 32 allèles. Le nombre des allèles varie de 3 à 9 allèles par locus avec une moyenne de 5,33 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 locus LMFC26 et LMFC24. La taille des allèles varie de 117 Pb au locus FSYCO01 à 276 Pb au locus LMFC24. Les fréquences allélique se situent entre 0.09 et 0.28 avec une moyenne de 0,30.

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

L'hétérozygotie observée (Ho) varie entre 0.15 au locus LMFC26 à 0.86 au locus LMFC30, avec une moyenne 0.57.

D'après le tableau I, Ho>He pour tout les loci, ceci exprime un excès en hétérozygotes ; ce qui est confirmé par les valeurs négatives de l'indice de fixation (Fis) pour tout les loci.



**Tableau II :** Les caractéristiques des marqueurs microsatellites (SSR) et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus carica* cultivée en Tunisie.

| Marqueurs      | Pb      | N    | F    | He   | Ho   | Fis   |
|----------------|---------|------|------|------|------|-------|
| <b>MFC2</b>    | 170-228 | 7    | 0.12 | 0,81 | 0,72 | /     |
| <b>MFC3</b>    | 124-194 | 14   | 0.24 | 0,87 | 0,51 | /     |
| <b>MFC5</b>    | 118-165 | 10   | 0.17 | 0,82 | 0,77 | /     |
| <b>MFC6</b>    | 166-188 | 7    | 0.12 | 0,77 | 0,84 | /     |
| <b>MFC7</b>    | 130-148 | 6    | 0.10 | 0,82 | 0,73 | /     |
| <b>MFC8</b>    | 141-202 | 14   | 0.24 | 0,86 | 0,61 | /     |
| <b>Moyenne</b> | /       | 9.66 | 0.16 | 0,82 | 0.69 | 0.052 |

(Saddoud et al, 2007)

Un total de 58 allèles allant de 7 MFC2 à 14 MFC3, MFC8 et de 118 Pb (MFC5) à 228 Pb (MFC2) ont été évalués. Le nombre moyen d'allèles par locus est 9.66.

Les valeurs de Ho notées varie de 0.51 au locus MFC3 à 0.84 au locus MFC6 avec une moyenne de 0.7 suggérant que le Figuier Tunisien est caractérisé par un haut niveau de polymorphisme au niveau de L'ADN.

L'hétérozygote attendu (He) 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 alléliques 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 Fis = 0.052 (>0), Ce qui indique un déficit en individus hétérozygotes.

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

L'hétérozygotie observée moyenne des 5 marqueurs est plus élevée (0.7) que celle attendue (0.50). Les valeurs du taux d'hétérozygotie observée et attendue ont permis de

calculer l'indice de fixation (Fis) qui est négatifs sur l'ensemble des loci indiquant ainsi que la population étudiée présente un excès en hétérozygotes.

### II. 1. 2. Résultats de la diversité génétique chez *Ficus sycomorus*

Les résultats de la diversité génétique chez *Ficus sycomorus* sont mentionnés dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Les caractéristiques des marqueurs microsatellites (SSR) et les paramètres de la diversité génétique chez *Ficus sycomorus*.

| Marqueurs      | Pb      | N  | F     | He   | Ho   |
|----------------|---------|----|-------|------|------|
| <b>FSYCO01</b> | 180-200 | 5  | 0.166 | 0,71 | 0.07 |
| <b>FSYCO02</b> | 145-186 | 7  | 0,233 | 0,64 | 0.66 |
| <b>FSYCO04</b> | 210-220 | 3  | 0,1   | 0,64 | 0.63 |
| <b>FSYCO05</b> | 240-270 | 3  | 0,1   | 0,33 | 0,36 |
| <b>FSYCO06</b> | 140-201 | 10 | 0,333 | 0,81 | 0,73 |
| <b>FSYCO07</b> | 195-258 | 2  | 0.066 | 0,37 | 0    |
| <b>Moyenne</b> | /       | 5  | 0,166 | 0,58 | 0.40 |

(Ahmed et al., 2007).

Un total de 30 allèles allant de 2 (FSYCO07) à 10 (FSYCO06) et de 140 Pb (FSYCO06) à 270 Pb (FSYCO05) ont été évalués. Le nombre moyen d'allèles par locus est 5.

Les valeurs de Ho notées varie de 0 au locus FSYCO07 à 0.73 FSYCO06 avec une moyenne de 0.4.

Les valeurs de l'hétérozygotie attendue (He) varie entre 0.33 au locus FSYCO05 à 0.81 au locus FSYCO06.

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 alléliques varie de 0.06 pour le locus FSYCO07 à 0.33 pour FSYCO06.

### II . 1 . 3. Résultats de la diversité génétique chez *Ficus salicifolia*

les résultats de la diversité génétique chez *Ficus salicifolia* sont mentionnes dans le tableau V.

L'analyse des 15 échantillons des feuilles de figuier utilisant 6 loci SSR a révélé 81 allèles. Le nombre des allèles varie de 11 à 15 allèles par locus avec une moyenne de 13.5 allèles. Le nombre le plus élevé d'allèles 15 a été détecté au locus MFC8 et FSYCO01 tandis que le nombre le plus faible 11 a été obtenu pour le locus LMFC30. La taille des

allèles révélée est comprise entre 117 (Pb) au locus FSYCO01 à 261 (Pb) au locus LMFC30.

Les fréquences alléliques moyennes calculées pour chaque locus varie entre 0.13 LMFC30 et 0.18 (MFC8 FSYCO01).

L'hétérozygotie observé moyenne des 6 marqueurs est plus élevé (0.82) que celle attendue (0.51). Les valeurs du taux d'hétérozygotie observée et attendue ont permis de calculer l'indice de fixation Fis qui est négatifs sur l'ensemble des loci indiquant ainsi que la population étudiée présente un excès en hétérozygotes.

### 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 (*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 ., 2019). 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 trois espèces du genre *Ficus* (*Ficus carica*, *Ficus salicifolia* et *Ficus sycomorus*, 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.

Pour les individus de *Ficus sycomorus*, l'hétérozygotie observée était inférieure aux valeurs de l'hétérozygotie attendue, selon l'équilibre Hardy-Weinberg (HW), suggérant un déficit d'individus hétérozygotes.

Contrairement aux individus de *Ficus salicifolia* qui présente un indice de fixation ( $F_{is}$ ) négatifs sur l'ensemble des loci indiquant ainsi que la population étudiée présente un excès en hétérozygotes.

Les marqueurs moléculaires utilisés dans cette étude se sont révélés fiable et démontrent leur l'importance dans la gestion de la variabilité et la différenciation entre les trois espèces du figuier.

## Références bibliographiques

- 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 Blida 51p.
- AOUANE A., 2015. Contribution au génotypage par marqueur moléculaire et caractérisation morphologique de quelques cultivars locaux de figuier (*Ficus carica* L.). Mémoire de magistère, Université Hadj Lakhdar, Batna
  
- 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 allozyme electrophoresis in plant systematics. *Biochem. Syst. Ecol.* 29: 469-483.
- BENTAYEB z., 2018. Caractérisation moléculaire et morphologique du figuier (*Ficus carica* L.) ;Algérie, Thèse de Doctorat, Université d’Oran, 180P.
- BERG, CC & HIJMAN, MEE 1989. Chapitre 11. *Ficus*. *Flora of Tropical East Africa* (éd. RM Polhill). 43-86. AA Balkema, Rotterdam.
- BERG ,CC 1991. Moracées. Dans : E. Launert and GY Pope (eds) *Flora Zambesiaca* 9, 6. Natural History Museum, Londres.
- BERG, C.C. & WIEBES, J.T.1992. African fig trees and fig wasps. Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen. Amsterdam,1-298 pp.
- 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., DEXTER J.E. et SAPIRSTEIN H.D., 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cerealchem.*, 390-393 pp.
- BOUDCHICHA, RH., HORMAZA, J.I., BENBOUZA, H. (2018): Diversity analysis and genetic relationships among local Algerian fig cultivars (*Ficus carica* L.) using SSR markers. –*South African Journal of Botany* 116:207-215.
- BUDAK H., PEDRAZA F., BAENZIGER Ps., Cregan Pb et Dweikat I., 2003. Development and utilization of SSR to estimate genetic diversity in a collection of pearl millet germplasm. *Crop Sci.*43: 2284-2290.
  
- 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.
- CHASE M.W. et RAVEAL J.L., 2009. A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Botanical journal of the Linnean society* (161) pp 122-127.
- Chenoune K., 2005. La flore et la végétation du Hoggar: Bois et forêts des tropiques (2), N°284,79-83pp.

- CIPRIANI, G., LOT G., HUANHG, W. G., MARRAZO, M. T., PETRLUNGER, 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, Jr., BURTON JW et WELLS R., 2001. Phenotypic Diversity of Modern Chinese and North American Soybean Cultivars. *CropSci* 41: 1954-1967.
- DARDEVET 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
- DIOP D., 2013 : Etude Biosystématique du *Ficus* (Moraceae) au Sénégal. thèse de Doctorat, Sénégal. 315p
- FU, R.H., LI, Y.X., LIU, M., Q.M. (2017): Development of 15 polymorphic microsatellite markers for *Ficus virens* (Moraceae). – *Applications in plant sciences* 5 (1): 1600101.
- GAST M., 2000. Moisson de désert: utilisation des ressources naturelles au Sahara central, Ed. Ibis press, Paris, 90 pages.
- GIANCOLA S., MCKHANN H., BERARD A., CAMILLERI C., DURAND S.,
- GIRALDO, E., VIRUAL, M. A., LOPEZ-CORRALES, M., & HORMAZA, J. I. (2005). 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.
- 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 American Society for Horticultural Sciences* 133: 69-77.
- GOMEZ OJ., BLAIR MW., 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 ; these de doctorat , Montpellier, France. 323 P
- HARRY M., 2001. Génétique moléculaire et évolutive. Editions Maloine., Paris.
- HORMAZA J.I. 2002. Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats . *Theor. Appl. Genet.* 104:321-328.

- IKTEN , H., SOLAK, S.S., YILMAZ, Y. (2018): Transferability of SSR markers from related *Ficus speice* to *Ficus carica* L. and assessment of effectiveness of the markers. – Applied Ecology and Environmental Research 16(2):1909-1919.
  
- JOUSSELIN E., RASPLUS J.Y et KJELLBERG F., 2003. Convergence and coevolution in a mutualism: Evidence from a molecular phylogeny of *Ficus* evolution: 1255-1269.
- JOUSSELIN E., 2008. Les figuiers et leur communauté de chalcidiens : histoire évolutive, coévolution, écologie des communautés, (Fichier, PDF).
  
- 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., HOCHU I., BOUZID L., ROGER J.P., KJELLERG 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., OOUKABLI, A., Ater, M., MAMOUNI, A., ROGER, J.P., KJELLBERG, F. (2004): Molecular characterization of Moroccan fig germplasm using intersimple sequence repeat and simple sequence repeat markers to establish a reference collection.- Journal of the American Society for Horticultural Sciences 40:29-32.
- KHADARI B., GROUT C., SANTONI S., KJELLBERG F., 2005. Contrasted genetic diversity and differentiation among Mediterranean populations of *Ficus carica* L.: A study using mtDNA RFLP. Genet. Resour. Crop. Ev., (52) : 97–109.
- KJELLBERG F., ALJIBOURI A., VALDEVRON G., 1983. Observations récentes sur la pollinisation du figuier, vol38, N° 7-8, P 567-569.
- KJELLBERG, F and Lesne A. 2020. *Ficus carica* and its pollination. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02516888>.
- KONATE 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.
  
- LASCANOCE., 2006. Morphological, agronomic and forage quality diversity of the *Flemingia macrophylla* word collection. Field Crops Research 96: 387-406.
- LESPINASSE J-M. et LETERME E., 2005. De la taille à la conduite des arbres fruitiers. Ed Rouergue.326p.lution et spéciation : le cas des chalcidiens associés aux figues. Ed Belin, Paris. P : 253-262.
- LIBEAUP., ROUX F., REBOUD X., GUT I.G et BRUNEL D., 2006. Utilization of the three high-throughput SNP genotyping methods, the GOOD assay, Amplifluor and TaqMan, in diploid and polyploid plants. TheorAppl Genet 112: 1115-1124.
- LOPES, M.S., MENDONCA, D., SEFC, K.M., SABINO, G.F., CAMARA MACHADO, A. (2004): Genetic evidence of intra-cultivar variability within Iberian olive cultivars.-Journal of the American Society for Horticultrual Sciences 39: 1562-1565.



- 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.
- MORTON, J.F. (1987). Fig. In: *Fruits of warm climates*. Ed. J.F. Morton, Miami, Florida, USA, 47-50.
  
- RAMADE F., 2008. *Dictionnaire encyclopédique des sciences et de la nature de la biodiversité*, Dunod, Paris.
- RAVEL C., PRAUD S., CANAGUIER A., DUFOUR P., GIANGOLA S., BALFOURIER F., CHALHOUB B., BRUNEL D., LINOSSIER L., DARDEVET M., BECKERT M., ROUSSET M., MURIGNEUX A., CHARMET G., 2004. DNA sequence polymorphism and their application in bread wheat. In: Vollmann J, Grausgruber H, Grausgruber H, Ruckenbauer P (eds) *Genetic variation for plant breeding*. Eucarpia: Tulln.
- SAHKI A. et SAHKI R., 2004. *Le Hoggar promenade botanique*. Ed. Esope, Lyon/Chamonix.
  
- 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. CropEvol.* 54:83-97.
- 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: 149157. Lund, Sweden. eISSN1601-5223. Received July 11, 2006. Accepted April 20, 2007.
- SALEH B., 2019. Genetic Variability Analysis of *Ficus sycomorus L.* (Moraceae) Species in Syria. *Int. J. of Pharm. Life Sci.* 10 (5):6224-6235
- SAMOUELIAN F., GAUDIN V. et BOCCARA M., 2009. *Génétique moléculaire des plantes*. Edition Quae. 208p.
- SAMOUELIAN T., VEGA J.M., HAN F., LAMB J.C et BRICHER J.A., 2009. *Advances in plant chromosome identification and cytogenetic techniques*. *Current Opinion in Plant Biology*. 8:148-154.
- SARNI-CMANCHADO P. et CHEYNIER V., 2006. *Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed. Lavoisier (Tec et Doc), Paris, pp300-398.
  
- TANKSLEY SD, Orton T. (1983). *Isozymes in plant genetics and breeding*. Elsevier, Amsterdam Technique et Interprofessionnel des fruits et de légumes. Paris
- TESSIER C., DAVID J., THIS P., BOURSICQUOT J.M. and CHARRIER A., 1999. Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera L.* *Theor. Appl. Genet.* 98:171–177.
- TANKSLEY SD, Orton T. (1983). *Isozymes in plant genetics and breeding*. Elsevier, Amsterdam Technique et Interprofessionnel des fruits et de légumes. Paris, page 263.

- OZANDA P., 2004. Flore et végétation du Sahara, Ecologia Mediterranea, Paris, 30-2 p. 247
- VAN NOORT, S. & Rasplus, JY. 2021. Figweb figues et guêpes figues du monde.
- VIDAUD, J. (1997). Le figuier, monographie. CTIFL Edition.
- WUNSCH, A., & HORMAZA, J. I. (2002). Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. *Euphytica*, 125(1), 59.
- ZHANG, L., NASON, H.D., LIANG, D., Ge, X., Yu, H. (2015): Development and characterization of microsatellite loci for *Ficus hirta* (Moraceae). –Applications in plant sciences 3 (7): 1500034. 108.
- ZOHARY D, Hopf M., Weiss E., 2012. Domestication of plants in the old world. Oxford University Press.