

Fiche présentative de la thèse

Nom et Prénom de l'auteur :

Wassila BOUTA

Intitulé du travail :

Le Lentisque (*Pistacia Lentiscus L.*) au Maroc : apport des critères morphologique, des marqueurs moléculaire et des biomolécules dans le typage et la caractérisation.

Lieu de réalisation des travaux

Ce travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire des Biotechnologies et Valorisation des Ressources Phytogénétiques (LBVRP) à la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal, Maroc.

Encadrants

➤ Directeur de thèse : Pr. Mohammed EL HANSALI, Laboratoire de Biotechnologies et Valorisation des Ressources Phytogénétiques, Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal.

➤ Co-directeurs : Pr. Abdelmajid HADDIOUI et Said BOUDA. Laboratoire de Biotechnologies et Valorisation des Ressources Phytogénétiques, Faculté des Sciences et Techniques, Beni Mellal

Béni Mellal.

➤ Période de la thèse : 2015/2016-2020/2021

➤ **Publications et communications auxquelles ce travail a donné lieu :**

❖ Publications :

- **Bouta. W.**, Bouda S, El Rasafi T, El Hansali M and Haddioui A, 2020. Morphological Diversity in Wild Populations of Mastic Tree, *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) in Morocco. **Phytomorphology**, volume 70 Number 1&2 January- June 2020.
- **W. Bouta**, S. Bouda, Y. Ait bella, Y. khachtib, M. El Hansali, T. El Rasafi, & A. Haddioui, 2021. Assessment of genetic diversity of Moroccan ***Pistacia lentiscus* L.** populations using ISSR markers. (**Australian Journal of Crop Science**)
- **W. Bouta**, El Rasafi T, Bouda S, El Hansali M and Haddioui A. Biochemical characterization of wild Populations of Moroccan *Pistacia lentiscus* L. (En cours).

• **W. Bouta**, El Rasafi T, Bouda S, El Hansali M and Haddioui A. Characteristics, diversity, and effect of climate conditions on genetic variation of Mastic Tree – a review (En cours).

❖ Communications :

• BOUTA W., BOUDA S., AALAM Y., EL HANSALI M., HADDIOUI A. Etude de la variabilité morpho-pomologique des ressources phylogénétiques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) au Maroc Forum international sur les changements climatiques (FST BENIMELLAL). 19 Octobre 2016.

• W. BOUTA, S. BOUDA, Y. AALLAM, M. EL HANSALI & A. HADDIOUI. Valorisation des ressources génétiques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) au profit de l'agro-écologie au Maroc. Workshop national sur la biotechnologie sous le thème : la biotechnologie au service d'une agriculture durable. (FST BENIMELLAL). 26-27 Décembre 2016

• W. BOUTA, S. BOUDA, M. EL HANSALI, Y. AALLAM, A. HADDIOUI. MORPHOLOGICAL AND POMOLOGICAL VARIABILITY OF MOROCCAN MASTIC TREE (*PISTACIA LENTISCUS*. L). Deuxième édition du symposium : sante -environnement - développement durable : impact de l'environnement des changements climatiques sur la santé et la biodiversité, organisé par le Laboratoire Biochimie Nutrition et Valorisation des Ressources Naturelle à la Faculté des Sciences d'El Jadida, Université Chouaib Doukkali – Maroc, le 25 Février 2017.

• W. BOUTA, T. ELRASAFI, S. BOUDA, M. ELHANSALI & A. HADDIOUI. Caractérisation biochimique de quelques populations marocaines du lentisque (*Pistacia Lentiscus* L.). 1st international E-conference on Climate Nexus Perspectives (I2CNP): Water Food and Biodiversity organized by the research team "Environment and Natural Resources Management" in the Higher School of Technology, Khenifra, in June, 04th, 2020.

DEDICACE

Je dédie ce travail tout d'abord à la mémoire, à l'esprit et à l'âme ma chère mère, qui sans elle, je n'en serais pas là aujourd'hui, Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée. Puisse Dieu, tout puissant vous combler le paradis.

A mon cher père, Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouverez les fruits de votre semence et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme père. J'implore Dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.

Mes frères (Dr. NOUR EDDINE BOUTA et Dr. NASSERDDINE BOUTA), En signe de l'affection et du grand amour que je vous porte, les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection et de mon attachement indéfectible. Que Dieu vous accorde santé.

A ma deuxième famille (tante LATIFA et sœur LATIFA), Merci pour tout leur amour et leur soutien depuis toujours. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, la conséquence de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

A mon mari ALLAM EL MOKHTAR Pour l'amour et l'affection qui nous unissent. Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu. Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur. Je prie Dieu le tout puissant de préserver notre attachement mutuel, et d'exaucer tous nos rêves.

A ma petite princesse AMIRA Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude de t'avoir comme fille, sœur et amie. Je ne pourrais jamais imaginer la vie sans toi, tu comptes énormément pour moi, tu étais et tu seras toujours mon encouragement et mon soutien le long de ma vie, je t'estime beaucoup et je t'aime beaucoup. Je te souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.

Ainsi qu'à tous mes amis

En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de réussite, bonheur, santé et de prospérité.

Remerciement

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de ma thèse et qui m'ont aidé lors de la rédaction de ce rapport.

J'adresse mes remerciements à mon encadrant, Mr. Mohamed ELHANSALI Professeur à l'Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques, pour son suivi de mes informations et ses encouragements le long de ma thèse.

Je remercie vivement mon Co-Encadrant Mr. Abdelmajid HADDIOUI, Professeur à l'Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques, et directeur du laboratoire de biotechnologie et valorisation des ressources phylogénétiques, pour m'avoir accueillie au sein de son équipe. Je lui suis également reconnaissante pour le temps qu'il m'a accordé, ses qualités pédagogiques et scientifiques, son écoute et ses conseils. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse ma gratitude pour tout cela.

J'adresse également un chaleureux remerciement à mon Co-encadrant Mr. Said BOUDA, Professeur à l'Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques, pour son attention de tout instant sur mes travaux, son suivi de très près, qui ont été prépondérants pour la bonne réussite de cette thèse. Son énergie et sa confiance ont été des éléments moteurs pour moi. J'ai pris un grand plaisir à travailler avec lui et j'ai de la chance.

Je remercie également toute l'équipe (docteurs et les doctorants) de mon unité d'accueil le laboratoire de Biotechnologie et Valorisation des Ressources Phylogénétiques, pour leur accueil, leur esprit d'équipe et en particulier Mr ERRASAFI TAOUFIK, qui m'a beaucoup aidé de près et de loin durant tout le long de parcours au sein de la FST de BENI MELLAL.

SOMMAIRE

Liste des tableaux	1
Listes des figures.....	2
Liste des abreviations	3
Glossaire.....	4
INTRODUCTION GENERALE.....	11
Chapitre 1 : sythese bibliographique.....	14
I. Botanique, taxonomie et description du lentisque :	15
1) Présentation du genre Pistacia :.....	15
2) Présentation et taxonomie de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> L.	17
a. Description botanique :.....	18
b. Aire de répartition géographique de l'espèce <i>Pistacia Lentiscus</i>	19
3) Exigences écologiques :.....	21
4) Composition chimique du pistachier :.....	22
5) Importance de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	23
i. Intérêt fourragère :.....	23
ii. Intérêt écologique et environnemental	23
iii. Intérêt économique :.....	23
6) Effets biologiques et pharmacologiques :	25
II. Approches d'évaluation de la variabilité génétique des ressources phyto-génétiques :.....	28
1) Les marqueurs morphologiques :.....	28
2) Les marqueurs biochimiques :.....	29
3) Les marqueurs moléculaires.....	30
i. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....	31
ii. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)	32
iii. AFLP (Amplified fragment length polymorphism).....	32
iv. SNP (Single Nucleotide Polymorphism).....	33
v. SSR ou Microsatellites (Simple Sequence Repeats).....	33
vi. ISSR ou Inter-microsatellites (Inter simple sequence repeat).....	34
CHAPITRE 2: CARACTERISATION ET ANALYSE DE LA VARIABILITE POMO-MORPHOLOGIE DU LENTISQUE.....	36
I. Etude de la variabilité morpho-pomologique de <i>Pistacia lentiscus</i> :	37
1) Matériel végétal et populations étudiées (<i>Pistacia lentisque</i> L) :	37
2) Traits morphologiques et pomologiques considérés :	39

i. Traits morphologiques :.....	39
3) Traits pomologique.....	40
4) Analyse des données :	42
II. Résultats de l'étude de la variabilité morpho-pomologique de Pistacia lentiscus :.....	42
1) Analyses de la variance :.....	42
2) Comparaison des moyennes :.....	43
3) Association entre caractères :	48
4) Analyses multivariées :	50
i. Analyse en composantes principale (ACP):	50
ii. Dendrogramme de classification :	50
5) DISCUSSION ET CONCLUSION	51
CHAPITRE 3: CARACTERISATION BIOCHIMIQUE DES FEUILLES DU LENTISQUE.....	55
I. Matériel végétal :.....	56
II. Caractérisation biochimiques des extraits des feuilles :	56
1) Détermination de la matière sèche (Humidité) :.....	56
i. Principe :	56
ii. Expression des résultats :	56
2) Teneur en cendre :.....	56
3) Teneur en matière organique :.....	57
III. Détermination quantitative des métabolites primaires (Paramètres nutritionnels) :	57
1) Détermination de la teneur en matière grasse :	57
2) Dosage des sucres totaux :	58
3) Dosage des protéines brutes : (Kjeldahl, 1883) :.....	58
4) Teneur en fibres.....	59
5) Estimation de la teneur en carbohydrates	60
6) Estimation de la valeur énergétique en kcal	60
7) Analyses statistiques.....	60
IV. RESULTATS ET DISCUSSION :.....	60
1) Etude des paramètres biochimiques pris séparément :.....	60
a. Teneur en matière sèche et humidité.....	60
b. Teneur en cendres.....	61
c. Teneur en matière organique.....	61
d. Teneur en matière grasse total	61
e. Teneur en fibres brute	62
f. Teneur en protéines brutes :	62
g. Teneur en sucre total :	62

h. Teneur en matière azotée totale :.....	62
i. Teneur en valeur énergétique	63
2) Etude multivariée des paramètres biochimiques :.....	65
i. Matrice de corrélation.....	65
3) Analyse des composantes principales.....	65
4) Classification hiérarchique ascendante sur la base des variables biochimiques :	66
Conclusion.....	70
Chapitre 4 : ANALYSE DE LA VARIABILITE ET LA STRUCTURE GENETIQUE DES POPULATION NATURELLES DU LENTISQUE VIA LES MARQUEURS MOLECULAIRES ISSRs	71
I. Matériel et méthode :	72
1) Matériel végétal :.....	72
2) Extraction d'ADN :	72
3) Estimation de la quantité d'ADN :	73
4) Estimation de la pureté d'ADN	73
5) Estimation de l'intégrité d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose.....	74
6) Procédures d'amplification.....	74
i. Mélange réactionnel.....	74
ii. Choix des amorces.....	74
iii. Optimisation du programme d'amplification de l'ISSR	75
II. Analyse des données.....	77
III. Informatisée les marqueurs.....	77
1) Pourcentage de bandes polymorphes (PBP)	77
2) Contenu informationnel du polymorphisme (PIC)	78
3) Pouvoir résolutif (Rp).....	78
4) Rapport de multiplexe efficace (EMR).....	78
5) Indice du marqueur (MI)	78
IV. Analyse de la diversité génétique du lentisque marocain.....	79
1) Indice de la diversité de Nei	79
2) Flux du gène (Nm).....	79
3) Indice de diversité de Shannon (I)	79
4) Distances génétiques et établissement des relations génétiques.	80
5) Test de corrélation de Mantel	80
6) Analyse de la structure génétique des populations du lentisque marocain étudiées.	80
V. Résultats et discussion	81
1) Quantification et qualité d'ADN extrait.....	81
2) Polymorphisme des marqueurs ISSR.....	82

3) Diversité génétique des populations.....	87
4) Analyse de la variance moléculaire	88
5) Relation et structure génétique des populations.....	90
6) CONCLUSION :	98
DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE	99
Perspectives du travail	102
References	103

Liste des tableaux

Tableau 1 : Sections et taxons reconnus par les principales études taxonomiques du genre Pistacia	16
Tableau 3 Activités biologiques et pharmacologiques de Pistacia lentiscus	26
Tableau 4 Situation géographique et climatique des onze population.....	38
Tableau 5 Notations des caractères qualitatifs	41
Tableau 6 L'analyse de la variance à trois facteurs	45
Tableau 7 Résultat de la statistique descriptive des caractères mesurés chez 11 populations de Pistacia lentisque.....	47
Tableau 9 Valeurs moyennes et statistiques descriptives des paramètres biochimiques primaire des feuilles en %MS.....	64
Tableau 10 Coefficient de corrélation de Pearson de l'ensemble des paramètres biochimiques analysés.....	67
Tableau 11 Le mélange réactionnel de la réaction PCR.....	75
Tableau 12 Caractéristiques des amorces ISSR utilisées.....	75
Tableau 13 Paramètres de la variation génétique révélé par les 13 amorces ISSR.....	86
Tableau 14 paramètre d'estimation de la diversité génétique entre individus.....	87
Tableau 15 Analyse de la variance moléculaire et F- statistique entre les populations et les groupes géographiques et bioclimatiques.....	89
Tableau 16 Indices des FST spécifiques aux populations étudiées	89
Tableau 17 Matrice de distances génétiques entre paire de populations calculée selon la formule de Nei (au-dessous de la diagonale) et géographiques en Km (au-dessus de la diagonale)	91

Listes des figures

Figure 1 Pistacia lentiscus : a. fleurs, b. feuilles, c. fruits, d. résine ou mastic gum.	19
Figure 2 Distribution Géographique actuelle de l'espèce Pistacia lentiscus (L.) (d'après Al-Saghir modifié par W. Bouta 2021) ;.....	20
Figure 4 Répartition géographique de différentes stations d'échantillonnage du pistachier lentisque au Maroc	37
Figure 5 Forme de la foliole terminale	39
Figure 6 Longueur, largeur des feuilles, Longueur et largeur de la foliole terminale.....	39
Figure 7 Forme l'apex de la foliole terminale	39
Figure 8 Forme de la base de la foliole terminale	40
Figure 9 Longueurs et largeurs du fruit	40
Figure 10 Forme du fruit.....	40
Figure 11 Classification hiérarchique de onze populations de Pistacia Lentiscus, calculée à partir de vingt-quatre caractères morpho-pomologique	53
Figure 12 Représentation graphique des populations dans le plan 1-2 d'une analyse en composantes principales.....	54
Figure 13 Dendrogramme généré par la méthode Ward de l'analyse biochimique des onze populations marocaines du lentisque	68
Figure 14 Analyse en composantes principales des onze populations marocaines du lentisque selon les différents paramètres biochimique	69
Figure 15 extraction et purification de l'ADN des plantes.....	73
Figure 16 Photo a: Profil d'électrophorèse des 12 répétitions après amplification par PCR à gradient; Photo b: gradient de température en (°C) affiché par le thermocycleur.	76
Figure 17 Caractéristiques du programme utilisé dans l'amplification ISSR de l'ADN	77
Figure 18 : Profil électrophorétique d'ADN extraite sur gel d'agarose 0.8%.	82
Figure 19 Profil électrophorétique d'ADN des 11 populations (55 individus) amplifié par l'amorce UBC807.	83
Figure 20 Profil électrophorétique d'ADN des 11 populations (55 individus) amplifié par l'amorce UBC827. M : marqueur de poids moléculaire	83
Figure 21 Dendrogramme montrant les relations génétiques entre 55 individus de Pistachier.....	93
Figure 22 Représentation graphique	96
Figure 23 Regroupement génétique des populations de lentisque obtenu par l'analyse STRUCTURE.....	97

Liste des abreviations

ACP: Analyse en Composantes Principals

ADN: Acide Désoxyribonucléique

AFLP: Amplified Fragment of Length Polymorphism

AMOVA: Analyse de la Variance Moléculaire

ANOVA: Analyse de la Variance

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

ARNr: ARN ribosomal

BET: Bromure d'éthidium dNTP 3' désoxyribonucléoside 5' triphosphate

DO: Densité Optique

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EDTA: Acide éthylène diamine tétra-acétique

FAO: Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

FAOSTAT: Food and Agriculture Organization Statistic

IBPGR: The International Board for Plant Genetic Resources

INRA: Institut National de la Recherche Agronomique

ISSR: Inter Simple Sequence Repeat

IST: Internal Transcribed Spacer K Nombre de population

Kb/ Pb: Kilobases/ paire de bases

ha/Km/m/cm/mm: Hectare /kilomètre/mètre/centimètre/millimètre

LSD: Différence Significative Minimale

M/mM/ μ M/ N: Molaire/milli molaire/micromolaire/ normalité

ml/ μ l: Millilitre/microlitre

PCR: Polymerase Chain Reaction PH Potentiel d'hydrogène

RAPD: Random Amplified Polymorphic DANN

RFLP: Restriction Fragment of Length Polymorphism

SAS: Statistical Analysis System

SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms

SSR: Single Sequence Repeat

Ta/ Tm: Annealing Temperature/ Melting Temperature

Taq: Thermophilus aquaticus

t/g/mg/ng Tonne/: gramme/milligramme/nanogramme

TBE: Tampon Tris - Borate- EDTA

TE: Tampon de resuspension Tpm Tour par minute

U / V: Unité / Voltes

UPGMA: Unweighted pair group method with arithmetic mean

UPOV: Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales

Glossaire

-A-

Amande : graine contenue dans un noyau.

Apex : est le terme botanique pour désigner l'extrémité d'un organe, ici, en l'occurrence, de la feuille. C'est, autrement dit, le sommet de la feuille.

Apex aigu : Feuille dont le sommet du limbe forme un angle aigu.

Apex obtus : Feuille dont le sommet du limbe forme un angle obtus.

Apex arrondi : Feuille dont le sommet du limbe forme un demi-cercle.

Apex atténué : Indique que le limbe est insensiblement aminci vers son sommet.

Apical : se dit de ce qui est situé à l'apex.

-B-

Baie : fruit charnu contenant une ou plusieurs graines.

Base aigüe : Feuille dont la base du limbe forme un angle aigu.

Base obtuse : Feuille dont la base du limbe forme un angle obtus.

Base arrondie : Feuille dont la base du limbe forme un demi-cercle.

Base atténuée : Indique que le limbe est insensiblement aminci vers sa base.

Base tronquée : Indique que le limbe se termine à la base quasiment à l'horizontale.

Base auriculée : Feuille dont la base du limbe a la forme d'oreilles. Exemple : *Quercus robur*.

Base cunéiforme : Feuille dont la base du limbe est en forme de coin. En fait, très peu de différence par rapport à la base aigüe évoquée ci-dessus, sauf que l'élargissement dans ce cas va jusqu'au sommet de la feuille, comme un triangle.

Base oblique : Feuille dont la base du limbe est dissymétrique, l'angle avec le pétiole n'étant pas le même de chaque côté. Exemple : *Epipremnum aureum* 'Exotica'.

Base asymétrique ou irrégulière : feuille dont la base du limbe présente deux côtés différents. Exemple : feuille de *Begonia*. ou d'orme (*Ulmus*).

-C-

Caducue (feuille) : feuille qui se renouvelle chaque année.

-E-

Écorce : enveloppe coriace de certains organes végétaux (troncs, branches, certains fruits).

Ecosystème : sous ensemble de la biosphère constituée d'êtres vivants (faune, flore) et du milieu dans lequel ils vivent. Cela inclut les relations entre les êtres vivants et ce milieu ainsi que les relations entre les différents êtres vivants. Exemples : la forêt de chêne en climat tempéré, une mare, la haute mer, une côte rocheuse, la steppe.

Espèce : ensemble des êtres vivants descendant les uns des autres ou susceptibles de se reproduire entre eux et d'avoir des descendants interféconds.

-F-

Feuille : organe caractéristique des plantes à fleur dans lequel se produit la photosynthèse. Généralement, les feuilles sont vertes car elles contiennent la chlorophylle. Les feuilles des arbres peuvent avoir une forme aplatie (chez les feuillus) offrant une grande surface d'exposition à la lumière mais elles peuvent aussi avoir la forme d'aiguilles (chez les conifères).

Feuille entière : comme indiqué déjà dans l'article précédent, une feuille entière n'a aucune découpe ni saillie. La bordure du limbe est donc tout à fait régulière et lisse. Exemple : *Vaccinium parvifolium*.

Feuille dentée : feuille dont le limbe est bordé de dents plus ou moins larges, à angle aigu. Exemple : le rosier, l'églantier (*Rosa canina*). Si les dents ont la forme de dents de scie, on dit que le bord est serraté. Et si les dents de scie sont très fines, on dit que le bord est serrulé.

Feuille crénelée ou festonnée : Une feuille est crénelée lorsque le limbe est bordé de dents larges, obtuses et arrondies. Exemple : *Viola sororia*.

Feuille lobée : feuille dont le limbe est découpé en échancrures, obtuses ou arrondies, n'atteignant pas la moitié du demi-limbe. Exemple : *Ajania pacifica*.

Feuille ondulée : Feuille dont le limbe forme sur ses bords des vagues plus ou moins profondes. Exemple : *Asplenium scolopendrium*.

Feuille denticulée : comme la feuille dentée, mais avec des dents plus fines. Exemple : *Doodia media*.

Feuille épineuse : feuille dont le limbe est bordé d'épines. Exemple : la feuille de houx (*Ilex aquifolium*).

Foliole (= pinnule) : chaque division du limbe d'une feuille composée.

Fruit : organe se formant par la transformation de l'ovaire de la fleur après la fécondation et contenant les graines. La notion botanique de fruit ne doit pas être assimilée à la notion de fruit du langage courant.

-G-

Gene : unité d'information génétique. Les gènes sont constitués d'ADN (acide désoxyribonucléique) et sont alignés sur les chromosomes. Le nombre de gènes est caractéristique de chaque espèce.

Graine : organe caractéristique des plantes à fleur résultant de la reproduction sexuée. Elle se forme par développement de l'ovule à la suite de la fécondation de la fleur par un grain de pollen. Une graine est constituée d'une plantule enveloppée par un tégument (la plantule est l'embryon muni de ses cotylédons). Les graines constituent à la fois des formes de résistance, notamment en raison de leur état de déshydratation poussée, et de dissémination de l'espèce.

-H-

Habitat : milieu de vie d'une espèce vivante.

-I-

Inflorescence : mode particulier de regroupement des fleurs chez certaines plantes.

-L-

Lancéolées (feuilles) : en forme de fer de lance.

-P-

Péricarpe : paroi du fruit ou enveloppe du fruit

Pétale : un des organes (ou pièces florales), souvent de couleur vive, qui constituent la fleur.

Plante : on a longtemps défini les plantes comme des végétaux chlorophylliens présentant des organes différenciés tels que des feuilles, par opposition aux champignons, dépourvus de chlorophylle et par opposition aux algues, dépourvues d'organes différenciés. Aujourd'hui, la classification phylogénétique considère comme des plantes tous les végétaux qui ont en commun la présence de chlorophylles a et b, la capacité à stocker les produits de la photosynthèse sous forme d'amidon et dont les cellules sont pourvues d'une paroi cellulosique. Contrairement à la classification ancienne, ceci inclut notamment les algues vertes. Les autres végétaux chlorophylliens qualifient de plantes, et qui correspondent à l'ancienne acception, constituent le groupe des embryophytes (plantes issues d'un embryon) qui regroupe les hépatiques, les mousses, les fougères, les prêles et les plantes à graines.

-R-

Rachis :(un) - chez les angiospermes, axe principal portant les folioles et paraissant prolonger le pétiole sur une feuille composée-pennée ; chez les ptéridophytes, axe portant les pennes.

Racine : organe généralement souterrain assurant l'approvisionnement des plantes en eau et en sels minéraux, leur fixation dans le sol, et parfois l'accumulation de réserves nutritives.

-S-

Sépale : pièce la plus externe des fleurs, généralement de couleur verte.

-V-

Vivace : se dit d'une plante qui vit plusieurs années par opposition aux plantes annuelles (cycle d'un an) et bisannuelles (cycle de deux ans).

-X-

Xérophile : plante aimant la sècheresse.

Xérophyte : plante adaptée aux milieux très secs.

Resumé :

Le présent travail constitue une contribution de la mise en valeur du potentiel des techniques de marquage génétique à l'aide des marqueurs pomomorphologique, caractérisation biochimique et ISSR pour la caractérisation de la diversité génétique du lentisque au Maroc vue que ces résultats sont uniques, à nos jours, aucune étude n'est disponible pour les populations marocaines.

✓ Pour la caractérisation pomomorphologique des populations spontanées étudiées à l'aide des descripteurs internationaux permettant ainsi leur identification, la recherche des marqueurs les plus informatifs et l'analyse des relations phylogénétiques entre les populations et avec les sites d'origines. Les 11 populations analysées à l'aide de 24 caractères pomomorphologique, ont permis d'identifier : L'analyse de la variance ainsi que la comparaison des moyennes des caractères morpho-pomologique étudiés ont révélé une diversité importante à l'intérieur et entre les différentes provenances correspondant à des bioclimats différents ($P < 0.001$). La population de M'ritt montre une longueur des feuilles (7,80 cm) plus élevée par rapport aux autres populations et la plus petite et enregistrée chez la population de Lkbab (5,46 cm), tandis que, ce caractère a une corrélation positive significativement avec la longueur de l'amande ($r = 0.46^{***}$). L'analyse de la composante principale permis, par la suite, la séparation de ces populations en quatre groupes malgré leur rapprochement géographique.

✓ Pour la caractérisation biochimique des populations étudiées en se basant sur le dosage de quelques paramètres biochimiques qui nous permet l'identification et la recherche des marqueurs les plus informatifs et l'analyse des relations phylogénétiques entre les populations et avec les sites d'origines. Les 11 populations analysées à l'aide de 11 caractères biochimique, ont permis de conclure : Les résultats de l'analyse de la variance ont montré l'existence d'une variabilité significative ($p < 0,05$) entre les populations pour la teneur en sucre totaux, en teneur en matière sèche et en teneur en fibres. Une corrélation positivement significative a été détectée entre matière organique (MO%) matière sèche (MS%) aussi bien la teneur en azote total et la valeur énergétique ($r = 0.92$ et 0.962). Par contre, des corrélations négativement significatives ont été enregistrées entre la matière sèche et la matière minérale, et la teneur en matière grasse et les carbohydrate ($r = -0.217, -0.379$).

✓ Pour l'identification moléculaire des populations étudiées en se basant sur des marqueurs moléculaire ISSRs qui nous permet l'identification et la recherche des marqueurs les plus informatifs et l'analyse des relations phylogénétiques entre les populations et avec les sites d'origines. Les 11 populations analysées à l'aide de 13 amorces, ont permis de conclure : L'utilisation de treize amorces a produit 121 marqueurs dont 110 sont polymorphes qui correspondent à un pourcentage de polymorphisme de 91,21 %. Les valeurs moyennes du PIC, RP, I et Ht ont été respectivement de 0,79 ; 4,89 ; 0,47 et 0,31. Ceci indique d'une part, que les marqueurs ISSRs utilisés représentent un outil efficace et important pour l'analyse génétique du Pistachier lentisque et d'autre part, l'existence d'une grande variabilité génétique chez le pistachier lentisque. L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a montré que la majeure part de la variabilité génétique se trouve au niveau intra population (57,24%). Les populations étudiées se sont montrées très largement différenciées ($F_{ST} = 0,42$) en concordance avec un flux de gènes très restreint entre elles ($N_{em} = 0,42$). L'AMOVA hiérarchique a montré un faible pourcentage entre les groupes géographiques (3,76%) et bioclimatiques (-0,94%) formés par 11 populations.

Mots clés : lentisque, variabilité morpho-pomologique, paramètres biochimiques, marqueur ISSR, polymorphisme, différenciation génétique.

Abstract:

This work is a contribution to this program through the exploitation of the potential of genetic marking techniques using pomological, morphological, biochemical characterization, and ISSRs for characterization of the genetic diversity of lentisk in Morocco since these results are unique, today, no studies are available for Moroccan populations. For the pomological-morphological characterization of spontaneous populations studied using international descriptors allowing their identification, the search for the most informative markers, and the analysis of phylogenetic relationships between populations and with sites of origin. The 11 populations analyzed using 24 pomological-morphological characters, made it possible to identify: Analysis of the variance and comparison of the means of the morpho-pomological traits studied revealed a significant diversity within and between the different origins corresponding to different bioclimates (P 0.001). The M'irt population shows a leaf length (7.80 cm) higher than other populations and the smallest and recorded in the Lkbab population (5.46 cm), while, this character has a significantly positive correlation with the languor of the almond ($r = 0.46^{***}$). Analysis of the main component allowed, subsequently, the separation of these populations into four groups despite their geographical closeness. The morpho-pomological variability of this species in Morocco may be due to ecological conditions, and the physiological mechanisms involved. The biochemical characterization of the studied populations based on the assay of some biochemical parameters allows us the identification and research of the most informative markers and the analysis of phylogenetic relationships between populations and with origin sites. The 11 populations analyzed using 11 biochemical traits concluded: The results of the variance analysis showed significant variability ($p < 0.05$) between populations for total sugar content, dry matter content, and fiber content. A positively significant correlation was detected between organic matter (MO%) dry matter (MS%) and total nitrogen content and energy value ($r = 0.92$ and 0.962). Conversely, negatively significant correlations were recorded between dry matter and mineral matter, and fat content and carbohydrate ($r = -0.217$, -0.379). The results of the principal component analysis showed the dispersion of the 11 populations studied into 4 groups regardless of their geographical proximity. This grouping was confirmed by the hierarchical classification (dendrogram). The molecular identification of the studied populations based on ISSRs molecular markers allows us to identify and search for the most informative markers and the analysis of phylogenetic relationships between populations and sites of origin. The 11 populations analyzed using 13 primers, led to the conclusion: the use of thirteen primers produced 121 markers, of which 110 are polymorphic, corresponding to a polymorphic percentage of 91.21%. The number of polymorphic markers ranges from five (UBC807) to twelve (UBC868) with an average of eight markers per primer. The mean values of the PIC, RP, I, and Ht were 0.79; 4.89; 0.47, and 0.31, respectively. This indicates, on the one hand, that the ISSRs markers used to represent an effective and important tool for the genetic analysis of the Pistachio Lentisk and, on the other hand, the existence of great genetic variability in the Pistachio Lentisk. Molecular variance analysis (AMOVA) showed that the majority of genetic variability occurs at the intra-population level (57.24%). The populations studied were highly differentiated (TSF=0.42) following a very restricted gene flow between them (Nem=0.42). The hierarchical AMOVA showed a small percentage between the geographical (3.76%) and bioclimatic (-0.94%) groups formed by 11 populations. The genetic structure of the populations in five groups obtained from Neighbor-joining and Structure analyses does not correspond to their bioclimates and geographical origin.

Keywords : lentisque, variabilité morpho-pomologique, paramètres biochimiques, marqueur ISSR, polymorphisme, différentiation

ملخص

بههدف دراسة التنوع الوراثي داخل وبين ساكنات الفستق المصطكي *Pistacia lentiscus* المغربي، تم اجراء دراسة على احدى عشر ساكنة طبيعية من المغرب، وذلك من خلال إعتبار 24 صفة مورفولوجية وبومولوجية. اظهر تحليل المغايرة والمقارنة بين معدلات الخصائص المرفولوجية المدروسة تنوع كبير بين و داخل الساكنات. وهذا يدل على وجود تباين وراثي مهم ضمن نوع الفستق المصطكي. مما يفتح المجال أمام اختيار نمط وراثي ذو صفات مرغوب فيها. وقد مكنا تحليل المكونات الرئيسية من فصل الساكنات الى أربع مجموعات مختلفة بغض النظر عن أصلها الجغرافي. الصفات الأكثر تميزا بين الساكنات المدروسة هي شكل الفاكهة، طول الورقة، عرض الفاكهة، سمك قشرة الفاكهة، طول النواة وعدد الوريقات.

فيما يتعلق بالتحليل البيوكمبائي، كشفت عملية معايرة 11 عنصر بيوكيميائي اصفر عن وجود تباين كبير بين الوصول، خاصة بالنسبة للدهون، البروتينات، الكربوهيدرات، السرعة الحرارية، الألياف

تم الإعتماد ايضا على الواسمات الجزيئية ISSRs . أدى إستعمال 13 ممهدات إلى الحصول على 121 واسمة منها 110 متباينة مظهريا أي مايقابل 91,21%. يتراوح عدد الواسمات ما بين خمسة (UBC807) إلى اثنا عشرة (UBC868) بمتوسط ثماني واسمات لكل ممهدة، كما أن القيم المسجلة لكل من PIC و RP و Ht و I كانت على التوالي هي:

0,31 ; 0,47 ; 4,89 ; 0,79 مما يدل على أن الواسمات المستعملة تمثل أداة فعالة و مهمة للتحليل الوراثي للفستق المصطكي و وجود تباين وراثي عند هذا النوع.

أظهر تحليل المغايرة الوراثية (AMOVA) أن معظم التباين الوراثي يوجد داخل الساكنات المدروسة (57,24%) و بأن هذه الأخيرة جد متباينة وراثيا (FST=0,42) الشيء الذي يوافق القيمة المسجلة للتدفق الجيني (Nem=0,42)، كما أن التصنيف التسلسلي (AMOVA) بيّن وجود نسبة تباين ضعيفة بين المجموعات الجغرافية (3,76%) و الحيمناخية (-0,94%) التي شكلتها الساكنات المدروسة.

بينت المسافة الوراثية بين الساكنات أن ساكنة إسكسي و تفردين هما الأقرب وراثيا (0,079)، في حين أن المسافة الوراثية الموجودة بين أيت يحيى أو سعد و بين الويدان هي الأكثر تباعدا (0,380). علاوة على ذلك فإن إختبار Mantel بين عدم وجود ترابط بين المسافات الوراثية و الجغرافية (r = 0.074, P = 0.628; t= 0,328) إنطلاقا من تحليلات Structure و Neighbour-joining تم توزيع الساكنات المدروسة إلى خمس مجموعات بغض النظر عن أصلها الجغرافي و الحيمناخي.

الكلمات المفاتيح: الفستق المصطكي، ساكنات طبيعية، تباين وراثي، تدفق جيني مورفولوجية وبومولوجية، لتحليل البيوكمبائي، ISSR. التمايز الجيني

INTRODUCTION GENERALE

« ... Alléger les pressions sur les ressources naturelles, c'est préserver l'équilibre des écosystèmes, objectif pour la réalisation duquel notre pays est résolument engagé à travers la restauration de nos ressources forestières et de la diversité biologique, et la lutte contre la dégradation des sols, les érosions, l'ensablement et la désertification, de sorte à conserver et développer nos capacités de production et de renouvellement de nos ressources naturelles. ». Extrait du Discours de Sa Majesté le Roi Mohammed VI, que Dieu le Glorifie, adressé aux participants à la rencontre internationale sur les changements climatiques du 16 octobre 2009.

Dans cette vision et sous les directives de Sa Majesté le Roi, la stratégie nationale du Maroc en matière de conservation et d'utilisation durable de la biodiversité tient compte des besoins des populations en matière de biodiversité, à satisfaire, mais, aussi de l'état altéré de nombreuses de nos ressources biologiques ainsi que de la nécessité de faire de la biodiversité un outil de développement socio-économique et humain privilégié.

Les ressources phylogénétiques forestières sont les fondements biologiques de la stabilité écologique, socio-économique et alimentaire du biotope planétaire. Elles englobent un matériel génétique varié constitué par des espèces naturels et d'autres cultivées qui assure pour l'homme de l'alimentation, les phyto-médicaments, du fourrage pour le bétail, de l'énergie et de multiples autres produits. Parmi ces ressources phylogénétiques, seulement quelques une sont actuellement exploitées par l'activité humaine. Par contre, de nombreuses espèces locales sont maintenant sous-utilisées ou négligées (FAO 2016). En effet, plusieurs programmes d'amélioration et de conservation des ressources phylogénétiques ont été entrepris dans de nombreuses régions du monde. La région méditerranéenne abrite une diversité biologique de première importance. La plupart des espèces de la flore naturels, en Afrique du Nord notamment, est résistante et bien adaptée à la sécheresse et à la salinité et constitue une part non négligeable des ressources génétiques locales à valeurs pastorale, fourragère, alimentaire, aromatique et médicinale (Ohba et Amirouche 2003).

Le Maroc présente une richesse floristique importante. Sa flore est estimée à 4500 taxons avec 920 genres et 130 familles (Fennane 2004). Les taxons endémiques stricts sont estimés à 951, soit 21 % des plantes vasculaires marocaines endémique. Les principaux foyers d'endémisme sont situés dans les hauts sommets montagneux. Néanmoins cette

richesse a subit toutefois une menace permanente de plusieurs facteurs et surtout de l'activité de l'homme (franchimont 2001).

Le présent travail porte sur l'une des espèces forestières spontanée du Maroc, qui est le mastique commun (*Pistacia lentiscus* L.). Le lentisque est à la fois un arbre forestier industriel producteur du mastic d'une grande importance économique, du bois et des autres produits à grand intérêt économique et sanitaire (les feuilles, les fruits, huiles essentiels et distillats).

Au Maroc, le mastique présente un véritable intérêt pour le développement d'une culture durable surtout en zones montagneuses, il peut être une source de revenu vital pour les riverains. Cependant, il est négligé par les programmes de recherche et d'amélioration. D'autres part, et malgré l'étendue de la variabilité phénotypique observée chez cette espèce, Il est donc indispensable d'établir une stratégie visant la conservation et l'amélioration génétique des ressources locales de cette espèce.

Tenant compte de ces considérations, nous nous sommes intéressés à l'analyse de la diversité des ressources génétiques locales du lentisque marocain afin de fournir des éléments d'aide à la décision pour la gestion, la conservation, l'amélioration génétique et l'utilisation durable de ce patrimoine génétique. Notre intérêt a porté sur une évaluation adéquate des populations marocaines du lentisque à l'aide d'une caractérisation phénotypique, biochimique et moléculaire.

Cette étude a pour objectif d'une part d'identifier des génotypes performants ayant des caractères recherchés par les sélectionneurs, les agriculteurs et les consommateurs et d'autre part, d'explorer la diversité génétique et le typage moléculaire du germoplasme local de cette espèce.

En plus, elle a pour but la conservation et l'amélioration des ressources génétiques de cette espèce, afin de controverser l'une des plus grandes menaces de l'environnement, l'érosion génétique (Watts Michael, et al. 2008)

Le présent travail constitue la première approche de l'évaluation de la diversité génétique des populations spontanées marocaines du lentisque à l'aide des marqueurs morphologique et moléculaires.

Le premier chapitre est consacré à une analyse bibliographique assez détaillée sur le lentisque et l'état actuel des travaux de recherche sur les ressources génétiques de cette espèce.

Dans le deuxième chapitre, nous présenterons les résultats obtenus sur la caractérisation phénotypique des populations du lentisque, basés sur des caractères qualitatifs et quantitatifs liés aux feuilles et aux fruits.

Le troisième chapitre concernera une caractérisation biochimique des populations du lentisque.

Dans le quatrième chapitre, nous analyserons la diversité génétique des populations du lentisque à l'aide des marqueurs moléculaires ISSR.

Chapitre 1 : sythèse bibliographique

I. Botanique, taxonomie et description du lentisque :

1) Présentation du genre *Pistacia* :

Le genre *Pistacia* appartient à la famille des Anacardiaceae (Anacardiaceae L.), distribué surtout dans l'Amérique, Afrique, Asie et aux régions tempérées d'Europe et d'Eurasie (Heywood 1996 ; Judd et al. 2002 ; Brown 2010 ; Martin 2014). C'est un arbuste que l'on trouve dans les sites arides de l'Asie et dans la région méditerranéenne de l'Europe et d'Afrique, jusqu'aux Canaries (Bellakhdar, 2003). Ce genre regroupe différentes formes de plantes spécialement les arbres et les arbustes (Roussou, 2018). Selon martin (2014), la famille des Anacardiaceae comprend à peu près 875 espèces regroupées dans 70 genres. Le genre *pistacia* a été identifié par Linné en 1737 en précisant six espèces de *Pistacia* : *P. lentiscus*, *P. narbonensis*, *P. simaruba*, *P. terebinthus*, *P. trifolia*, et *P. vera* (Mohannad & Duncan, 2012). Engler en 1883, a spécifié huit espèces qui sont incluses dans ce genre (*P. lentiscus*, *P. khinjuk*, *P. mutica*, *P. mexicana*, *P. terebinthus*, *P. chinensis*, *P. vera*, et *P. atlantica*) (Engler, 1883). Mais en se basant sur les différents caractères morphologiques, Zohary (1952) a ajouté *P. palaestina* Boiss, *P. texana* Swingle et *P. weinmannifolia* à celui déjà défini par Engler. Il a séparé ces 11 espèces en 4 sections : 1. Section *Lentiscella* Zohary: *P. Mexicana* HBK et *P. texana* Swingle. 2. Section *Lentiscus* Zohary: *P. lentiscus* L et *P. weinmannifolia* Poisson. 3. Section *Butmela* Zohary: *P. atlantica* Desf et *P. mutica* Fischer & C.A. Meyer. 4. Section *Terebinthus* Zohary: *P. terebinthus* L, *P. palaestina* Boiss, *P. khinjuk* Stocks, *P. vera* L et *P. chinensis* Burge (Zohary, 1952).

Dernièrement, l'utilisation des paramètres morphologiques dans la détermination des espèces devient moins effective, ce qui conduit à l'utilisation des marqueurs moléculaires. Une étude phylogénétique du genre *Pistacia* a été faite par Yi et al. (2008). Dans cette étude, les 11 espèces reconnues par Zohary (1952), une espèce hybride : *P. saportae* et autres espèces d'autres genres des Anacardiaceae ont été testées en utilisant 5 marqueurs : séquences de l'ITS ribosomiques nucléaires, le troisième intron du gène de la nitrate réductase nucléaire (*NIA-i3*) et les plastes *ndhF*, *trnL-F* et *trnC-trnD*. Les résultats ont montré que le genre *Pistacia* L. est d'une origine monophylétique et il est divisé en deux sections : *Terebinthus* et *Lentiscus*.

Récemment, les caractéristiques morphologiques et moléculaires ont été combinées pour pouvoir bien comprendre les relations phylogénétiques entre les espèces. Ceci a conduit à

la proposition d'une clé d'identification à partir de la morphologie de leurs feuilles (Al-Saghir & Porter 2006 ; Al-Saghir & ibid. 2010 ; ibid. 2012). Sur la base de cette combinaison, Al-Saghir & Porter (2012) ont montré que le genre *Pistacia* comprend 9 espèces et 5 sous-espèces regroupées en deux sections selon la nature caduque (*Pistacia*) ou persistante (*Lentiscella*) des feuilles (Tableau 1).

Tableau 1 : Sections et taxons reconnus par les principales études taxonomiques du genre *Pistacia*

Classification selon Zohary 1952			
Sections		4	
Espèces		11	
Ssp/var		11	
Section Eu-Terebinthus Zoh.	Section Butmela Zoh	Section Lentiscella Zoh.	Section Eu Lentiscus Zoh.
<i>P. chinensis</i> Bunge <i>P.chinensis</i> Bunge. var. <i>falcata</i> <i>P.chinensis</i> Bunge. var. <i>integerrima</i> <i>P. khinjuk</i> Stocks <i>P.khinjuk</i> Stocks var. <i>glaberrima</i> Boiss. <i>P. khinjuk</i> Stocks var. <i>glabra</i> Engl. <i>P.khinjuk</i> Stocks var. <i>microphylla</i> Boiss. <i>P.khinjuk</i> Stocks var. <i>populifolia</i> Boiss. <i>P. palaestina</i> Boiss. <i>P. terebinthus</i> L. <i>P. vera</i> L.	<i>P. atlantica</i> Desf. <i>P. atlantica</i> var. <i>latifolia</i> DC. <i>P. atlantica</i> Desf. var. <i>kurdica</i> Zoh.	<i>P. mexicana</i> Humb., Bonp. & Kunth <i>P. texana</i> Swingle	<i>P. lentiscus</i> L. <i>P. lentiscus</i> L. var. <i>emarginata</i> Engl. <i>P. saportae</i> Burnat <i>P. saportae</i> Burnat var. <i>oxycarpa</i> Zoh. <i>P. weinmannifolia</i> Poisson <i>P. weinmannifolia</i> Poisson var. <i>malayana</i> (Henderson) Zoh.
Classification selon Yi et al. 2008			
Sections		2	

Espèces	10
Ssp/var	0
Section Terebinthus Parfitt & Badenes	Section Lentiscus Parfitt & Badenes
P. chinensis Bunge P.integerrima J.L.Stewart ex Brandis P. khinjuk Stocks P. terebinthus L. P. vera L. P. atlantica Desf.	P.mexicana Humb., Bonp. & Kunth P. texana Swingle P. lentiscus L. <i>P.weinmannifolia</i> Poiss. ex Franch
Classification selon Al-Saghir & Porter 2012	
Sections	2
Espèces	9
Ssp/var	5
Section Pistacia Zoh.	Section Lentiscella Zoh.
P. chinensis Bunge ssp. chinensis P. chinensis Bunge ssp. Falcata (Bess. ex Martinelli) Rech. f. P.chinensis Bunge ssp. Integerrima (J.L. Stewart ex Brandis) P. khinjuk Stocks P. terebinthus L. P. vera L. P. atlantica Desf. P. eurycarpa Yalt.	P.mexicana Humb., Bonp. & Kunth P. lentiscus L. ssp. lentiscus P. lentiscus ssp. emarginata (Engl.) P.weinmannifolia Poiss. ex Franch

2) Présentation et taxonomie de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

Pistacia lentiscus L., le lentisque en français, mastic tree en anglais, dherou en arabe local, Imidek ou Tidakth ou Amadagh en kabyle, est une espèce appartenant à la famille Anacardiacees. La taxonomie du *Pistacia lentiscus* d'après Linné (Linné 1753) est présentée dans le Tableau 2.

Tableau 2 Taxonomie de *Pistacia lentiscus* d'après Linné (L., 1753)

Règne	Végétales
Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous-classe	Dialypétales
Série	Disciflores
Sous-série	Diplostémones
Ordre	Térébinthales ou Sapindales
Famille	Anacardiacees
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i>

Le lentisque est un arbuste dioïque sclérophylle à feuillage persistant, de 3 à 4 m de hauteur (Zohary, 1952, Ferradji, 2011). Il se retrouve en association avec l'Oléastre, la salsepareille et le myrte dans un groupement végétal nommé «l'Oléolentisque», mais également dans les boisements clairs à pin d'Alep ou d'autres formations de garrigues basses (chêne vert) (Belfadel, 2009).

a. Description botanique :

Pistacia lentiscus est un arbuste caractérisé par une odeur résineuse forte (figure 1), des feuilles persistantes formées par 4 à 10 folioles de couleur verte foncée (figure 1,b), des fleurs aromatiques, unisexuées (figure 2,a). Les fleurs mâles sont caractérisées par une couleur rouge foncée tandis que les fleurs femelles sont de couleur vert jaunâtre. La floraison s'étale de mars à juin (Annie et Perrier, 2014). Les fleurs femelles ont un ovaire supère (au-dessus des autres pièces florales) avec un style court à 3 stigmates ; l'Inflorescence est en grappe, spiciforme, dense et courte (Mansour, 2014).

En ce qui concerne le fruit, il est une baie globuleuse, d'abord rouge et devient noire en automne quand il arrive à maturité ; l'écorce se voit brune rougeâtre sur les jeunes branches, lisse et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse

s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte. Le bois est blanc, puis jaune, puis rosé et parfois veiné de jaune (Dahmani 2015). La production de résine jaune clair (entre 4 à 5 kg par arbre) appelée 'le mastic' qui est obtenue en été par incision du tronc. La distillation de cette résine permet l'extraction d'une essence utilisée en parfumerie.

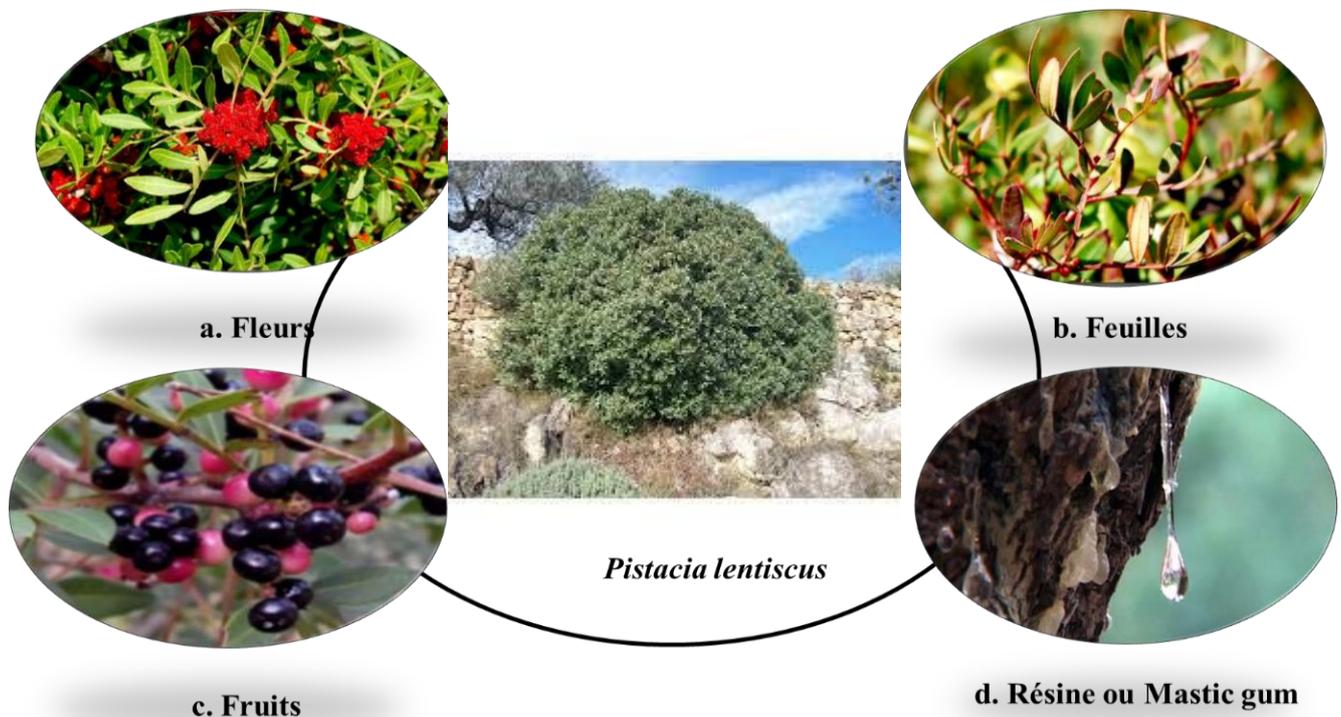


Figure 1 *Pistacia lentiscus* : a. fleurs, b. feuilles, c. fruits, d. résine ou mastic gum.

b. Aire de répartition géographique de l'espèce Pistacia Lentiscus

- Au niveau mondial

Pistacia lentiscus est une espèce sauvage, thermophile qui pousse dans les zones côtières et sub-côtières de la région méditerranéenne (Zohary, 1952 ; Lopez-Gonzalez, 2001). On la rencontre également en Europe, Asie, et en Afrique. Cette espèce est adaptée au climat semi-aride de la méditerranée et aux sols désertique et salin (Rauf et al., 2017). On la retrouve comme nous la montre la figure 2, au Maroc, Algérie, en Tunisie, Turquie, France, Espagne, Italie et Grèce et bien d'autres (Tingshuang et al., 2008).

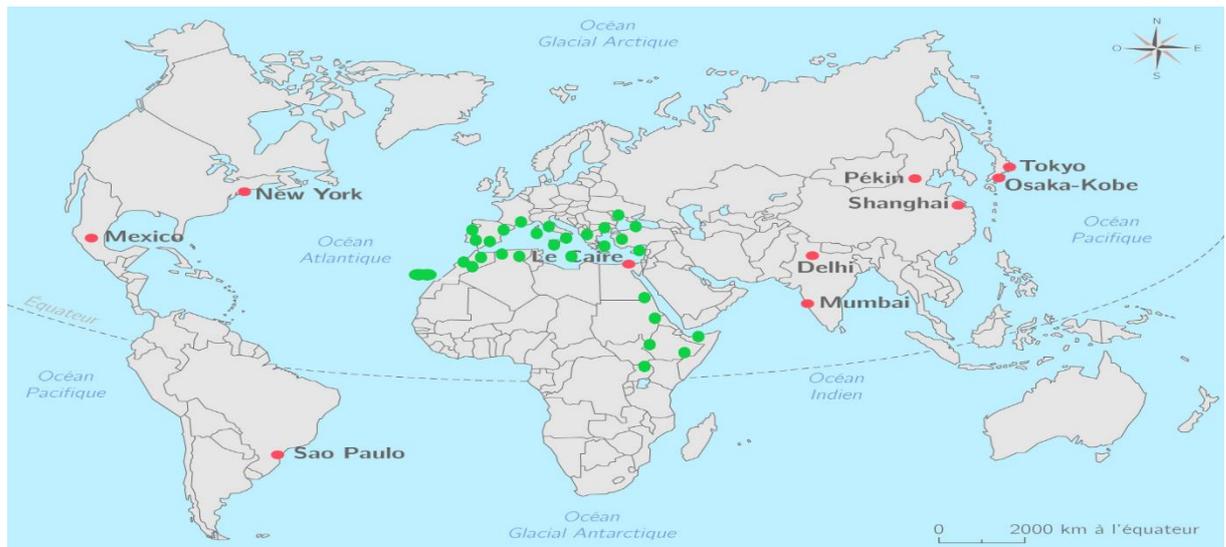


Figure 2 Distribution Géographique actuelle de l'espèce *Pistacia lentiscus* (L.) (d'après Al-Saghir modifié par W. bouta 2021) ;

- Au Maroc

Cette plante est considérée comme une espèce autochtone au Maroc. L'apparition du Lentisque dans l'étage semi-aride annonce l'humidité basse et le sol calcaire, si le sol est argilo-limoneux (Ben-Slimane), l'argile ou le calcaire si le sol est sableux siliceux (Mâmora, Temara), l'approche du fond d'un ravin (Beni-Âbid, El-Harcha), parfois aussi la chaleur (El-Harcha, El-Khatouate, etc.) (CH. SluvecE, 1961). Dans l'étage subhumide, le Lentisque se rencontre d'abord au bord de la mer, par ailleurs sur les sols riches en argile ou plus humides. Localisation : plaines et basses montagnes jusqu'à 1 600 m environ. Monte en altitude plus haut que l'Oléastre. (Benabid, 2000).

Tout le Maroc, de Tanger à l'Anti-Atlas, de la côte atlantique à l'Algérie, sauf dans les régions désertiques. Très rare dans les régions à climat aride. En montagne, il est éliminé par le froid et la neige. (Fennane et al., 2007).

3) Exigences écologiques :

Ecologie et Etages bioclimatiques : semi-aride, subhumide, dans les sous-étages chauds, tempérés et frais. En résumé, il se rencontre sous un climat ni trop froid ni trop humide. Résiste mieux au froid et à l'humidité que l'Oléastre. (T.I. et CH. S.1964, Quezel, 2000). (Figure 3).

- **Indice xérothermique** : indique le nombre de jours biologiquement secs dans une année pour un endroit donné (il s'échelonne donc entre 0 et 365). Il est issu de la formule de Gaussen. Les données intègrent non seulement les précipitations stricto sensu mais aussi la température, les brouillards, la rosée et l'état hygrométrique de l'air. En général, il est admis qu'un milieu est non aride lorsque l'indice est inférieur à 100, semi-aride entre 100 et 290, aride entre 290 et 350, et hyperaride entre 350 et 365. Pour notre lentisque il est situé de moins de 60 à 150. (Aafi et al. 2002)
- **Sol** : tous les sols, argileux, sableux (en particulier du littoral), siliceux ou calcaires ; (T.I. et CH. S.1964) Le lentisque est une espèce de basses altitudes (Montserrat-Martí et al., 1988 ; Castro-Díez et al., 1998). Elle est indifférente aux propriétés physico-chimiques du sol mais préfère des sols à faible concentration en phosphore et potassium conjugués avec des concentrations différentes en carbonates de calcium et en azote (Dogan et al., 2003). Le lentisque est considéré comme une des espèces sempervirentes la plus résistante aussi bien à la sécheresse qu'à la salinité (Barazani et al., 2003). Il est utilisé dans la lutte contre l'érosion, qui est l'un des facteurs majeurs de désertification des écosystèmes méditerranéens semi-arides (Dogan et al., 2003). Le lentisque assure aussi la protection du sol et crée les conditions favorables pour l'humification de la matière organique et l'enrichissement de ses propriétés biologiques (Díaz Barradas et Correia, 1999).
- **Types de végétation associée**

Fréquemment associé à l'Oléastre dans des formations où il constitue souvent l'élément prépondérant et souvent appelées Oléo-lentiscetum; entre dans la composition de plusieurs autres formations : callitriaie, junipéraie à *Juniperus phoenicea* (au moins sur le littoral), pinède à *Pinus halepensis*, chênaie à *Quercus coccifera*, etc. ; moins couramment associé au Chêne vert et à l'Arganier. Au sein de la subéraie, le Lentisque se mêle souvent au Chêne-liège dans l'étage subhumide, mais reste dominé ; dans l'étage semi-aride, il apparaît

en général seulement lorsque les conditions écologiques deviennent défavorables au Chêne-liège (Sauvage, 1961). Enfin, élément souvent dominant des formations du fond des ravins (Oueds non permanents) dans l'étage semi-aride. Sa dispersion indique son adaptation optimale aux conditions globales qu'offre son milieu environnant (Benmehdi, 2003).

Pistacia lentiscus est facile puis qu'il supporte à peu près tout : un sol lourd ou très drainant, peu acide à très basique, une **exposition très ensoleillée jusqu'à l'ombre claire**, une terre riche ou pauvre. Il n'est finalement limité que par sa rusticité : il supporte jusqu'à -10 °C et quelques descentes ponctuelles à -15 °C.

Le pistachier lentisque est xérophyte, **indifférent à la sécheresse et aux grandes chaleurs** ; d'ailleurs, c'est avec de longs étés chauds et secs qu'une résine de qualité est produite. Il supporte également l'exposition maritime et les vents forts.

4) Composition chimique du pistachier :

Les études phytochimiques montrent que le *Pistacia lentiscus* présente une très forte teneur en anthocyanes, leucoanthocyanes, tannins totaux, tannins galliques, flavonoïdes, glucosides et amidon. Avec une présence modérée des mucilages et une absence totale des saponosides, des sénosides, des quinones libres, des coumarines, des irridoïdes et des alcaloïdes (Arab et al., 2014).

○ Feuilles

La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L., est caractérisée par la présence de glycosides de flavonoles comme la quercétine, myricétine, lutéoline ainsi que l'isoflavone genisteine. Elles contiennent 6 à 7% de gallotannins de faible poids moléculaire, à savoir l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5-Odi- et 3,4,5-O-trigalloyl (Ferradji, 2011).

○ Fruits

L'huile extraite des fruits, eux-mêmes comestibles, s'utilise en frictions adoucissantes comme les autres huiles. Elle sert à la table, à l'éclairage et à la fabrication du savon (Fournier, 1999). Les études phytochimiques montrent que les fruits de *Pistacia lentiscus* L., présentent une très forte teneur en anthocyanes, leucoanthocyanes, tannins totaux, tannins galliques, flavonoïdes, glucosides et amidon. Avec une présence modérée des mucilages et une absence totale des saponosides, des sénosides, des quinones libres, des coumarines, des irridoïdes et des alcaloïdes (Arab et al., 2014).

○ Résine

La résine présente cinq constituants majeurs solubles dans l'éthanol : α -pinène (40%), β -pinène (1,5%), β -myrcène (9%), le limonène (1,0%), et β -caryophyllène (5%) (Abdeldjelil, 2016).

- **Huile essentielle**

Les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L., obtenues présentent un aspect liquide et limpide, elles sont de couleur jaune dégageant une odeur aromatique, très puissante et pénétrante (Arab et al., 2014).

5) Importance de *Pistacia lentiscus* L.

i. Intérêt fourragère :

Le Pistachier lentisque présente une végétation verte persistante qui fournit un apport de fourrage complémentaire au cheptel par le feuillage pendant toute l'année. La consommation de feuilles d'arbre par le bétail a été longtemps sous-estimée. Cependant, il a été établi que ce fourrage aérien procure aux animaux, pendant la saison sèche, des ressources fourragères non négligeables. Ce pâturage est accepté par les ovins et caprins (Hedi, 2015).

ii. Intérêt écologique et environnemental

Les fruits charnus du Pistachier lentisque constituent une ressource alimentaire importante pour les oiseaux frugivores dans les basses terres du sud-ouest en Espagne. La plupart des espèces dépendant en grande partie de la pulpe du fruit riche en lipides pour la nourriture (Jordano, 1989). D'autre part, l'espèce joue un rôle clé dans le fonctionnement des écosystèmes, par l'humus qu'il produit et par la protection que sa ramure accorde au sol et aux semis qui naissent à son ombre, il joue un rôle non négligeable dans la conservation et la restauration de l'habitat, et des versants montagneux (Moumen & Melhaoui, 2010). Il joue aussi un rôle dans la conservation de la flore et de la faune.

iii. Intérêt économique :

Lentisque est essentiellement utilisé pour sa résine, on se sert également de ses feuilles, de son bois et de ses fruits pour des usages alimentaires, domestiques ou médicaux (De Lanfranchi et al., 1999).

➤ **La résine** Elle a été utilisée en Europe, en dentisterie pour l'occlusion des dents cariées ; en médecine comme anti diarrhéique, antiscorbutique ou sous forme de cataplasme. Elle a été également utilisée pour faire des fumigations et pour la fabrication de vernis et de colles (Dorvault, 1928). Elle est obtenue par incision du tronc en été. Dans

l'Antiquité cette résine a été employée comme un produit cosmétique. En effet, selon Dioscoride, les femmes grecques s'en servaient de cette résine pour fixer des cils postiche sur leurs paupières. En Afrique du Nord, elle servait de parfum et de dépilatoire. Elle a été également utilisée en Orient, comme masticatoire parfumé, pour rafraîchir l'haleine et protéger les gencives. Elle a été aussi utilisée pour embaumer les cadavres (De Lanfranchi et al., 1999). De même, le mastic est connu par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (Prokopios et al. 1999; Dedoussis et al. 2004; Mahmoudi et al. 2010).

➤ **Les feuilles** du Lentisque sont utilisées pour leur propriété antiparasitaire pour lutter contre les charançons, les teignes et les puces. En Afrique du Nord, on utilisait des infusions préparées à partir de ces feuilles pour enlever l'odeur de sueur et la mauvaise haleine (BAMMOU et al, 2015). Grâce à leur richesse en tanins, les feuilles étaient utilisées pour le tannage du cuir et la laine (Lanfranchi 1999). Les feuilles sont utilisées aussi comme anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques, antipyrétiques, hépatoprotectives, expectorantes et cicatrisantes (Villar et al. 1987, Prokopios et al. 1999; Janakat & Al-Merie, 2002; Kordali et al. 2003; Paraschos et al. 2007).

➤ **Les fruits** sont principalement utilisés pour l'extraction de l'huile fixe. En Méditerranée, cette huile a de nombreuses utilisations. En effet, au Maroc l'huile des fruits de Lentisque est employée sous forme d'onguent pour soulager les douleurs dorsales et soigner les brûlures (BAMMOU et al., 2015). En Tunisie, cette huile comestible est utilisée traditionnellement par la population tunisienne dans son alimentation quotidienne en salades et pâtisseries (Trabelsi et al., 2012). Elle sert également de condiment dans le nord-ouest de la Tunisie et elle est utilisée pour le traitement de la gale, des allergies respiratoires, des rhumatismes et dans la fabrication de pilules anti-diarrhéiques (Le Floch et Nabli, 1983). En orient et en Espagne on l'utilise pour l'éclairage (Bonnier et Douin, 1934), pour la fabrication des savons ou la préparation d'une sorte de beurre, en la mélangeant avec de la pâte d'amande ou de la farine, connue pour ces propriétés aphrodisiaque (De Lanfranchi et al., 1999) Les fruits sont aussi utilisés en confiserie et pour la fabrication d'une liqueur appelée « mastiche ». Les fruits mûrs du lentisque sont très efficaces pour le traitement des maladies de l'estomac et les infections respiratoires (Boudieb et al., 2019).

➤ **L'huile de lentisque** : Une recherche ethnobotanique menée en Sardaigne, auprès de personnes qui ont gardé une connaissance de la récolte des « graines » de lentisque et de l'extraction de l'huile, a permis de reconstituer cette pratique ancestrale, aujourd'hui

disparue (François de Lanfranchi et al 1999). La période de la récolte varie de décembre à janvier, suivant le lieu et l'année. Le murissement des fruits est plus précoce dans les zones ensoleillées. Les fruits cueillis à la main sont portés à ébullition dans de l'eau pendant une demi-heure environ. Ils sont ensuite placés dans un sac de jute qu'un homme piétine pour extraire le jus. À la surface de celui-ci surnage l'huile recherchée, de couleur verte. L'huile de lentisque est généralement consommée diluée dans le thé. En Sardaigne, on le mange sur du pain « biscotte » ou du pain durci au four. Au Maroc, cette huile verte est utilisée sous forme d'onguent pour soigner les brûlures ou les douleurs dorsales (Bellakhdar, 1997). Dans les maisons, elle sert pour l'éclairage. L'huile verte peut être transformée en huile jaune en la portant à ébullition. Cette dernière est réservée à la fabrication des beignets. L'huile jaune est d'odeur intense et herbacée. Elle est utilisée pour les indications suivantes : varices et jambes lourdes, congestions et stases veineuses, hémorroïdes externes et internes, thrombophlébite. En effet, cette huile essentielle est reconnue comme décongestionnante des systèmes veineux et lymphatique. Utilisée aussi pour traiter les brûlures, asthme et toux. Le pistachier lentisque constitue un remède précieux depuis l'antiquité (BAMMOU et al, 2015). L'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus*) est utilisée contre la bronchite, l'asthme, la sinusite, l'eczéma (psoriasis et lichen plan) et les brûlures. (Gardeli et al., 2008).

Le Lentisque est même utilisé dans plusieurs parfums comme Lilaia (Bulgari), Infusion d'Iris (Prada), French Mastic (Queen B), etc.

➤ **Le bois :** Le bois du Lentisque est employé en ébénisterie, en menuiserie et comme bois de Chauffage. Les cendres obtenues à partir du bois servaient comme savon (De Lanfranchi et al., 1999).

6) Effets biologiques et pharmacologiques :

Les activités biologiques et pharmacologiques des produits issus du *Pistacia lentiscus* ont été décrites à travers plusieurs études scientifiques (Tableau 3). La majorité de ces études ont concerné la résine de la plante (ses extraits ou huiles essentielles) et à degré moindre les feuilles. En revanche très peu d'études se sont intéressées à l'huile fixe de *Pistacia lentiscus*.

Tableau 2 Activités biologiques et pharmacologiques de *Pistacia lentiscus*

	Activités biologiques	Partie utilisée	Métabolites/ Extraits	Références
<i>Pistacia lentiscus</i>	anti-oxydante	Fruits	Acide digallique	(Bhourri, et al. 2010), (Ibijbijen, et al. 2016)
			Extrait hydro-alcoolique	(MESSAOUDI et KESSBIA 2017), (Kharchoufa, et al. 2018)
		Feuilles	Huile essentielle	(Barra, et al. 2007), (AMIRA 2015) , (Kharchoufa, et al. 2018)
			Fractions aqueuses	(Atmani, et al. 2011)
		Mastic	Extrait aqueux de résine	(Sakagami, et al. 2009)
	Antimicrobienne et antivirale	Feuilles	Huile essentielle	(Djenane, et al. 2011)
			Extrait méthanolique	(Chryssavgi, et al. 2008)
		Fruits	Huile végétale	(Mezni, et al. 2015)
			Extrait phénolique	(Mezni, et al. 2015)
		Mastic liquide	Extrait aqueux de mastic	(Sakagami, et al. 2009)
	Antifongique	Feuilles	Huile essentielle	(Ismail, et al. 2013)
		Feuilles	Extraits aqueux, chloroforme, ethyl acetate et méthanol	(Kharchoufa, et al. 2018)

	Antiinflammatoire	Fruits	Huile végétale	(Khedir, et al. 2017)
			Extrait hydro-alcoolique	(Remila, et al. 2015)
	Maladies Cardiovascular	Feuilles , fruits.	Huile végétale	(Kharchoufa, et al. 2018)
	Antidiabétique	Fruits	Huile végétale	(Kharchoufa, et al. 2018), (Chaabani 2019)
			Extrait éthanolique, fractions aqueuse et organique	(Kharchoufa, et al. 2018), (Chaabani 2019)
		Feuilles	Extrait éthanolique, fractions aqueuse et organique	(Chaabani 2019)
	Anticancéreuse	Feuilles	Extrait hydro-alcoolique	(Remila, et al. 2015)
	Hépatoprotectrice	Feuilles	Extrait éthanolique, fractions aqueuse et organique	(Mehenni et Atmani-Kilani 2016)
	Anticholinestérasique	Feuilles	Extrait aqueux	(Chaabani 2019)
	Insecticide	Feuilles	Huile essentielle	(Chaabani 2019)
	Antimutagène	Feuilles	Huile essentielle	(Chaabani 2019)
			Extrait aqueux	(Hayder et Ammar 2005)
			Extrait enrichi en flavonoïdes	(Hayder et Ammar 2005)
	Anti-ulcère	Fruits	Huile végétale	(Kharchoufa, et al. 2018)

II. Approches d'évaluation de la variabilité génétique des ressources phyto-génétiques :

La diversité génétique est une composante essentielle de la biodiversité. Elle décrit la variabilité des gènes entre ou à l'intérieur des espèces et de leurs populations. L'intérêt actuel porté à la biodiversité montre à quel point il est nécessaire de veiller au maintien d'une ressource génétique suffisamment large pour garantir l'adaptation des organismes face aux changements environnementaux directs (les exploitations forestières et les changements d'usage des terres par exemple) et indirects sur le long terme (changements climatiques globaux) (Christophe et Fenzi 2011).

L'étude de la diversité génétique à différents niveaux hiérarchiques d'organisation peut apporter une aide précieuse à la biologie des populations et à la biologie évolutive ; deux disciplines importantes pour la biologie de la conservation. La diversité génétique est alors devenue un outil primordial pour définir des buts, des méthodes et des priorités dans des programmes de conservation (Stockwell 2003).

Le polymorphisme génétique est à la base de la diversité génétique, il correspond à des variations de séquences d'ADN au sein d'un groupe d'individus. Ces variations naturelles sont dues à des mutations successives au cours de l'évolution qui permettent de caractériser la diversité génétique entre individus et populations (Christophe et Fenzi 2011).

En effet, Le polymorphisme est une caractéristique souvent étudiée en biologie. Que ce soit pour différencier des populations d'organisme, déterminer les pathovars, cibler des populations naturelles pour en apprécier les relations et donc les distances génétiques ou déterminer l'écotype. Les critères utilisés peuvent être phénotypiques, biochimiques (capacité à utiliser un substrat, information d'une enzyme) ou moléculaire (Konaté et A. 2009).

1) Les marqueurs morphologiques :

Les caractéristiques phénotypiques constituent un outil incontournable dans la classification et la taxonomie des micros et macros organismes et continue, à nos jours, d'être utilisée (Stuessy, 1990). Ils servent entre autre à repérer d'éventuelle contamination ou encore d'étiquetage ultérieur. Les caractères morphologiques sont très importants et révèlent de la caractérisation généralement quantitative et ont un déterminisme. Ils sont mono et polygéniques (Konaté et A. 2009). Pour le cas de l'espèce *pistacia lentiscus* les

marqueurs morphologiques ont été un outil principal utilisé par plusieurs études pour faire la distinction entre les espèces du même genre botanique comme c'est le cas de l'étude menée par Al-Saghir & Ibid. (2010) pour mieux faire disparaître les confusions déjà présente au niveau de la classification botanique des différentes espèces du genre pistacha ; il est aussi utilisé en Algérie. Cette étude vise à établir une analyse de la variabilité inter-population de *Pistacia lentiscus* dans le but d'identifier et de mieux connaître l'espèce qui reste méconnue en Algérie (Doghbage, et al. 2020), ainsi qu'un polymorphisme très élevé a été révélé par l'analyse des paramètres morphologiques sans différences significatifs entre populations d'origines géographiques différents (Barazani, Dudai et Golan-Goldhirsh 2003).

2) Les marqueurs biochimiques :

Matière sèche, matière organique, matière minérale, teneur en matière grasse totales et protéines restent très informatives du fait qu'elles constituent des produits de l'information génétique portée par l'ADN d'un individu. L'ADN, bien qu'il code pour un même produit, peut porter des variations (mutations) significatives d'un individu (ou d'un groupe). L'utilisation de ces marqueurs est fréquente dans la recherche de géotypes notamment résistants aux conditions de stress (RADIA 2010). Ces marqueurs, bien qu'ils soient co-dominant, sont accusés d'une sous-estimation du polymorphisme réel, seule la partie codante est détectable (RADIA 2010).

Les huiles essentielles du lentisque isolées à partir de parties aériennes par hydrodistillation de plantes provenant de trois régions d'Algérie ont été étudiées par Doba et al. (2006). Les principaux composants de l'huile étaient Longifolène (16,4%), α -pinène (19,0%), γ -cadinène (6,2%), trans β -terpinéol (5,0%) et α -acorneol (4,6%) pour les huiles d'Alger ; trans- β -terpinéol (15,6%), terpinen-4-ol (7,0%) et γ -muurolène (5,7%) , trans- β -terpinéol (13,1%), sabinène (12,6%) et β pinène (6,5%) (Doba et al., 2006). Au Maroc Amhamdi et al., (2009) ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia lentisque*, obtenue par hydrodistillation de feuilles provenant de l'Est du pays. 104 constituants ont pu être détectés dans l'huile. Parmi ces éléments, environ 40 ont pu être identifiés et quantifiés. Les principaux composants de l'huile étaient : myrcène (39,2%), le limonène (10,3) gurjunène (7.8), germacrène (4,3%), pinène (2,9%), muurolène (2.9), humulène (2.6), epi bicyclosesquiphellandrène (2.5), α -pinène (2,2) (Amhamdi et al., 2009). En Grèce, Koutsoudaki et al., (2005) ont obtenu comme principaux constituants de

l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* var. Chia : α -pinène (63%), β -pinène (3,3%), β -myrcène (25%), limonène (1,5%), et β -caryophyllène .

Il en ressort que la plupart des huiles des feuilles sont caractérisées par la présence de monoterpènes en tant que principal composant. Cependant plusieurs différences qualitatives et quantitatives sont enregistrées en fonction des caractéristiques génétiques de la plante et des facteurs environnementaux (géographie, température, durée du jour, nutriments, etc.) qui peuvent influencer le chémotype de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*. Ces facteurs influent les voies de biosynthèse de la plante et par conséquent les caractéristiques des principaux composants et leur pourcentage (Amhamdi et al., 2009).

Les huiles essentielles obtenues à partir des fruits sont composées de 90 à 96% d'hydrocarbures monoterpéniques et 3.2% de sesquiterpènes. Les fruits non mûrs sont constitués de 22% d' α -pinène et 54% de β -myrcène ; alors qu'à la maturité leurs huiles essentielles sont constituées de 11% d' α -pinène et 72% de β - myrcène (Boelens et Jimenez, 1991). Le rendement en huile varie de 11,95% (fruits non mûres) à 45,97% (fruits trop mûrs) ; une différence liée à une augmentation progressive de la teneur en huile des fruits de *Pistacia lentiscus* au cours du processus de maturation du fruit. (Mezni, et al. 2015).

Vu le faible niveau du polymorphisme révélé par les marqueurs biochimiques et morphologiques et leur 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.

3) Les marqueurs moléculaires

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. Les marqueurs moléculaires correspondent donc au polymorphisme révélé au niveau de l'ADN (Sauvage, Bauchet et Causse 2016) Plus précisément, un marqueur à ADN peut être défini comme un fragment d'ADN qui révèle les mutations (délétion, insertion ou substitution) et détecte le polymorphisme entre différents génotypes ou allèles d'un gène dans une séquence d'ADN donnée d'un pool génétique donné (individus, populations...etc.) (Sauvage, Bauchet et Causse 2016) Ce polymorphisme est détecté soit directement sur des séquences codantes ou non codantes de la molécule d'ADN, d'où le nom de marqueurs moléculaire, ou indirectement sur les séquences de certaines protéines qui révèlent le polymorphisme des séquences d'ADN, à partir

desquelles elles sont traduites (Ayadi 2013). Ainsi les marqueurs moléculaires sont considérés comme une alternative pour le séquençage du génome tout entier, une technique assez coûteuse et dure et n'est réalisable que pour quelques espèces modèles (RB Ayed 2017). L'utilisation des marqueurs moléculaires basés sur le polymorphisme de l'ADN nucléaire est une approche qui présente différents avantages comparés aux marqueurs morphologiques et protéiques ; indépendante des conditions environnementales, couvrent le génome entier, indépendants de partie de la plante prélevée et de son stade de développement (Konaté et A. 2009).

Ces marqueurs constitués des acides nucléiques sont utilisés il y a une vingtaine d'année dans le domaine de la connaissance des génomes végétaux et leur application à l'amélioration des plantes (Konaté et A. 2009). Ils permettent à la fois un diagnostic extrêmement fin de la variabilité et la mise en place de stratégies très rapides de création et sélection variétale. Des nombreuses techniques de marquage moléculaire sont aujourd'hui disponibles et peuvent être regroupées en deux grandes catégories : les marqueurs de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et les marqueurs basés sur la méthode de PCR (Polymerase Chain Reaction) : RAPD, Microsatellites ou SSR, ISSR, AFLP Le choix du système de marquage dépend de l'objectif précis fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire (Najimi 2003).

i. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

La méthode RFLP basée sur l'utilisation d'un couple de sonde et d'enzyme de restriction pour montrer la variabilité des minisatellites entre les individus. Elle comprend plusieurs étapes : l'extraction de l'ADN à partir de l'échantillon, la digestion de l'ADN en fragments par les enzymes de restriction, la séparation des fragments d'ADN par électrophorèse, la séparation des deux brins de molécules qui seront fixés sur une membrane en nylon, l'hybridation de la région suspectée avec une sonde marqueur, la visualisation de l'image obtenue sur auto-radiogramme et l'interprétation des résultats (Grimaud, 1994).

Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de sites de restriction) et/ou à des délétions/insertions d'un fragment d'ADN au voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde. Bien que cette technique soit co-dominante et permette une analyse génétique complète, elle est lente et laborieuse. Les étapes de transfert et d'hybridation empêchent une automatisation du travail (Najimi 2003).

ii. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

Le polymorphisme d'ADN amplifié au hasard ou RAPD est produit par la technique PCR utilisant d'ADN génomique, d'une amorce aléatoire courte d'environ 10 nucléotides et d'enzyme *Taq* polymérase (Konaté et A. 2009). Il permet de révéler simultanément une dizaine à une centaine de *loci* correspondants à des bandes d'amplification qui peuvent être présentes ou absentes chez un individu. Le profil obtenu par une amorce RAPD se présente sous forme d'empreinte génétique (RB Ayed 2017). Les fragments générés en nombre quasiment illimité, sont répartis dans tout le génome, non spécifiques de locus et dominants qui ne peuvent pas donc mettre en évidence l'état hétérozygote. Le polymorphisme observé se traduit par la présence ou l'absence de bandes chez les différents génotypes (Konaté et al. 2009). Les variations de séquences nucléotidiques entre les génomes, révélées par ces marqueurs, sont le résultat d'une modification (mutation ou insertion) au niveau de site de fixation de l'amorce (Konaté et al. 2009).

Pour le cas de notre espèce vedette *pistacia lenticus*, un total de 703 allèles a été enregistré avec une moyenne de 14 allèles par amorce par 50 marqueurs RAPD. Les résultats des paramètres de diversité génétique ont indiqué que les valeurs les plus élevées et les plus faibles de MAF ont été enregistrées respectivement à 0,75 et 0,083.

iii. AFLP (Amplified fragment length polymorphism)

La technique AFLP ou polymorphisme de taille des fragments d'ADN amplifiés, dotée du pouvoir discriminant et révélateur de la diversité génétique, a été développée par (Vos et al. 1992).

Elle est basée sur l'amplification sélective des fragments de restriction. Elle comporte trois étapes :

(1) L'ADN génomique est clivé par deux enzymes de restriction, puis des adaptateurs de séquences connues et spécifiques des enzymes de restriction utilisées sont ajoutés aux extrémités des fragments.

(2) L'amplification sélective des fragments de restriction : une première amplification, dite pré-amplification est réalisée à l'aide d'amorces de séquences complémentaires à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction, la deuxième amplification, dite sélective, utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de 1 à trois nucléotides ; ces amorces sélectives permettent de réduire le nombre de fragments amplifiés à une centaine.

(3) L'analyse des fragments amplifiés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (Benslimane, 2016)

AFLP est une technique puissante, stable et rapide, elle permet de visualiser les fragments de restriction par PCR sans une préalable connaissance de la séquence des nucléotides. Ainsi elle permet une co-amplification spécifique d'un grand nombre des fragments de restriction (Vos et *al.* 1992).

iv. SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

Les marqueurs SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) sont basés sur des changements ponctuels d'une base dans une séquence donnée. Ces marqueurs sont généralement bi-alléliques et permettent d'appréhender des variations de gènes impliqués dans le contrôle de caractères d'intérêt (RB Ayed, 2017).

La détection des SNPs nécessite tout d'abord une amplification PCR sur différents génotypes, puis la révélation d'un SNP est effectuée par séquençage direct, extension d'amorces, RFLP etc... Toutefois la technique la plus simple et la moins coûteuse reste la PCR-RFLP. C'est-à-dire une amplification PCR de la région contenant ce SNP suivie d'une digestion enzymatique et séparation de fragments sur gel d'agarose. Cependant d'autres techniques de séquençage permettent de tester un grand nombre de SNPs à la fois et sont facilement automatisables (RB Ayed, 2017).

v. SSR ou Microsatellites (Simple Sequence Repeats)

Ils sont constitués de séquences de di-, tri- ou tétra-nucléotides répétés en tandem Les plus courantes sont (A)_n, (AT)_n, (GA)_n, (GT)_n, (TAT)_n, (GATA)_n, (Santoni *et al.* 2000). Outre leur distribution sur l'ensemble du génome, l'intérêt en génétique des microsatellites réside dans leur polymorphisme extrêmement élevé sous forme de nombre des unités de répétition qui constituent la séquence microsatellite. Les crossing-over asymétriques peuvent être une des origines de ce fort polymorphisme des microsatellites, mais ils sont très peu présents dans les séquences codantes (Kijas *et al.* 1994). Les séquences flanquant ces éléments répétés, sont conservés et permettent de définir les amorces qui seront utilisées pour l'amplification PCR. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide. C'est la paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur. Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, co-dominants et aisés d'utilisation), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde. En effet, leur production doit passer d'abord par le clonage et le séquençage de ces éléments répétés (Ayadi, 2013). Une étude a été fait par

Abuduli sur 24 génotype du pistacia lentiscus en utilisant 7 marqueurs SSR d'origine turque, a révélée l'expression de 40 allèles ont été enregistrés dans tous les génotypes et une moyenne de 5,7 allèles par primer (Abuduli et al., 2016). Les résultats ont indiqué que les valeurs les plus basses de la fréquence des allèles majeurs (MAF) ont été enregistrées comme 0,458 et 0,208, respectivement. Les valeurs les plus élevées et les plus basses de diversité génétique ont été enregistrées à 0,843 et 0,714, respectivement. La valeur PIC la plus basse a été enregistrée à 0,672, tandis que le la valeur PIC la plus élevée était de 0,823. Les valeurs moyennes de 7 marqueurs SSR pour MAF, gène la diversité et les valeurs PIC étaient respectivement de 0,452, 0,656 et 0,628.

vi. ISSR ou Inter-microsatellites (Inter simple sequence repeat)

Cette technique, principalement développée par Zietkiewicz *et al.* (1994), est basée sur l'amplification par PCR des régions entre les microsatellites. On retrouve plusieurs autres appellations pour cette technique : I-SSR PCR (*Inter Simple Sequence Repeat PCR*), IMA (*Inter Microsatellite Amplification*), IRA (*Inter-Repeat Amplification*) et ISA (*Inter-SSR Amplification*) (Dubé, 2009). Les marqueurs ISSR, liés aux séquences simples répétées (SSRs) dans le génome, sont basés sur le polymorphisme de taille de 200 à 2500 pb le long de ces espaces inter-microsatellites amplifiables par une seule amorce PCR (Zietkiewicz E. 1994). En générale, les locus microsatellites sont régulièrement distribués en grand nombre à travers le génome d'eucaryote. On utilise une amorce constituée d'une séquence de microsatellites et parfois d'une partie arbitraire (amorces ancrées, en 5' ou en 3'). Par la suite, en effectuant une simple PCR, il y aura amplification de fragments flanqués de microsatellites. Les ISSR sont donc des marqueurs non spécifiques de locus, de type dominant. Contrairement à l'utilisation d'amorces spécifiques des régions flanquant les microsatellites, il n'est pas nécessaire de connaître ici la séquence étudiée (Dubé, 2009). Cette technique permet d'amplifier un grand nombre de fragments d'ADN par réaction, et est supérieure aux marqueurs RAPD en terme de détection de polymorphismes et de reproductibilité (Zietkiewicz E. 1994). Un total de 929 allèles a été enregistré avec une moyenne de 18 allèles par amorce avec 50 marqueurs ISSR. Les résultats de l'analyse de la diversité ont indiqué que la valeur la plus élevée du CRG a été enregistré comme 0,75 et la valeur la plus basse a été enregistrée comme 0,042. Le plus haut et les valeurs les plus faibles de diversité génétique ont été enregistrées à 0,958 et 0,427, respectivement. La valeur PIC la plus basse enregistrée à 0,415, tandis que la valeur la plus élevée des valeurs PIC était 0,958. Les valeurs moyennes de 50 marqueurs ISSR pour la fréquence des allèles

majeurs, gène la diversité et les valeurs PIC étaient de 0,173, 0,896 et 0,887, respectivement.

CHAPITRE 2:
CARACTERISATION ET
ANALYSE DE LA VARIABILITE
POMO-MORPHOLOGIE DU
LENTISQUE

I. Etude de la variabilité morpho-pomologique de *Pistacia lentiscus* :

1) Matériel végétal et populations étudiées (*Pistacia lentisque* L) :

Onze populations spontanées du lentisque (L), provenant de 11 zones différents au Maroc ont été étudiées (Figure 4). Le tableau 4 résume les caractéristiques géographiques et écologiques des différentes stations. L'échantillonnage du matériel végétal a été effectué du 22 au 27 décembre 2015 dans les stations suivantes : beni mellal, issekssi, wawizeghte, ben el ouidan, azilal, ouzoud, ait atab, midelt, zaida, boumia, el kbaba, ait yahia oussad, m'ritt, 5 arbres par station ont été échantillonnés aléatoirement avec 20 fruits et 20 feuilles par arbre. Les fruits matures et les feuilles développées collectés ont été conservés à une température de -20°C jusqu'à leur utilisation.

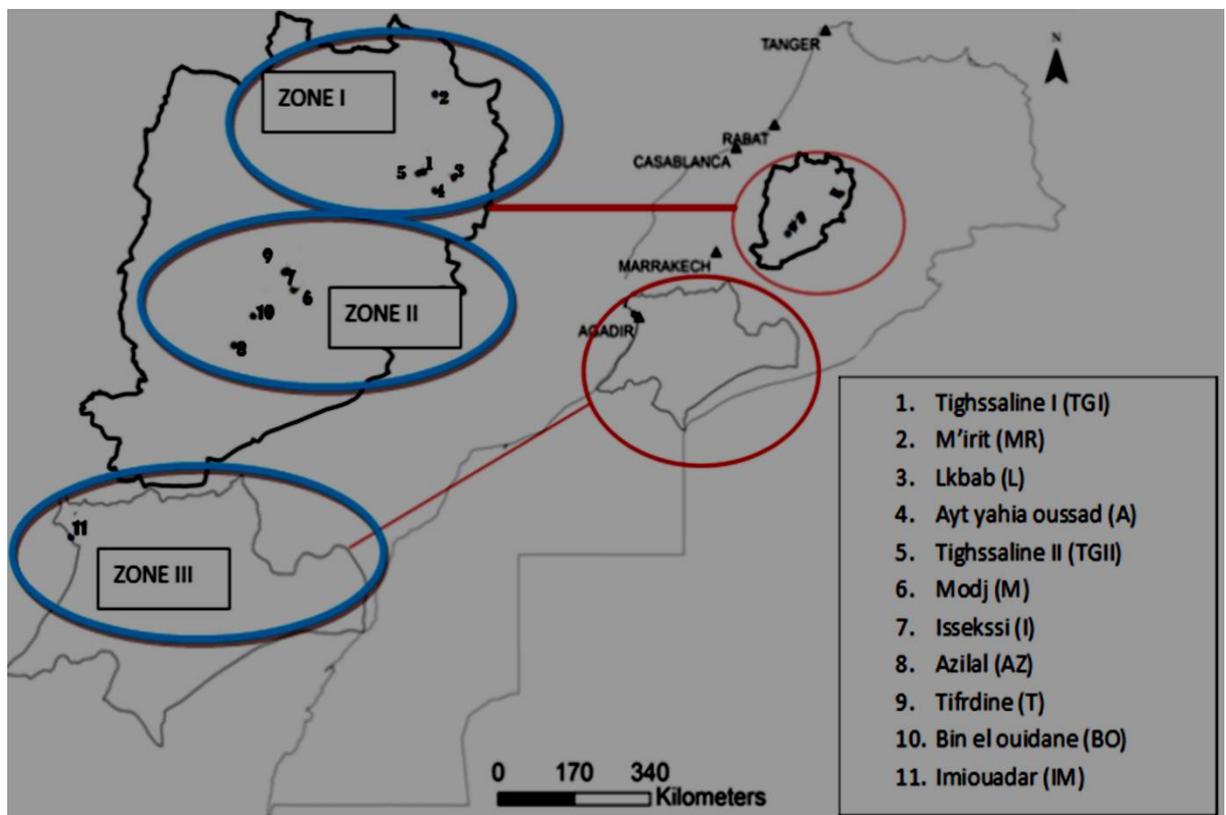


Figure 3 Répartition géographique de différentes stations d'échantillonnage du pistachier lentisque au Maroc

Tableau 3 Situation géographique et climatique des onze population

Station	Abbreviations	Zone	Altitude (m)	Latitude nord	Longitude ouest	Précipitations mm / an	Température moyenne annuelle
Tighssaline I	TGI	Moyen Atlas	1344 m	32°76	5°63	635 mm	16,1 °C
M'rirt	MR	Moyen Atlas	1111m	33°19	5°54	717 mm	14,7 °C
Lkbab	L	Moyen Atlas	1401 m	32°71	5°57	616 mm	14,1 °C
Ayt yahya oussad	A	Moyen Atlas	1451m	32°68	5°54	620 mm	13,3 °C
Tighssaline II	TGII	Moyen Atlas	1245 m	32°76	5°65	635 mm	16,1 °C
Modj	M	Haute Atlas	1200 m	32°30	6°30	594 mm	14,7 °C
Isseksi	I	Haute Atlas	1427 m	32°22	6°27	594 mm	14,7 °C
Azilal	AZ	Haute Atlas	1354 m	32°01	6°56	563 mm	15,7 °C
Tifrdine	T	Haute Atlas	805 m	32°32	6°32	493 mm	18,3 °C
Bin el ouidane	BO	Haute Atlas	866 m	32°10	6°46	490 mm	17,6 °C
Imioudare	IM	Littorale	298m	30°59	9°74	290,6 mm	18,3°C

2) Traits morphologiques et pomologiques considérés :

i. Traits morphologiques :

La caractérisation morphologique concerne 14 traits morphologiques : Longueurs et largeurs de la feuille (Figure 6), longueurs et largeurs de la foliole terminale (figure5), nombre de folioles, taille de foliole terminale, forme de la base et de l'apex de la foliole terminale, absence ou présence de la foliole terminale, Marge des folioles, forme de la foliole terminale, Rapport de la longueur sur la largeur de foliole terminale et Rapport longueur sur la largeur de la feuille (IPGRI,1997).

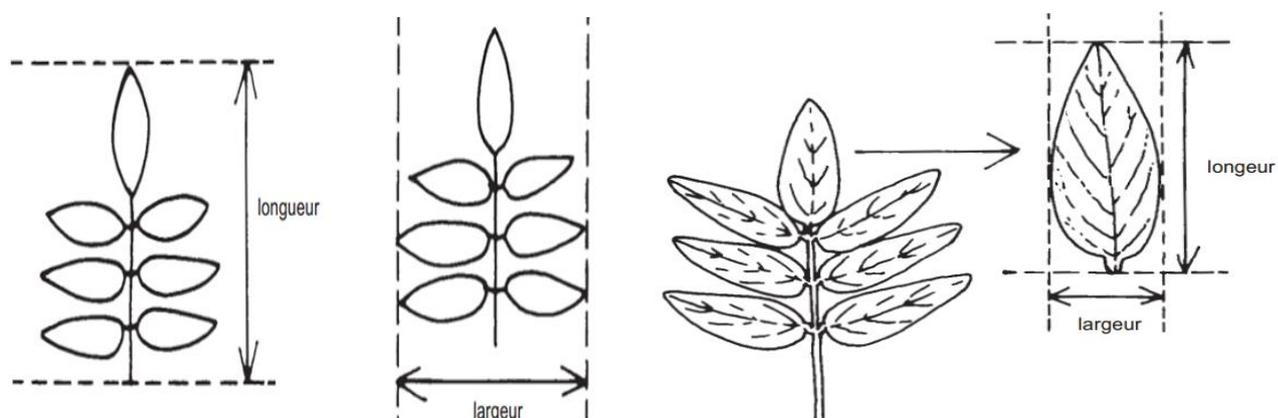


Figure 5 Longueur , largeur des feuilles, Longueur et largeur de la foliole terminale

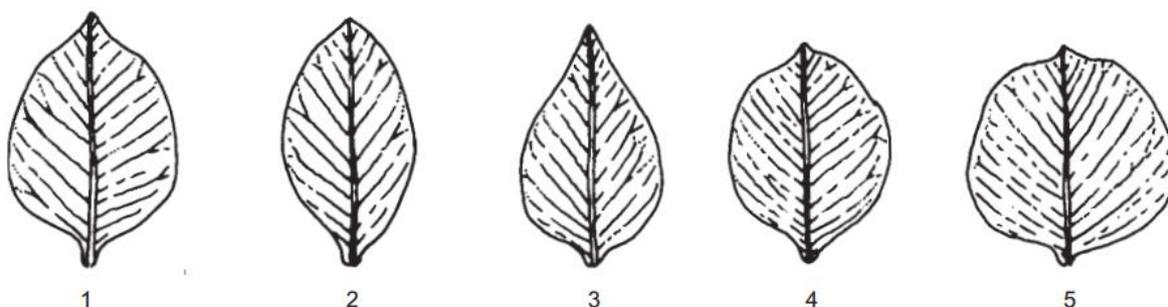


Figure 4 Forme de la foliole terminale



Figure 6 Forme l'apex de la foliole terminale



Figure 7 Forme de la base de la foliole terminale

3) Traits pomologique

10 traits pomologiques se rapportant au fruit ont été analysés pour la caractérisation pomologique à savoir : longueur et largeur du fruit (Figure 9), poids des 20 fruits, Epaisseur de l'enveloppe, Longueur et largeur de l'amende (IPIGRI 1997), Couleur du fruit, rapport de la longueur sur la largeur du fruit, rapport de la longueur sur la largeur de l'amende et la Forme du fruit (Figure 10) (IPGRI, 1997).

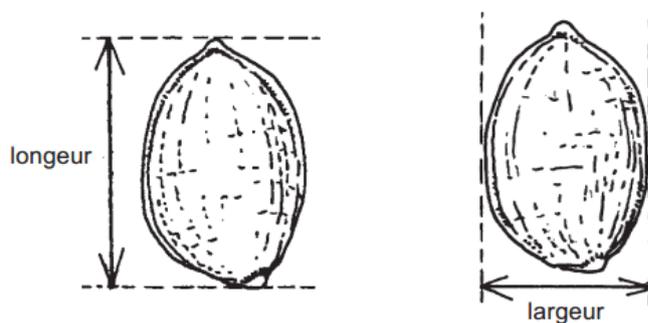


Figure 8 Longueurs et largeurs du fruit

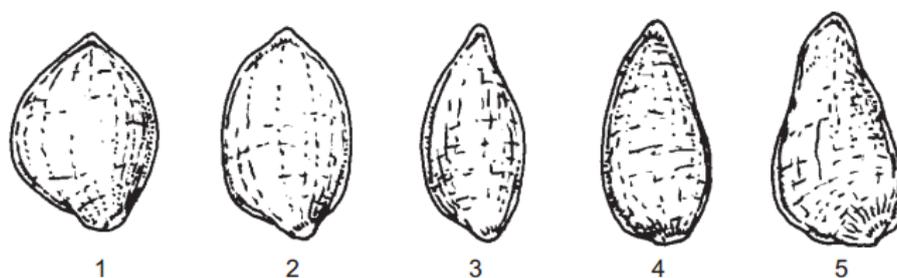


Figure 9 Forme du fruit

Tableau 4 Notations des caractères qualitatifs

Caractère	1	2	3	4	5
Formes de la foliole terminale	Lancéolée	Elliptique	Ovale	Rand Ovale	arrondie
Forme de l'apex de la foliole terminale	Acuminée	Mucroné	Mucronulé	Obtus	Rétus
Formes du fruit	Lancéolée	Elliptique	Ovale	arrondie	Cordiforme
Couleur du fruit	Rouge claire	Rouge	Rouge fonce	Noire	
Forme de la base de la foliole terminale	atténuée	Obtuse	Tronquée	Oblique	
Taille de foliole terminale par rapport aux autres folioles	Inférieur	Semblable	Supérieur		
Couleur de la feuille	Vert claire	Vert	Vert fonce		
Absence ou présences de la foliole terminale	Absent	Présent			
Bord des folioles	Plat	Ondule			

Afin d'analyser statistiquement les caractères qualitatifs considérés, ils ont été notés par des chiffres pour les rendre quantitatifs.

4) Analyse des données :

Les données morphologiques et pomologiques ont été soumises à une analyse de la variance ANOVA à trois facteurs (population, arbre et fruit ou feuille) selon le modèle linéaire générale (GLM) $y_i = \text{Population} + \text{Arbre} + \text{Répétition} + \text{erreur}$. Elle a pour but de comparer les moyennes des caractères considérés pour plusieurs populations, supposées normales et de même variance. Le test de la plus petite différence significative (PPDS) a servi pour distinguer les groupes de population pour chaque variable (caractère). L'association entre les caractères a été recherchée par les coefficients de corrélation de Pearson. Les données ont été considérées significatives à $p < 0.05$. Ces analyses statistiques ont été faites par le programme Statistical Analysis System (SAS, 1996).

La structure globale de la variabilité morpho-pomologique des populations a été décrite par l'analyse en composantes principales (ACP). L'analyse a été faite par le logiciel XLSTAT version 2016. En outre, une classification hiérarchique ascendante, selon la méthode d'agrégation UPGMA (Unweighted Pair Group-Method with Arithmetical Average) et la distance euclidienne comme distance génétique a été réalisée par le logiciel STATISTICA (STATISTICA, 1997) et dont le résultat est un Dendrogramme.

II. Résultats de l'étude de la variabilité morpho-pomologique de *Pistacia lentiscus* :

1) Analyses de la variance :

Les résultats de l'analyse de la variance à trois facteurs, réalisée sur les 24 critères morpho-pomologiques sont présentés dans le tableau 6. Cette analyse montre des différences hautement significatives entre les populations pour l'ensemble des caractères étudiés, à l'exception de la largeur de l'amande (WA ; $F=1,56$), le nombre de folioles (N ; $F=1,09$) et la taille de la foliole terminale (TFT ; $F=0,93$). De même les résultats obtenus montrent que la foliole terminale n'est observée que chez certaines feuilles avec un pourcentage de 20% par arbre. Ces résultats concordent avec ceux établis par Barazani et al., (2003), qui a mené une comparaison entre les génotypes de *Pistacia lentiscus* dans le bassin méditerranéen et qui a démontré l'existence d'une variabilité entre les provenances de *Pistacia lentisque*, la foliole terminale n'existe que chez quelques feuilles et que le nombre de folioles est similaire entre les populations étudiées. Ainsi qu'entre arbres. Les résultats ANOVA montrent qu'il y a une variabilité morpho-pomologique intra et

interspulation très importante entre les 11 populations. D'autre part, on trouve que cette variabilité n'est pas influencée par l'origine géographique. ce resultat est en accord avec les resultas obtenus par Barazani (2003), qui ont montrée que la diversité des caractères morphologiques et biochimiques des géotypes de lentisques dans le bassin mediterianée, et independeante de leur origine géographique.

2) Comparaison des moyennes :

Les valeurs moyennes des caractères morpho-pomologiques mesurées chez les 11 populations, l'écart type, le coefficient de variation, ainsi que la comparaison multiple des moyennes par le test de LSD au seuil de signification 5% sont présentées dans le tableau 7. Tous les caractères ont montré de grandes différences entre les 11 populations, inculpant des niveaux élevés de variation morphologique et pomologique. Ceci a été renforcé par des valeurs élevées de coefficient de variation (CV) obtenue pour la majorité des caractères examinés. D'une manière générale, les traits morphologiques relatifs a appareil vegetatifs étaient les plus variables. En fait, avec un CV de 23,98%, la longueur de la feuille montre une variation importante. Elle varie de 5,46 cm pour Lkbab à 7,80 cm pour M'rirt, avec une moyenne globale de 6,53 cm, de meme la largeur de la feuille (CV=23,18) varie de 3,74 cm pour Lkbab a 5,16 Tifrdine avec une moyenne de 4,50 cm. Ces résultats divergent avec celle de Mohammad et Duncan en (2012) qui ont trouvé que la longueur des feuilles varie de 2 à 7,5 cm et la largeur entre 3,40 à 10 cm. La réduction de la taille des feuilles est corrélée avec la réduction de la transpiration, plus l'aridité augmente et plus la taille de la feuille diminue (Fahn.A 1967). Selon Baroni et al. (2004), les petites feuilles ont tendance à être plus abondantes sur les hauts plateaux et autres endroits froids. En effet, dans notre étude, les feuilles les plus petites ont été reportées au niveau des stations les plus en hauteur (Lk, 1401 ; AO 1451). Pour la longueur de la foliole terminale (CV=28,20%) elle varie de 1,81 cm pour Lkbab à 2,37 cm pour Tifrdine avec une moyenne de 2,16 cm, de meme aussi une variation entre les populations dans la couleur des feuilles a été également observée (CV =25,35%. Selon Belhadj et al (2008) la couleur de la feuille peut varier sous l'influence de certains phénomènes éco-physiologiques en relation avec les pigment chlorophylliens. D'une part, les teneurs en chlorophylle tendent à varier en fonction de la disponibilité de l'eau, car le stress hydrique peut causer une oxydation des pigments chlorophylliens provoquant une couleur verte claire des feuilles. Concernant les caractères pomologiques ; la variation la plus élevée est notée au niveau de l'épaisseur de l'enveloppe avec un coefficient de variation de 49,64%, la valeur la plus élevée est

enregistrée chez les populations de Bin El Ouidane, Azilal et Imi Ouddare avec 0,72 mm et la plus petite appartenait à la population de Tighassaline 2 (0,20 mm) avec une moyenne de 0,52 mm, une variation significative est enregistrée aussi au niveau du poids du fruit (CV=30,15%) qui varie entre 0,47 g chez Issekssi à 0,84 g pour Imi Ouddare avec une moyenne de 0,63 g.

Les résultats de cette comparaison nous ont permis aussi de mettre en évidence un nombre de groupes de populations qui varie d'un seul groupe pour les caractères APFT et TFT à 10 groupes pour le caractère CFR. Le classement des populations change avec les caractères considérés. Cependant, des constatations peuvent être ressorties : les populations M'rirt et Bin El Ouidane se sont montrées plus performantes pour les caractères de la production végétative (LF, WFE et N). Alors que les populations Tighassaline 1, Bin El Ouidane et Tifrdine se sont montrées supérieures pour les caractères du fruit (LFR, WF, EE). On note que la population de Lkbab est la plus défavorisée pour la plupart des caractères étudiés.

Tableau 5 L'analyse de la variance à trois facteurs

Variabes	Source de variation	ddl	Carré Moyennes	F observé	Probabilité
LFR	Population	10	3.66	15.52	0.0001
	Arbre	9	1.83	7.75	0.0001
	Fruit	19	0.49	2.10	0.0043
WF	Population	10	11.63	51.19	0.0001
	Arbre	9	0.59	2.61	0.0059
	Fruit	19	0.38	1.68	0.0361
EE	Population	10	2.08	7.50	0.0001
	Arbre	9	1.14	4.11	0.0001
	Fruit	19	56.64	204.30	0.0001
WA	Population	10	0.34	1.56	0.1135
	Arbre	9	0.52	2.42	0.0105
	Fruit	19	55.13	254.39	0.0001
PF	Population	10	5.81	9.26	0.0001
	Arbre	9	0.34	0.54	0.8424
	Fruit	19	3.53	5.63	0.0001
LA	Population	10	5.22	8.34	0.0001
	Arbre	9	2.74	4.38	0.0001
	Fruit	19	17.73	28.30	0.0001
CFR	Population	10	13.07	15.78	0.0001
	Arbre	9	1.99	2.41	0.0109
	Fruit	19	24.50	29.57	0.0001
RF	Population	10	0.82	15.87	0.0001
	Arbre	9	0.10	2.05	0.0322
	Fruit	19	0.10	2.04	0.0060
RA	Population	10	6.67	7.58	0.0001
	Arbre	9	0.88	1.00	0.4387
	Fruit	19	4.46	5.08	0.0001
FFR	Population	10	1.19	6.38	0.0001
	Arbre	9	0.14	0.78	0.6387
	Fruit	19	0.01	0.08	0.9258
LF	Population	10	18.15	9.78	0.0001
	Arbre	9	12.89	6.95	0.0001
	Fruit	19	4.51	2.43	0.0006
WFE	Population	10	8.78	10.18	0.0001
	Arbre	9	4.13	4.80	0.0001
	Fruit	19	1.82	2.11	0.0039
N	Population	10	3.38	1.09	0.3700
	Arbre	9	15.24	4.90	0.0001
	Fruit	19	3.53	1.13	0.3115
LFT	Population	10	1.53	2.36	0.0096
	Arbre	9	0.49	0.72	0.6933
	Fruit	19	0.48	1.39	0.1228
WFT	Population	10	2.13	2.36	0.0096
	Arbre	9	0.65	0.72	0.6933
	Fruit	19	1.26	1.39	0.1228
FFT	Population	10	1.48	1.62	0.0967

	Arbre	9	0.64	0.70	0.7057
	Fruit	19	0.75	0.82	0.6792
MF	Population	10	0.19	1.71	0.0755
	Arbre	9	0.27	2.51	0.0078
	Fruit	19	0.12	1.08	0.3710
APFT	Population	10	0.43	0.45	0.9239
	Arbre	9	139.18	145.02	0.0001
	Fruit	19	1.68	1.75	0.0245
TFT	Population	10	20.56	0.93	0.5031
	Arbre	9	19.97	0.91	0.5201
	Fruit	19	622.94	28.23	0.0001
FBFT	Population	10	26.77	5.32	0.0001
	Arbre	9	15.90	3.16	0.0010
	Fruit	19	10.83	2.15	0.0031
RF	Population	10	7.38	4.39	0.0001
	Arbre	9	1.40	0.84	0.5838
	Fruit	19	1.01	0.60	0.9085
FAFT	Population	10	9.73	7.49	0.0001
	Arbre	9	2.49	1.91	0.0476
	Fruit	19	2.32	1.79	0.0209
RFT	Population	10	7.65	1.25	0.2587
	Arbre	9	15.39	2.51	0.0080
	Fruit	19	8.87	1.44	0.0996
CF	Population	10	4.68	13.22	0.0001
	Arbre	9	0.71	2.01	0.0352
	Fruit	19	0.24	0.69	0.8335

APFT : Absences ou présence de foliole terminale ,**CF** : Couleur de la feuille ,**CFR** : Couleur du fruit ,**EE** : Épaisseur de l'enveloppe ,**FFR** : Forme du fruit , **FFT** : Forme de foliole terminale , **FAFT** : Forme de l'apex de la foliole terminale , **FBFT** : Forme de la base de la foliole terminale , **LA** : Longueur de l'amende, **LF** : Longueur de la feuille, **LFR** : Longue du fruit ,**LFT** : Longueur de foliole terminale ,**N** : Nombre de folioles , **PF** : Poids des 10 fruits, **RF** : Rapport longueur / largeur du fruit , **RA** : Rapport longueur / largeur du amende ,**RFT** : Rapport largeur / longueur de foliole terminale, **RF** : Rapport largeur / longueur la feuille, **TFT** : Taille de foliole terminale par rapporte autre ,**WA** : Largueur de l'amende, **WF** : Largeur du fruit ,**WFE** : Largeur de la feuille, **WFT** : Largeur de foliole terminale

Tableau 6 Résultat de la statistique descriptive des caractères mesurés chez 11 populations de Pistacia lentisque

	M'irt	Tighssaline 1	le Yahia Oussaade	Lkbab	Tighssaline 2	Issekssi	Bin El Ouidane	Azilal	Modj	Tifrdine	Imi Ouddare	Moy	CV
LFR	5,04±0,03c	5,28±0,04e	5,11±0,06cd	4,57±0,07a	5,14±0,06cde	4,60±0,02ab	5,26±0,04de	4,73±0,03b	4,69±0,01ab	5,24±0,07cde	5,01±0,03c	4,97	11,56
WF	5,00±0,04d	5,00±0,05d	4,32±0,05a	4,29±0,04a	4,56±0,06b	4,83±0,04c	5,59±0,06f	5,16±0,04e	4,62±0,06b	5,22±0,05e	5,73±0,03g	4,94	13,31
PF	0,66±0,02d	0,77±0,02d	0,48±0,01ab	0,50±0,00ab	0,63±0,01b	0,47±0,01a	0,81±0,02d	0,61±0,01b	0,49±0,01ab	0,65±0,00c	0,84±0,01d	0,63	30,15
EE	0,53±0,01e	0,60±0,02e	0,42±0,02c	0,22±0,01b	0,20±0,01a	0,39±0,01b	0,72±0,03f	0,72±0,02f	0,52±0,01d	0,66±0,04c	0,72±0,01d	0,52	49,64
LA	4,32±0,03e	4,38±0,04f	4,45±0,05h	3,91±0,05a	4,44±0,05h	3,90±0,02a	4,35±0,03f	3,92±0,03b	4,05±0,02c	4,41±0,06g	4,15±0,02d	4,21	11,62
CFR	1,85±0,03c	2,53±0,06gh	2,19±0,09de	2,12±0,07d	2,21±0,06e	2,12±0,08c	2,33±0,11f	3,09±0,11h	2,40±0,08g	1,57±0,16a	1,72±0,05b	2,19	40,98
WA	4,67±0,06a	4,70±0,05a	4,01±0,04a	3,66±0,08a	4,04±0,08a	4,49±0,04a	5,23±0,05a	4,70±0,04a	4,30±0,09a	4,87±0,05a	5,23±0,02a	4,54	15,52
RF	1,02±0,04d	1,06±0,01d	1,19±0,01e	1,07±0,01e	1,15±0,02e	0,96±0,01b	0,95±0,01ab	0,92±0,01ab	1,01±0,06d	1,01±0,01c	0,87±0,00a	1,02	14,23
RA	0,94±0,01c	0,94±0,01c	1,11±0,01d	1,12±0,03d	1,15±0,03d	0,87±0,01a	0,84±0,01a	0,84±0,01a	0,94±0,01c	0,91±0,01b	0,79±0,00a	0,95	20,67
FFR	1,14±0,03abc	2,2±0,04abc	1,78±0,05b	1,59±0,05bc	1,78±0,09d	1,03±0,02a	0,9±0,03bcd	1,01±0,01bc	1,25±0,01bcd	1,07±0,05e	1,00±0,00e	1,27	39,23
LF	7,80±0,12e	6,95±0,19d	5,88±0,11ab	5,46±0,14a	6,03±0,13bc	6,44±0,13c	7,27±0,13d	6,57±0,14c	6,52±0,13c	6,95±0,12d	5,91±0,13bc	6,53	23,98
WFE	4,95±0,07f	4,84±0,14ef	4,40±0,07cd	3,74±0,11a	4,01±0,08ab	4,32±0,07bcd	4,91±0,09ef	4,41±0,09cd	4,57±0,10de	5,16±0,12f	4,14±0,09bc	4,50	23,18
N	8,71±0,33a	8,17±0,15b	7,74±0,17a	7,79±0,18b	7,87±0,19b	7,75±0,16b	8,20±0,15b	8,29±0,18b	7,74±0,16b	8,10±0,14b	8,10±0,16b	8,04	22,20
LFT	2,24±0,05d	2,36±0,06e	2,18±0,05bc	1,81±0,05a	2,01±0,06ab	1,97±0,05ab	2,18±0,05c	2,26±0,06e	2,22±0,07c	2,37±0,07e	2,15±0,06ab	2,16	28,20
WFT	0,80±0,06d	0,72±0,02bd	0,75±0,03de	0,66±0,02abc	0,63±0,03ab	0,72±0,02de	0,77±0,03de	0,67±0,02bc	0,65±0,02ab	0,70±0,03b	0,52±0,02a	0,69	53,93
FFT	2,20±0,04a	3,08±0,11b	3,00±0,11b	2,24±0,13b	3,12±0,10b	3,32±0,10b	3,22±0,10b	2,75±0,10b	3,27±0,10b	3,09±0,10b	2,60±0,09b	2,90	37,00
MF	1,21±0,03b	1,35±0,05d	1,21±0,04c	1,08±0,03a	1,29±0,05cd	1,29±0,05cd	1,55±0,05d	1,31±0,05d	1,51±0,05d	1,41±0,05d	1,00±0,00a	1,29	35,14
CF	2,42±0,05bc	2,53±0,06cd	2,31±0,08b	2,39±0,06bc	2,57±0,05d	2,09±0,07a	4,3±0,06bcd	2,37±0,06bc	4,43±0,07bcd	2,85±0,04e	2,80±0,04e	2,47	25,35
APFT	1,18±0,03a	1,36±0,05a	1,25±0,04a	1,39±0,05a	1,26±0,04a	1,24±0,04a	1,31±0,05a	1,32±0,05a	1,22±0,04a	1,22±0,04a	1,20±0,04a	1,27	34,83
TFT	1,80±0,03a	1,67±0,06a	1,80±0,05a	1,71±0,05a	1,64±0,05a	1,80±0,05a	1,58±0,05a	1,94±0,04a	1,86±0,05a	1,64±0,05a	1,85±0,04a	1,75	27,55
FBFT	1,09±0,04a	6,9±0,15cde	1,60±0,10b	2,25±0,15bc	2,08±0,13b	2,60±0,14cd	2,96±0,14c	2,84±0,14ce	2,27±0,12cd	3,14±0,13c	2,55±0,15cd	2,37	59,82
FAFT	3,37±0,09bc	3,8±0,011cd	3,40±0,15a	3,43±0,10e	3,08±0,14e	4,00±0,08e	3,19±0,14d	2,81±0,13e	3,55±0,12bc	3,18±0,15a	2,95±0,14ab	3,30	38,58
RFT	3,46±0,07a	3,35±0,05a	3,06±0,07a	2,83±0,06a	3,50±0,11a	2,77±0,06a	3,05±0,08a	3,44±0,06a	3,50±0,06a	3,59±0,09a	4,26±0,07a	3,35	24,61
RF	1,59±0,02e	1,46±0,02cd	1,36±0,03a	1,50±0,03e	1,52±0,03e	1,50±0,02e	1,50±0,02d	1,51±0,03e	1,45±0,02bc	1,38±0,02a	1,44±0,02ab	1,48	18,60

3) Association entre caractères :

L'association des caractères mesurés pris deux à deux peut être appréciée à travers leur coefficient de corrélation dont la signification indique l'existence de la relation et la valeur reflète l'intensité de cette relation. Les résultats de la corrélation, entre les vingt-quatre traits mesurés chez les onze populations étudiées sont présentés dans le tableau 8. Plusieurs caractères pomologiques sont fortement liés entre eux, l'épaisseur de l'enveloppe du fruit sont aussi corrélés positivement avec la couleur du fruit et la forme du fruit ($r=0,78^{***}$ et $r=0,79^{***}$), la longueur et la largeur de l'amande sont significativement corrélées négativement à l'épaisseur de l'enveloppe ($r= -0,66^{***}$), ($r= -90^{***}$). Au niveau morphologique l'absence /présence du foliole terminal et négativement corrélée à la taille du foliole terminal ($r= -0,75^{***}$), aussi la taille de la foliole terminale et moyennement corrélée négativement avec la longueur de la foliole terminale ($r= -0,82^{***}$). On note aussi l'existence d'une corrélation entre les traits morphologiques et les traits pomologiques, la largeur de l'amande du fruit avec la forme du foliole terminale est fortement corrélé positivement ($r=0,92^{***}$) et la longueur de la feuille et négativement corrélée à l'épaisseur de l'enveloppe ($r= -0,62^{***}$) (Tableau.8).

Tableau 8 corrélation entre les caractères morpho-pomologique mesurés chez les populations de Pistacia Lentisque

	LFR	WF	PF	EE	LA	CFR	WA	RF	RA	FFR	LF	WFE	N	LFT	WFT	FFT	MF	CF	APFT	TFT	FBFT	FAFT	RFT	
WF	0.40***																							
PF	0.24***	0.59***																						
EE	0.13**	0.03	-0.17***																					
LA	0.10*	0.01	0.31***	-0.66***																				
CFR	0.14***	0.40***	0.12**	0.78***	-0.53***																			
WA	0.16***	0.10*	0.20***	-0.90***	0.67***	-0.78***																		
RF	0.20***	-0.57***	-0.39***	-0.05	0.08	-0.49***	0.16***																	
RA	0.16***	-0.44***	-0.40***	0.31***	-0.10*	-0.01	-0.22***	0.46***																
FFR	0.03	0.03	-0.05	0.79***	-0.56***	0.71***	-0.80***	-0.20***	0.13**															
LF	0.16***	0.18***	0.27***	-0.62***	0.46***	-0.44***	0.68***	-0.03	-0.28***	-0.31***														
WFE	0.07	0.08	-0.01	0.62***	-0.38***	0.54***	-0.57***	-0.15***	0.15***	0.67***	-0.32***													
N	-0.01	-0.02	-0.001	-0.02	-0.03	-0.03	-0.01	0.01	-0.03	-0.02	-0.01	-0.01												
LFT	0.06	0.04	-0.03	0.50***	-0.34***	0.41***	-0.46***	-0.07	0.14***	0.42***	-0.26***	0.34***	-0.08											
WFT	0.13**	0.24***	0.21***	0.09*	-0.04	0.16***	-0.06	-0.14**	-0.11**	0.09*	0.02	-0.09*	-0.01	0.52***										
FFT	0.13**	0.15***	0.28***	-0.87***	0.65***	-0.70***	0.92***	0.09*	-0.28***	-0.74***	0.64***	-0.53***	0.02	-0.60***	0.005									
MF	0.09	0.02	-0.15***	0.94***	-0.63***	0.76***	-0.89***	-0.10*	0.26***	0.78***	-0.61***	0.59***	0.001	0.34***	-0.06	-0.82***								
CF	0.05	0.05	0.07	-0.06	0.17***	0.01	0.05	-0.05	-0.03	-0.03	0.03	-0.04	0.05	-0.57***	-0.59***	0.12**	0.11**							
APFT	0.03	0.20***	0.19***	-0.01	0.01	0.09*	0.04	-0.17***	-0.11*	0.01	0.09*	0.05	-0.08	0.78***	0.56***	-0.14**	-0.16***	-0.66***						
TFT	0.27***	0.05	0.04	-0.22***	0.19***	-0.19***	0.27***	0.08	-0.06	-0.20***	0.17***	-0.16***	0.07	-0.82***	-0.31***	0.46***	-0.08	0.63***	-0.85***					
FBFT	0.42***	0.01	0.04	-0.37***	0.33***	-0.39***	0.42***	0.10*	-0.06	-0.35***	0.28***	-0.26***	0.001	-0.56***	-0.21***	0.51***	-0.29***	-0.007	-0.29***	0.31***				
FAFT	-0.14***	-0.01	-0.06	0.14***	-0.06	0.15***	-0.14***	0.01	0.12**	0.11**	-0.11**	0.06	0.06	-0.62***	-0.72***	-0.07	0.35***	0.71***	-0.75***	0.57***	0.22***			
RFT	-0.47***	0.02	-0.04	0.47***	-0.36***	0.40***	-0.47***	-0.10*	0.11**	0.50***	-0.23***	0.36***	-0.07	0.89***	0.43***	-0.60	0.32***	-0.51***	0.70***	-0.77***	-0.54***	-0.56***		
RF	0.10*	0.07	0.11*	-0.08	0.06	-0.04	0.11*	-0.004	-0.02	0.01	0.21***	0.002	-0.06	0.53***	0.46***	-0.002	-0.22***	-0.25***	0.52***	-0.31***	-0.61***	-0.62***	0.57***	

4) Analyses multivariées :

Pour mieux étudier la variabilité morphologique nous avons réalisé une analyse conjointe des paramètres retenues

i. Analyse en composantes principale (ACP):

Les données morpho-pomologiques ont été analysées par le logiciel XLSTAT 2016 pour générer une représentation bidimensionnelle des populations de Lentisque. L'analyse en composantes principales permet de visualiser le lien entre les cultivars ainsi que la contribution des caractères morpho-pomologiques dans cette représentation. Les deux premiers axes retenus expliquent 52,35% de la variabilité totale observée, avec chaque composant expliquant respectivement 35,32% et 17,02%, le premier axe est défini du côté positif par les caractères de la production végétative (LF, WFE, N), et des caractères pomologiques (WF, EE, PF, WA) et du côté négatif par deux caractères RA et FFR sont corrélés négativement à l'axe. Le deuxième axe est défini par les caractères pomologiques LFR, LA et RF.

La projection des onze populations étudiées dans le plan formé par les axes 1 et 2 (52,35%) de la variabilité totale montre une séparation des populations selon les deux axes ce qui indique une variabilité morphologique importante (figure 12). Quatre groupes de populations se sont formés : le premier groupe est formé par Azilal et Imi Ouddare, bien que ces deux populations soient éloignées géographiquement elles sont rapprochées génétiquement. Le deuxième groupe est constitué de Modj Issekssi et Lkbab. Tighssaline 2 et Aite Yahia Oussaade qui se regroupent pour former le troisième groupe. Le quatrième groupe renferme M'ritt, Bin El Ouidane, Tighssaline 1 et Tifrdine.

ii. Dendrogramme de classification :

Les résultats de l'ACP convergent en contrepartie avec les résultats de la classification hiérarchique qui a identifié trois grands groupes (Figure 12). Le premier groupe comprend Ait Yahya Oussaade, Tighssaline 2, Lkbab, Issekssi et Modj, le deuxième groupe inclut Imi Ouddare, Azilal, Tifrdine, Bin El Ouidane, Tighssaline 1, le troisième groupe comprend seulement M'ritt.

5) DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats de la présente étude ont mis en évidence une variabilité morphologique et pomologique de populations naturelles marocaines de *P. lentiscus*. Cela reflétait des différences insignifiantes entre les populations testées. Ce résultat était en accord avec l'étude de Barazani et al. (2003) qui ont signalé une grande variabilité au sein de l'espèce *P. lentiscus* dans la zone méditerranéenne.

Plusieurs études ont rapporté que la longueur des feuilles en général varie en fonction des conditions locales telles que la sécheresse (Jonasson et al., 1997 ; Ait Said et al., 2011) et le froid (Karimi et al., 2009). Karimi et coll. (2009) ont rapporté que les petites feuilles ont tendance à être plus abondantes dans les populations des régions froides. De plus, Ait Said et al. (2011) ont rapporté également que les plus petites feuilles étaient signalées dans les populations de *Pistacia* cultivées dans des sites arides. En général, les feuilles sont sensibles aux changements environnementaux et leurs caractéristiques telles que la couleur sont considérées comme un bon indicateur de l'appétence des arbustes fourragers (Chriyaa, 2009). En fait, la couleur des feuilles est fortement influencée par des facteurs éco-physiologiques (Belhadj et al., 2007).

Nos résultats ont montré que seulement 20% des feuilles par arbre contenaient des folioles terminales. Ce résultat est en accord avec le résultat précédent rapporté par Barazani et al. (2003) qui a montré l'absence des folioles terminales dans la majorité des feuilles observées. Nos résultats indiquent des corrélations entre les mesures des traits morphologiques et pomologiques. La longueur de la feuille était positivement corrélée à la longueur et le poids du fruit mais elle est corrélée négativement avec l'épaisseur de l'enveloppe du fruit. Cette constatation est conforme aux conclusions de Karimi et al. (2009) où une corrélation significative entre les caractéristiques de la feuille et les traits des noix a été observée. Les corrélations négatives pourraient être expliquées par effet de compensation entre le végétatif et le fruit. En règle générale, nos résultats pourraient suggérer que les populations de M'ritt et Bin El Ouidane sont performantes en ce qui concerne la production végétative (longueur de la feuille, largeur de feuille et nombre de folioles) tandis que les populations Tighassaline, Bin El Ouidane et Les tifrdines sont performantes en ce qui concerne les fruits (longueur du fruit, largeur des fruits, épaisseur de l'enveloppe). En revanche, la population d'El Kebab a montré des valeurs les moins souhaitables pour la plupart des caractéristiques mesurées. De plus, plusieurs populations de différentes provenances étaient plus semblables les unes aux autres et étaient dans le même groupe, comme Azilal du Moyen Atlas et Imi

Ouddar de la côte, M'rirt et Tighssaline du Moyen Atlas et Tifrdin et Bin El Ouidane du Haut Atlas. Cette constatation pourrait suggérer que les variations obtenues sont indépendantes de l'origine et de l'altitude de la montagne. Ces aboutissements scientifiques sont en discordance avec d'autres résultats obtenus au Maroc avec des espèces végétales telles que *Pinus halepensis* (Boulli et al. 2001) et *Pinus pinaster* (Wahid et al., 2009).

Pour les résultats précités, cette étude contribue à une meilleure connaissance de cette espèce au Maroc, permettant la sélection des populations les plus efficaces de point de vue stabilisation des écosystèmes dégradée. Afin d'avoir un bon aperçu de la diversité de *P. lentiscus*. Cette présente étude a besoin, pour l'approfondir, d'ultérieures études biochimiques et moléculaires.

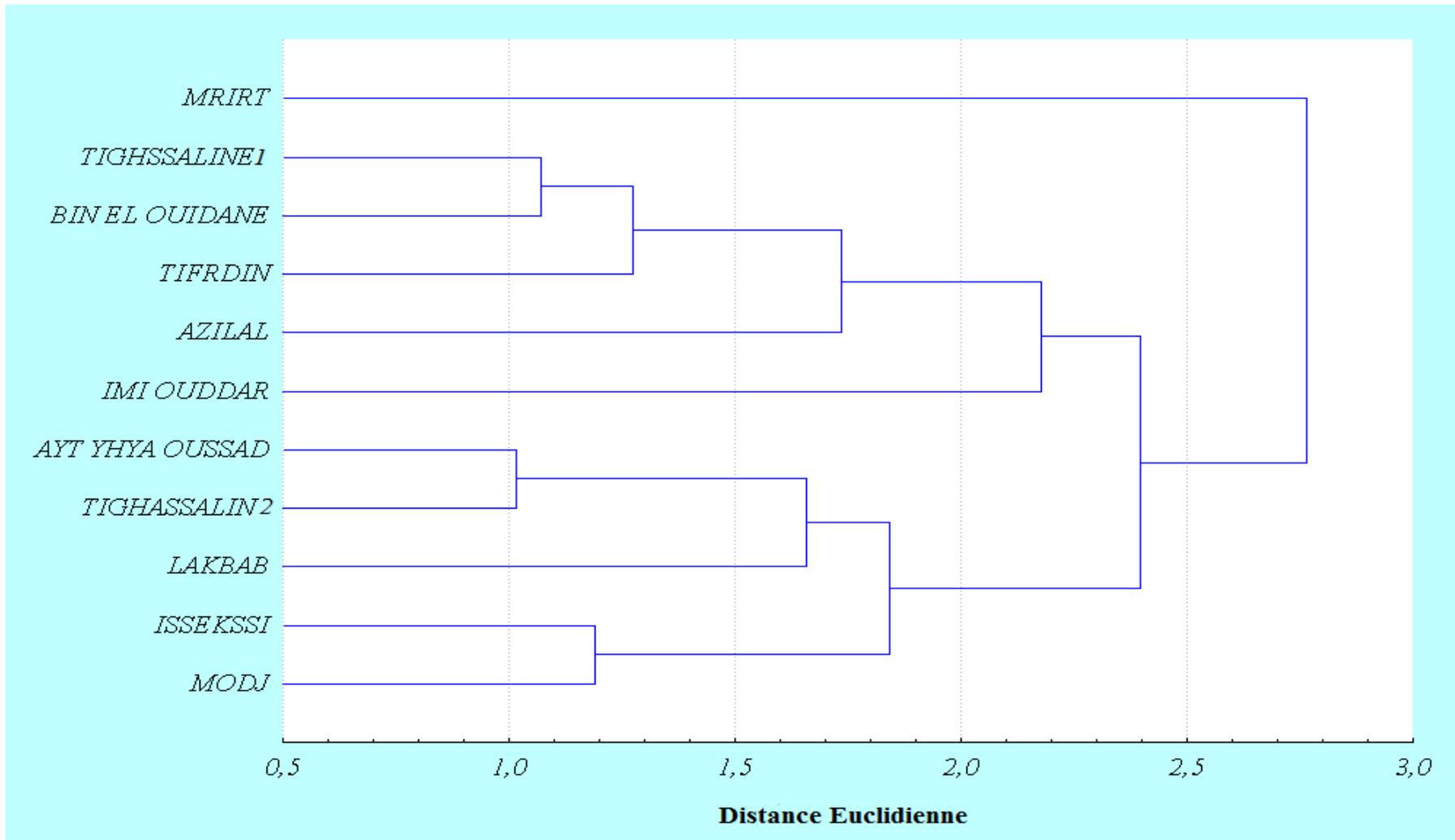


Figure 10 Classification hiérarchique de onze population de *Pistacia Lentiscus*, calculée à partir de vingt-quatre caractères morpho-pomologique

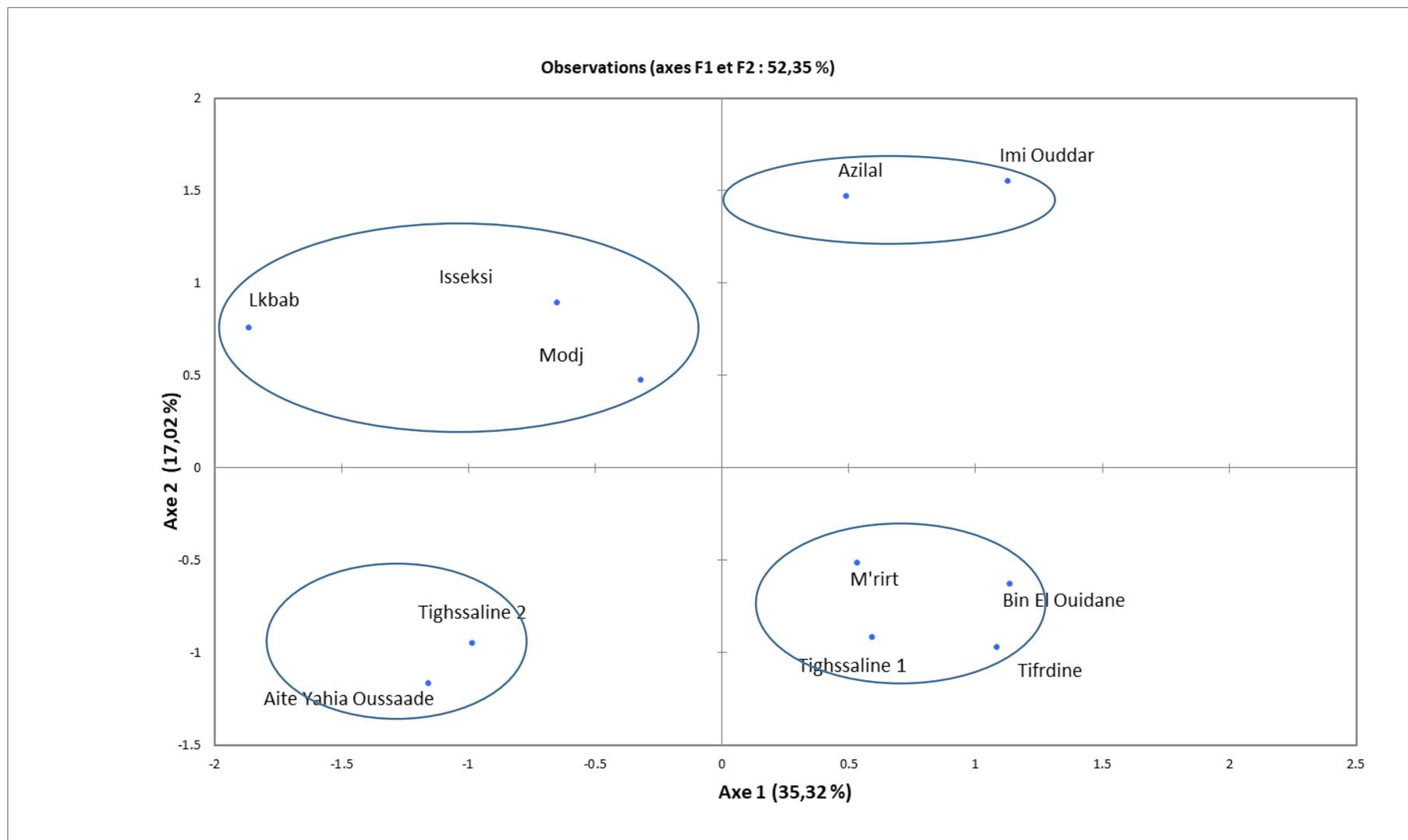


Figure 11 Représentation graphique des populations dans le plan 1-2 d'une analyse en composantes principales

**CHAPITRE 3:
CARACTERISATION
BIOCHIMIQUE DES
FEUILLES DU
LENTISQUE**

I. Matériel végétal :

Dans cette étude, les 11 populations étudiées par les paramètres morphologiques ont également pour l'analyse biochimique tableau 7. 3 arbres pour chacune des populations ont été échantillonnés aléatoirement. Des feuilles matures et saines sont collectées et conditionnées en sachets plastiques puis conservées à une température de -20°C jusqu'à leur utilisation. Au total 11 paramètres biochimiques liés aux feuilles ont été étudiés.

II. Caractérisation biochimiques des extraits des feuilles :

1) Détermination de la matière sèche (Humidité) :

i. Principe :

On a procédé à une dessiccation de l'échantillon à analyser au niveau d'une étuve à une température de 100°C à 105°C selon le protocole décrit par Simsek (2010) et par Ionica et al. (2013), sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare bien connue, placés dans un dessiccateur au moment de chaque manipulation.

ii. Expression des résultats :

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} (H) = (P - P_1) / M \cdot 100$$

P : masse en g de la prise d'essai avant séchage.

P₁ : masse en g de la prise d'essai après séchage.

M : masse du matériel biologique.

A partir de la teneur en eau, on détermine le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante (Audigie C.L and Dupont G., Principes des méthodes d'analyses biochimiques (1982):

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} (MS) = 100 - \text{teneur en eau (\%)}$$

2) Teneur en cendre :

i. Principe :

Le dosage des cendres brutes est réalisé suivant les instructions de la norme française (AFNOR, 1977). Une quantité connue d'échantillon est séchée à l'aide d'une étuve ventilée à une température de 105°C puis calcinée avec précaution dans un four à moufle à

une température voisine de **500°C**. La pesée du résidu obtenu, permet de calculer la teneur en cendres totales dans l'échantillon.

ii. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$\text{Taux de matière Minérale ou cendre (\%)} (MS) = \frac{m2-m0}{m1-m0} \times 100$$

Où :

m0 : masse du creuset (g)

m1 : masse du creuset-échantillon (g)

m2 : masse du creuset-échantillon calciné (g)

3) Teneur en matière organique :

A partir de la teneur en matière sèche et en cendres, on détermine le taux de matière organique qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Matière organique \% (MO)} = MS - MM$$

Où :

MS : la teneur en matière sèche en %

MM : la teneur en matière cendre en %

III. Détermination quantitative des métabolites primaires (Paramètres nutritionnels) :

1) Détermination de la teneur en matière grasse :

a. Principe :

L'extraction a été faite par solvant organique (**Hexane**), spécifique pour la détermination du taux de la matière grasse, cette opération a été réalisée avec un appareil de type Soxhlet pendant 8 heures.

A la fin de l'extraction, on peut admettre que toute la matière grasse est transférée dans le

Expression des résultats :

La quantité des huiles est déterminée par la différence de la masse de l'échantillon avant et après l'extraction par rapport à la masse initiale de l'échantillon. Selon la formule suivante :

$$\text{MG(\%)} = \frac{P1 - P2}{ME} * 100$$

Dont :

P2 : poids du ballon vide.

P1 : poids du ballon après évaporation.

ME : masse de la prise d'essai.

MG : taux de la matière grasse.

100 Pour exprimer le pourcentage.

2) Dosage des sucres totaux :

a. Extraction des sucres totaux solubles

Les sucres solubles vont être extraits en accord avec la méthode de **Babu** (M. S. S.S.V. Babu, 2002). Pour cette extraction, 0,5g d'échantillon (feuilles sèches) a été broyé avec 2 ml ($V_{\text{éthanol}}$) d'éthanol 80 % introduits par la suite dans des tubes adéquats à la centrifugation.

La centrifugation a été faite à 2000 tour pendant 40 min. Les surnageant vont être introduits par la suite dans des tubes eppendorfs et conservés à 4°C jusqu'à moment d'utilisation.

b. Dosage des sucres totaux solubles

Les sucres totaux solubles sont dosés par la méthode de **Dubois** (X. G. F. Dubois, 1956) ; 50 μ l d'extrait (V_{extrait}) ont été additionnés à 0,5 ml de phénol 5% et à 1,5 ml de solution d'acide sulfurique (H_2SO_4). Le mélange a été chauffé au bain marie à 100 °C pendant 5 mn. Après refroidissement dans la glace fondante, la densité optique (DO) a été lue à 485 nm.

Un étalon est construit grâce à une gamme de glucose d'une solution mère de 1 mg/mol. Les teneurs sont exprimées en mg/g de matière sèche. La formule est la suivante :

$$\text{La teneur en sucres} = (DO * V_{\text{éthanol}}) / (a * V_{\text{extrait}} * PF)$$

3) Dosage des protéines brutes : (Kjeldahl, 1883) :

a. Principe :

Pour déterminer la quantité des protéines contenues dans un échantillon, on procède à un dosage de l'azote total par la méthode de **Kjeldahl** qui a été développée en **1883** par un

chimiste danois « **Johan KJELDAHL** » (Kjeldhal J., Meue method lurk besyimmung des stichs offs in organischemkorpon. 1883). Cette dernière s'effectue en trois phases (Bradford 1976):

- Digestion (minéralisation) ;
- distillation ;
- titration.

b. Expression des résultats

L'azote total est calculé suivant la formule représentée ci- dessous :

$$\text{Azote total (N) (\%)} = \frac{(\mathbf{Vb} - \mathbf{Ve})\mathbf{F} * \mathbf{0.0014} * \mathbf{10}}{\mathbf{M}} * \mathbf{100}$$

Dont :

Vb: Volume de NaOH 0.1N utilisé pour un essai blanc (ml).

Ve : Volume de NaOH 0.1N utilisé pour la titration de la solution à doser (ml).

F : Facteur de correction.

100 : coefficient du pourcentage

10 : coefficient du volume total de la solution à doser

M : masse de la prise d'essai.

Le taux d'azote total est converti en taux de protéines brutes selon la formule suivante :

$$\text{Taux de protéines brutes (\%)} = \text{N total (\%)} * \mathbf{6,25}$$

D'où 6,25 est le facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines.

4) Teneur en fibres

a. Principe

Elle consiste à traiter l'échantillon à analyser successivement avec de l'acide sulfurique et de la potasse. L'hydrolyse acide/ basique (à chaud) permet de solubiliser la quasi-totalité du contenu cellulaire à l'exception des fibres alimentaires et des sels minéraux.

b. Expression des résultats

La teneur des fibres brutes est calculée par la formule présentée ci- dessous :

$$F \% = (M2 - M3) \times 100$$

F : pourcentage des fibres brutes

5) Estimation de la teneur en carbohydrates

La teneur en carbohydrates est estimée par la différence par rapport aux autres constituants : protéines, lipides, cendres et humidité (Grosso et al., 2000). La formule suivante permet de calculer le taux de carbohydrates.

$$\text{Carbohydrates (\%)} = 100 - (\text{Protéines (\%)} + \text{Lipides (\%)} + \text{Cendres (\%)})$$

6) Estimation de la valeur énergétique en kcal

La valeur énergétique est calculée par la multiplication et la sommation des valeurs obtenues pour les protéines, les carbohydrates et les lipides totaux multipliés par 4.00, 3.75 et 9.00 respectivement (Durucasu et Tokusoglu (2007). Les teneurs sont exprimées en kcal/g de matière sèche.

$$\text{Energie (kcal/100g)} = (4 \times \text{protéines (g)}) + (3.75 \times \text{carbohydrates (g)}) + (9 \times \text{lipides})$$

7) Analyses statistiques

Les données obtenues sont soumises à plusieurs analyses statistiques comprenant une analyse de variance (ANOVA) et une corrélation de Pearson ($\alpha = 0,05$) à l'aide du logiciel SPSS (IBM SPSS Statistics 25). Ensuite, l'ordination et la classification des populations sont effectuées par l'analyse en composantes principales (ACP) en utilisant le logiciel XLSTAT (2017) et l'analyse hiérarchique ascendante selon la méthode d'agrégation UPGMA par le SPSS (IBM SPSS Statistics 25).

IV. RESULTATS ET DISCUSSION :

1) Etude des paramètres biochimiques pris séparément :

a. Teneur en matière sèche et humidité

L'analyse de la variance a montré qu'il y a un effet significatif de la population pour les deux paramètres (MS et H) ($p > 0,05$) (Tableau 7). La teneur en matière sèche (MS) varie de 29.30% pour la provenance d'ayt Yahia Oussaad (AO) à 47.533 % pour la provenance de immioudar (IO), avec une moyenne générale de 39.26 %. Ces résultats sont en accord avec

ceux obtenu par EMILE et al pour des espèces forestières ligneuses avec un pourcentage de 36.9 % (Jean-Claude EMILE 2018) . Cependant, elles sont plus faibles que celle obtenue par MEBIROUK-BOUDECHICHE (2014) pour des populations algériennes 49.33 % concernant le taux d'humidité (H) varié de 52.467% à 70.70%. La valeur la plus élevée est enregistrée chez la provenance d'AYT YAHIA OUSSAAD, tandis que la population d'IMMIODAR (IO) présente la valeur la plus faible, avec une moyenne générale de 60.74 %. On note que le taux d'humidité obtenue chez les populations marocaine est plus élevé que la valeur obtenue chez les populations algériennes 49.33% , (S A Kadi et N Zirmi-Zembri, 2016).

b. Teneur en cendres

On constate que les résultats de la teneur en cendres (MM %) des 11 provenances sont comprise entre 3.00 %, enregistrée chez la provenance d'BINE OUDANE (BO), et 9.767 % pour LKBAB (LK), avec une moyenne générale de 5.17 %, et un coefficient de variation de 2.34 % (Tableau 9). Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Kadi et Zirmi-Zembri, (2016) pour le lentisque d'El Taref en Algérie. Mais les résultats reportés par MEBIROUK-BOUDECHICHE en 2014 et 2015 montrent une teneur un peu majeure des populations algérienne avec 8.17 %. (L. Mebirouk-Boudechiche, 2014). Mais ils sont inférieurs à ceux obtenues chez le *Panicum maximum* et *Pennisetum purpureum* 11.90% et 15.20%. (M.K. Ettian, 2018).

c. Teneur en matière organique

On constate que cette teneur est comprise entre 44.4 %, enregistrée chez la provenance d'IMMI OUDAR (IO) et 23.52 % pour AIT YAHIA OUSSAD (AO), avec une moyenne générale de 34.08 % (Tableau 9). Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Kadi et Zirmi-Zembri, 2016 pour le lentisque d'El Taref en Algérie. Cependant ils sont beaucoup plus inférieurs à celles des plantes tropical le *Panicum maximum* et *Pennisetum purpureum* avec une teneur de 92.48% et 92.78% (M.K. ETTIAN 2018).

d. Teneur en matière grasse total

L'extraction de l'huile contenue dans les feuilles du lentisque par l'hexane pour les onzes provenances étudiées a montré que la teneur la plus faible est obtenue chez la provenance Azilal (AZ) avec un taux de 12.98 %, et la teneur la plus élevée est enregistrées chez la population de Modj (MO) par 32.67 % avec une moyenne générale de 21.40 %, . ces valeurs sont plus élevés que celles trouvées chez des plantes fourragères tropicales tel

que le *Panicum maximum* et *Pennisetum purpureum* avec 2.50% et 2.10% successivement (M.K. Ettian, 2018).

e. Teneur en fibres brute

La teneur en fibres brute varie légèrement entre les différentes populations et variait de 16.03% à 23.80%, avec une moyenne générale de 20.84 % (Tableau 8). La teneur la plus élevée a été observée chez la population d'immouadar (IO), tandis que la teneur la plus faible était chez la population de Ait Yahia Oussaad (AO). Ces valeurs sont proches de celles du BOUDECHICHE, (2014) qui a obtenu 25.17% , inférieures de ceux rapportés par J-C Emile 37.7% en moyenne pour les espèces forestières fourragères , et similaires à ceux rapportés pour Ray-grass anglais fourrage var Neuville avec 23.00% , et supérieures à ceux de l'*Opuntia ficus indica* qui a 9.4% (Amira, 2015).

f. Teneur en protéines brutes :

La détermination de la teneur en protéine par la méthode de Kjeldhal a donné des valeurs qui varient pour la provenance de Ait Yahia Oussaad (AO) à 16.03 % et pour la provenance d'immouadar (IO) à 23.80%, avec une moyenne générale de 20.84 % et un coefficient de variation de 1.34%. En comparant ces résultats à ceux obtenus avec quelques espèces fourragères sauvages tel que l'*Atriplex nummularia* et *Leucaena leucocephala* , nous constatons presque la même teneur avec 20.40% et 20.30% de protéine brute. Mais par rapport à *Opuntia ficus indica* on trouve que ce dernier est beaucoup plus riche en protéine brute avec 31.10%. (Le Houérou, 1980, Nefzaoui and Chermiti, 1991, Speedy and Pugliese, 1992 ; Carter, 1994 ; D'Mello and Devendra, 1995).

g. Teneur en sucre total :

La teneur en sucres totaux chez les 11 provenances s'est étendue de 2.83% chez la provenance de Mrirte (Mr) à 28 % chez la population d'Issekssi (IS), avec une moyenne générale de 14.84 % et un coefficient de variation de 1.89%. Ces résultats sont inférieures à ceux obtenus chez le *Panicum maximum* et *Pennisetum purpureum* avec 49.37% et 36.20% (M.K. Ettian, 2018), et elles sont supérieures à ceux rapportés pour Dactyle fourrage avec 8.8%, ainsi que celles du Ray-grass anglais fourrage var Roskalia qui ont presque la même teneur en sucres totaux avec 15.4% (CTPS/GEVES 2021).

h. Teneur en matière azotée totale :

La teneur en matière azotée totale chez les 11 provenances s'est étendue entre 3.74 % chez la provenance d'Azilal (AZ) à 6.54 % chez la population de Mrirte (Mr), avec une moyenne générale de 5.43 % , et coefficient de variation de 1.34%. Nous constatons que

ces teneurs sont beaucoup moins élevées par rapport à celles obtenues par MEBIROUK-BOUDECHICHE pour la même espèce (*pistacia lentiscus*) (L.M BOUDECHICHE, 2014). Mais en la comparant avec d'autres espèces fourragères tel que *Robinia pseudoacacia* L. nous trouvons une ressemblance avec 20.6% de teneur en matière azoté total et 17.6% pour la luzerne (J.-C, Emile 2017).

i. Teneur en valeur énergétique

La valeur énergétique en kcal/100g de feuilles sèches du lentisque varie de 431,98kcal/100g chez la provenance d'Azilal (AZ) et 529,05kcal/100g chez la provenance de modj (MO), avec un pourcentage de variation de 1.10% (Tableau 9). Les provenances analysées se sont réparties en un groupe.

Tableau 7 Valeurs moyennes et statistiques descriptives des paramètres biochimiques primaire des feuilles en %MS

	Mrirte (MR)	Tighssaline I (Ti)	Lkbbab (LK)	Azilal (AZ°)	Moudj (MD)	Aite yahia oussad (AO)	Issekssi (IS)	Bien el oudane (BO)	Tiferdine (TF)	Immi oudar (IO)	Tighssaline II(TGH)	moyenne	F	cv
Ms	41,73±3,06	37,63±3,47	43,63±3,93	37,25±0,32	33,3±2,44	29,3±4,15	37±1,92	41,8±3,69	38,37±3,38	47,53±1,05	44,27±2,00	39,25	16,50	7,30
h	58,27±3,06	62,37±3,47	56,37±,39	62,75±0,32	66,7±2,44	70,7±4,15	63±1,92	58,2±3,69	61,63±3,38	52,47±1,05	55,73±2,00	60,74	16,50	11,29
MM	3,88±0,86	4,12±0,55	9,77±0,28	7,62±0,15	6,12±1,17	5,78±0,58	5,37±0,34	3,00±0,83	4,65±1,00	3,13±0,56	3,45±0,3	5,17	10,54*	2,34
MO	37,85±2,96	33,52±0,45	33,87±2,09	29,63±2,38	27,18±0,72	23,52±4,74	31,63±1,03	38,8±3,95	33,72±1,64	44,4±2,42	40,82±1,05	34,08	19,28	5,46
MG	24±4,36	20,17±3,15	17,5±2,05	12,98±1,03	32,67±3,40	18,75±7,11	29,18±8,20	23,45±2,56	20,33±2,57	15,6±1,53	20,77±2,04	21,40	5,90	3,29
FBR	23,5±2,36	16,2±2,65	20,9±5,60	20,17±3,32	23,67±6,81	16,03±2,86	22,8±4,54	22,33±8,25	20,13±4,48	23,8±4,44	19,73±1,65	20,84	1,04*	4,40
ST	2,70±0,79	18,33±1,29	21,77±3,15	9,33±2,30	16,10±2,43	10,07±0,75	28,00±5,50	20,83±1,29	5,33±0,42	12,53±8,00	18,17±1,19	14,83	15,70	1,89
MAT	6,54±4,35	6,07±4,44	5,6±3,73	3,74±2,49	5,14±3,42	5,6±3,73	6,07±4,04	5,6±3,73	5,14±3,42	5,6±3,73	4,67±3,11	5,43	0,08***	1,34
Pro	40,86±6,16	37,94±12,38	35,03±6,19	23,35±6,19	32,11±0,00	35,03±6,19	37,94±0,00	35,03±6,19	32,11±12,38	35,03±6,19	29,19±6,19	33,96	0,08***	1,34
carbohydrat (carb %)	8,98±8,24	17,51±13,59	20,84±13,76	43,77±2,09	14,92±2,62	26,84±7,96	12,63±0,92	22,24±1,24	27,34±10,69	27,39±12,20	32,42±8,53	23,17	0,02***	1,38
valeur enretique kal/100g	510,6±13,19	491,65±77,78	446,5±54,34	431,98±46,17	529,05±0,93	449,35±59,79	500,05±33,59	499,13±11,60	482±60,46	467,3±81,85	493,8±84,32	481,94	0,57**	1,10

Niveau de signification, * : P< 0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001.

2) Etude multivariée des paramètres biochimiques :

i. Matrice de corrélation

Le coefficient de corrélation de Pearson a été estimé entre les différents paramètres biochimiques étudiés (voir le tableau 10). Les résultats obtenus ont montré des corrélations positives entre les paramètres suivants :

- La teneur en matière sèche et la teneur en matière organique ($r = 0,938^{***}$),
- La teneur en matière azotée et la valeur énergétique ($r = 0,962^{***}$) et la teneur en carbohydate ($r = 0,609^{***}$),
- De même, des corrélations négatives et significatives ont été également observées entre les paramètres suivants :
- La teneur en matière organique et la teneur en matière minérale ($r = -0,542^{**}$),
- Le pourcentage de l'humidité et la teneur en matière organique ($r = -0,938^{**}$),

Nos résultats pour les corrélations existantes entre les paramètres étudiés sont comparables à ceux trouvés par Maamri et al, Pour la matière organique et matière minérale qui ont corrélé négativement (F Maamri 2015),

Les aliments énergétiques riches en matières organiques telles que MS, MO, MAT, MG, ST, FB, ont été des éléments révélateurs, apportant le potentiel énergétique nécessaire sous forme de calories pour le bon fonctionnement de l'organisme d'élevage. (M.K. ETTIAN 2018) ;

L'évaluation de la composition chimique de ce fourrage vert alimentaire montre qu'il fournit la plupart de tous les éléments nutritifs nécessaires aux animaux d'élevage en production (gestation, allaitement, croissance).

3) Analyse des composantes principales

L'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur les moyennes des 11 paramètres biochimiques. Les deux premiers axes absorbent 74,40% de la variation totale, ce qui démontre une grande structuration de la variabilité observée. L'axe 1 qui absorbe 43,01% de la diversité totale est défini positivement par la teneur en protéine, sucres totaux, matière azotée, valeur énergétique, fibre, matière organique et matière sèche. L'axe 2 (31,3%) la diversité totale est défini positivement par la teneur en carbohydrates et la matière organique et négativement par la teneur en matière grasse.

La représentation des populations étudiées sur le plan défini par les deux premiers axes est illustrée dans la figure 14. L'analyse de cette figure montre la formation de quatre groupes.

Quatre groupes ont été séparés. Le premier groupe (G.1) composé de deux populations (Bin el oudane et Mrirt), caractérisé par des valeurs élevées de matière sèche, des protéines et des fibres. Le deuxième groupe (G.2) est formé de trois populations (tighssaline II, immioudar et lkbab). Ce groupe se distingue par des valeurs élevées de cendres, en matière organique et en sucres totaux. Le troisième groupe (G.3) se composait de trois populations (azilal, ait yahia oussad et tifrdine) caractérisé par une faible quantité de matière azotée. Groupe (G.4) se composait de trois populations (tighssaline I, issekssi et modj) caractérisé par une faible teneur en matière organique. Cette analyse montre bien que la structuration des populations du lentisque marocain en quatre groupes s'opère indépendamment de leurs origines géographiques. Ce résultat est en accord avec celui obtenu dans la première partie de ce travail à l'aide de paramètres pomologiques et morphologiques.

4) Classification hiérarchique ascendante sur la base des variables biochimiques :

L'analyse de l'ensemble des données moyennes biochimiques mesurées chez les onze populations a permis d'obtenir un dendrogramme selon la méthode de Ward et la distance génétique City-block. Ce dendrogramme a conduit à identifier deux grands groupes (Figure 13). Le premier groupe se divise en deux sous-groupes, l'un (I.1) est contenu de population azilal, et l'autre (I.2) est composé des populations lkbab et ait yahia oussad. Le deuxième groupe a également été subdivisé en deux sous-groupes. Le premier sous-groupe (II.1) est formé de population de modj et le second sous-groupe (II.2) est composé de populations immioudar, mrirt, issekssi, tighssaline I, tifrdine, tighssaline II et bin el oudane.

Tableau 8 Coefficient de corrélation de Pearson de l'ensemble des paramètres biochimiques analysés

	matiere seche (MS%)	humidité(H%)	matiere minerale (MM%)	matiere organique (MO%)	matiere garsse (MG%)	fibres (FR%)	SUCRES SOLUBLES(SC%)	azote totale(N%)	proteine (PRO%)	valeur enrgetique kal/100g MS	carbohydrate (carb %)
matiere seche (MS%)	1										
humidité(H%)	-1,000*	1									
matiere minerale (MM%)	-0,217	0,217	1								
matiere organique (MO%)	0,938***	-,938***	-,542**	1							
matiere garsse (MG%)	-0,19	0,19	-0,157	-0,108*	1						
fibres (FR%)	0,314**	-0,314	-0,066	0,294	0,071	1					
SUCRES SOLUBLES(SC%)	0,081	-0,081	0,047	0,053	0,275	0,112	1				
azote totale(N%)	-0,021	0,021	0,011	-0,022	-0,13	0,281	0,016	1			
proteine (PRO%)	-0,021	0,021	0,011	-0,022	-0,13	0,281	0,016	1,000**	1		
valeur enrgetique kal/100g MS	-0,012	0,012	0,02	-0,018	-0,104	0,313	0,026	,962***	,962***	1	
carbohydrate (carb %)	0,028	-0,028	0,105	-0,013	-,397**	0,056	-0,076	,609**	,609**	,745**	1

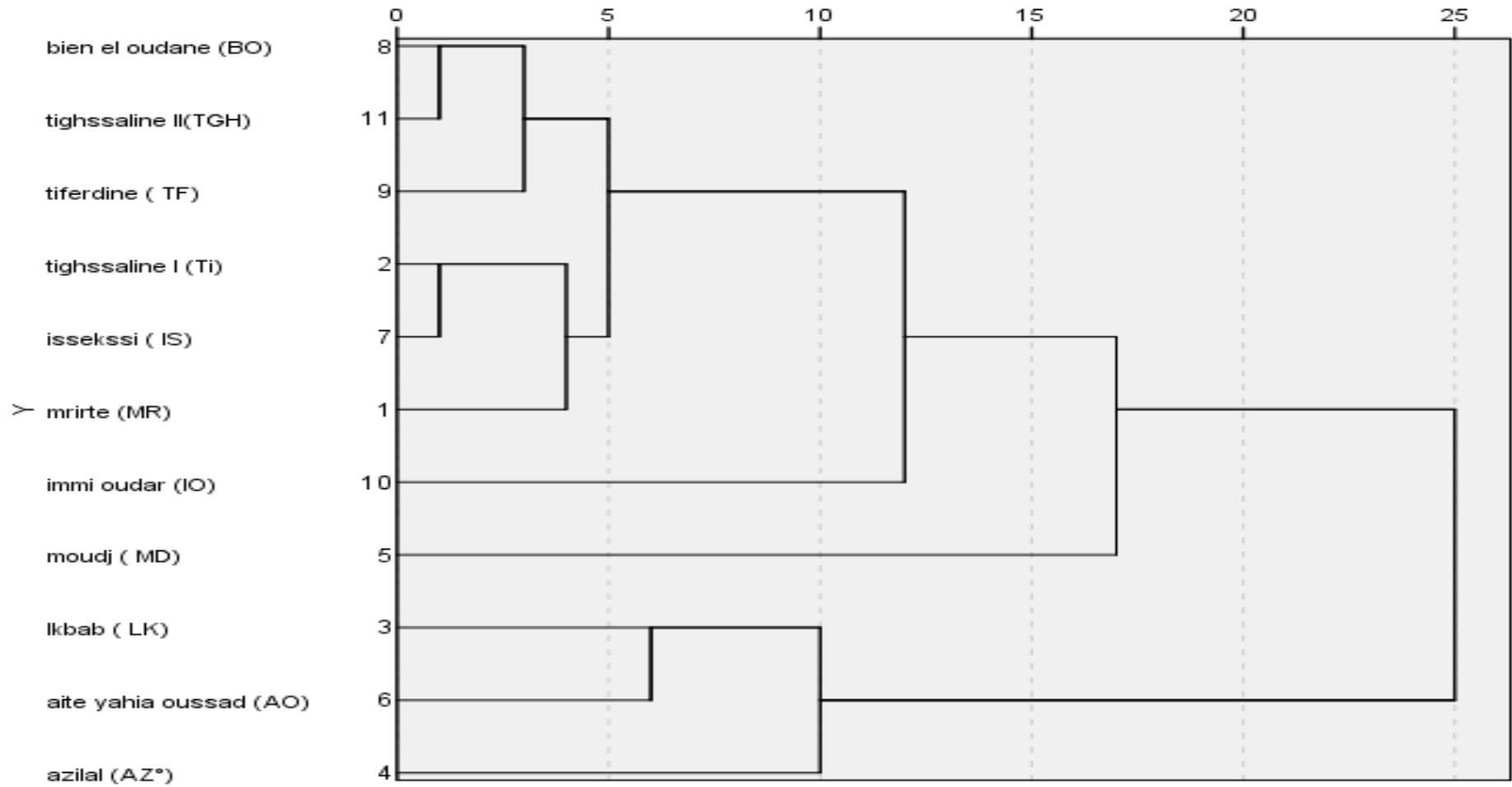


Figure 12 Dendrogramme généré par la méthode Ward de l'analyse biochimique des onze population marocains du lentisque .

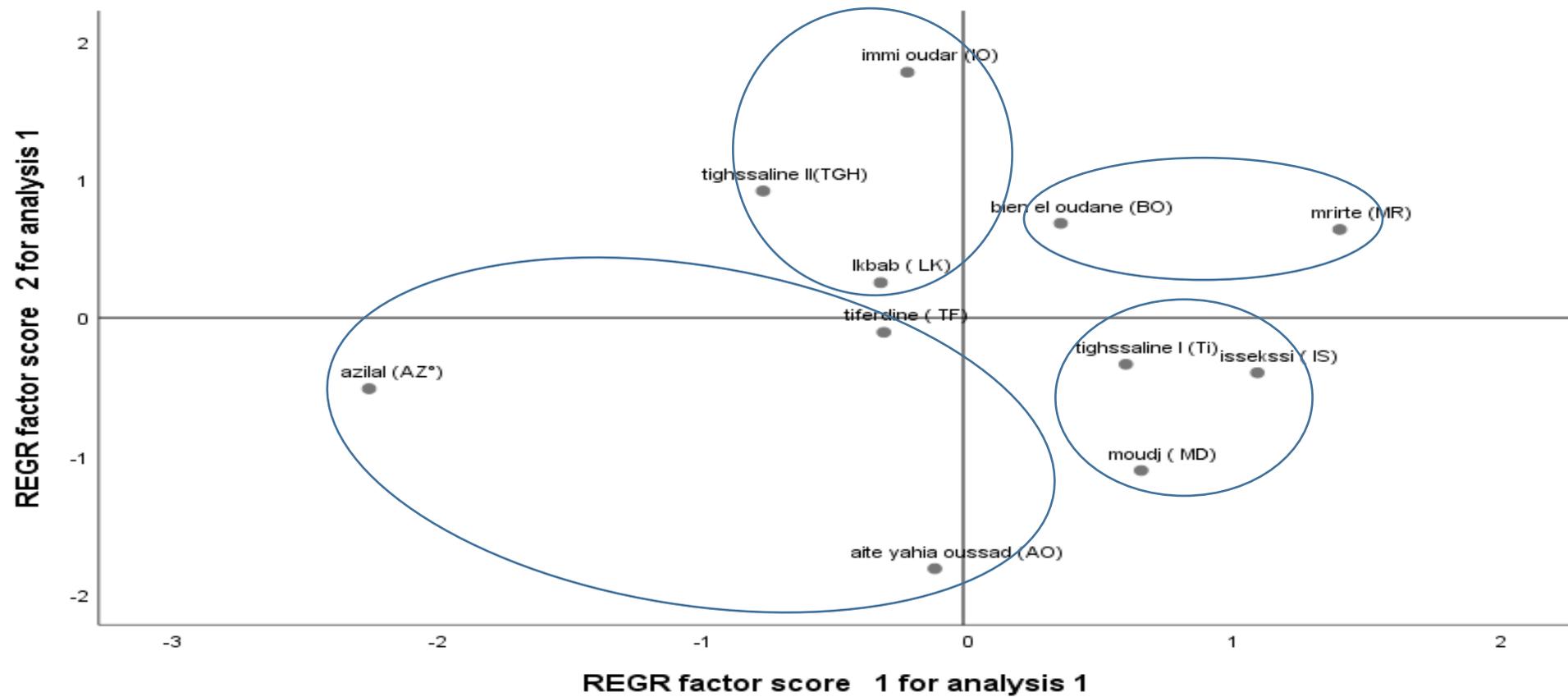


Figure 13 Analyse en composantes principales des onze population marocains du lentisque selon les différents paramètres biochimique

Conclusion

Les modèles présentés concernent un échantillon d'une espèce pastorale perçue comme palatable et reposant sur des paramètres de la composition chimique. La marge d'erreur reste relativement basse pour un apport d'information appréciable.

Cette première investigation confirme les résultats des méthodes classiques sur un nouveau matériel végétal, très peu étudié et provenant d'un milieu soumis à des contraintes écologiques sous l'effet des changements climatiques et de la désertification. Elle doit, cependant, être renforcée par des tests sur une gamme d'échantillons plus importants à différentes latitudes du pays. Ceci permettrait de créer une base de données sur la composition fourragère du *pistacia lentiscus* adaptée au contexte marocain et ainsi contribuer à apporter des solutions aux nombreux problèmes qui s'opposent à l'amélioration des performances de l'espèce et par conséquent le développement socioéconomique du milieu d'habitat de l'espèce.

**Chapitre 4 : ANALYSE DE LA
VARIABILITE ET LA
STRUCTURE GENETIQUE DES
POPULATION NATURELLES DU
LENTISQUE VIA LES
MARQUEURS MOLECULAIRES
ISSRs**

Après avoir entrepris une analyse des marqueurs pomomorphologiques et une caractérisation biochimique qui ont permis de montrer une large diversité génétique au sein des populations étudiées, nous avons cherché à consolider les résultats ainsi obtenus par l'exploration des marqueurs ISSRs (Inter Simple Sequence Repeats). Il s'agit d'analyser la variabilité génétique au niveau intra et inter-groupe et d'étudier les relations phylogéniques chez l'espèce *Pistacia lentiscus* marocain. Cette technique permet d'assurer une amplification des séquences flanquées par les motifs microsatellites et de générer un polymorphisme élevé en amplifiant diverses régions du génome (Winter et Kahl, 1995).

I. Matériel et méthode :

1) Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude de caractérisation moléculaire est collecté à partir de différentes régions du Maroc (Tableau 1). Ce matériel est constitué de 55 individus de *Pistacia lentiscus* qui ont été déjà utilisés pour analyser la diversité génétique à travers une caractérisation phénotypiques (Chapitre 2), une analyse des marqueurs biochimiques (Chapitre 3). Les jeunes feuilles ont été collectées à l'automne 2015 et mise dans des sacs en plastique avec des étiquettes illustrant le nom du cultivar et le numéro de l'individu, et par la suite conservées à -20 ° C jusqu'à l'extraction de l'ADN.

2) Extraction d'ADN :

L'extraction d'ADN génomique a été faite à partir des jeunes feuilles selon la méthode CTAB de Doyle et Doyle (1990). Cette méthode nécessite trois étapes importantes : Destruction des tissus par action physique et lyse chimique (un détergent, un tensioactif et un chélateur) afin de libérer l'ADN du noyau, par la suite élimination des protéines, des peptides, des polysaccharides et des composés phénoliques à l'aide des solvants organiques (chloroforme, alcool-isoamylique) et enfin précipitation sélective de l'ADN, en présence d'alcool.

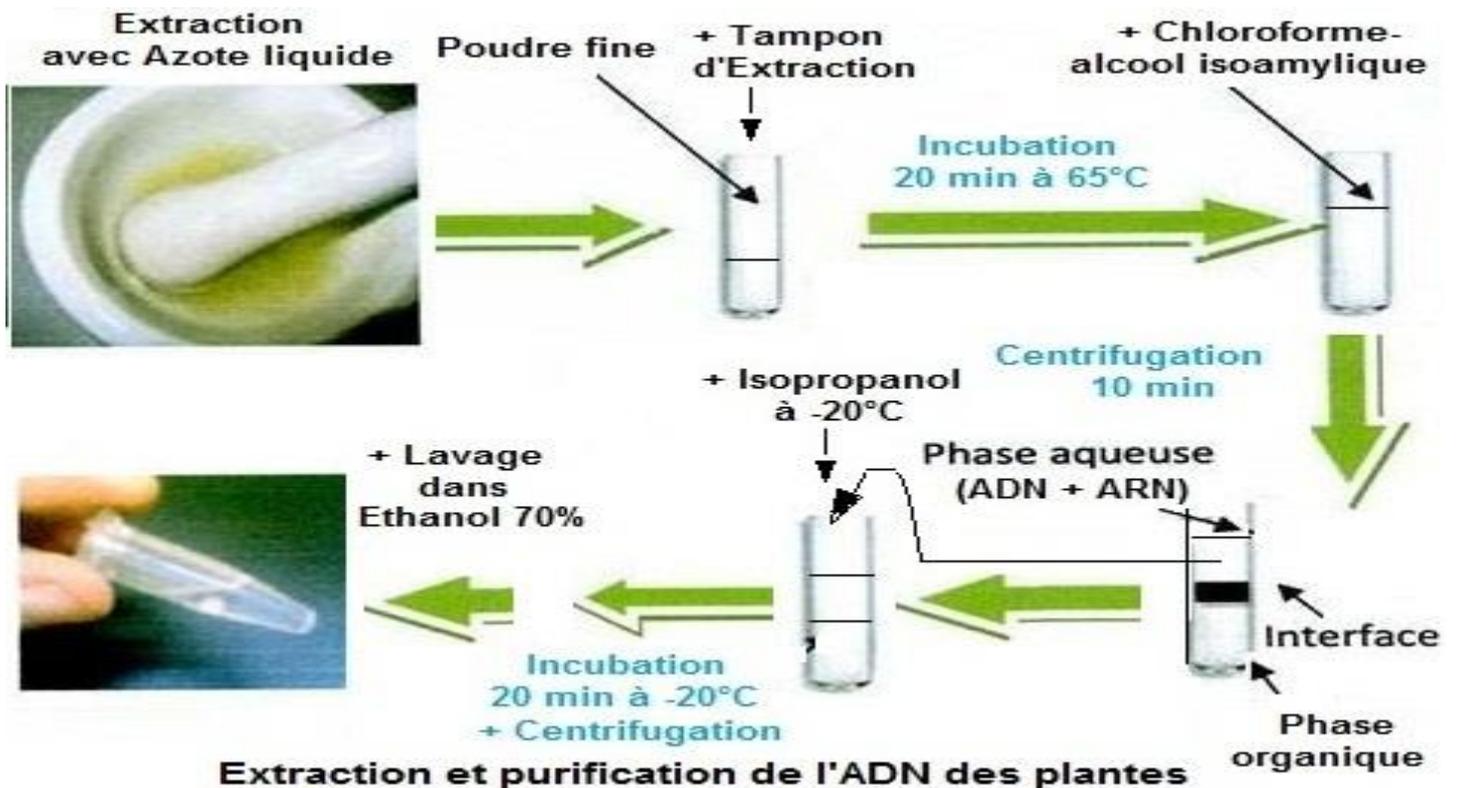


Figure 14 extraction et purification de l'ADN des plantes

3) Estimation de la quantité d'ADN :

La quantité et la qualité de l'ADN ont été estimées par dosage au spectrophotomètre. Sachant que le spectre d'absorption maximum de l'ADN se trouve à 260 nm. La concentration en ADN est déterminée en mesurant la DO (densité optique) au spectrophotomètre à la longueur d'onde 260 nm, avec une unité de DO correspondant à 50ng/μl (Sambrock et al. 1989)

La concentration d'ADN en (ng/μl) est obtenue par la formule suivante :

$$Ci = DO_{260} \times 50 \times \text{facteur de dilution}$$

4) Estimation de la pureté d'ADN

Le degré de pureté (qualité) de l'ADN a été estimé en mesurant la DO à 280 pour détecter des éventuels contaminants protéiques (les protéines absorbent à 280 nm). Ainsi le rapport entre ces deux mesures : DO_{260}/DO_{280} constitue un moyen évaluatif numérique permettant d'apprécier la qualité ou la pureté de l'extrait d'ADN.

D'après Sambrock et al. (1989) un échantillon d'ADN est qualifié de meilleur ou pur, lorsque le ratio DO_{260}/DO_{280} présente une valeur entre 1,8 et 2. Si ce rapport est

inférieur à 1,8 l'ADN est contaminé par des protéines. Si par contre, il est supérieur à 2, l'ADN est contaminé par le chloroforme.

5) Estimation de l'intégrité d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose

L'ADN possède une charge globale négative due aux groupements phosphates. Lorsqu'un mélange de fragments d'ADN est soumis à un champ électrique dans un gel d'agarose (0,8%), les fragments se séparent suivant leur taille : plus un fragment est grand, plus il sera retardé dans le réseau de mailles tridimensionnelles formé par la réticulation de l'agarose. Plus les molécules à étudier sont petites, plus on choisira une concentration en agarose élevée. La distance de migration des fragments linéaires est inversement proportionnelle au logarithme de leur taille.

Une bande de haut poids moléculaire indique que l'ADN génomique est non dégradé. Par contre une traînée est indicatrice de l'état dégradé de l'ADN extrait.

6) Procédures d'amplification

Avant de passer aux amplifications des amorces ISSR, tous les extraits d'ADN ont été ramenés à une concentration de 10 ng/ μ l, qui va être utilisée pour la préparation du mélange réactionnel.

La technique ISSR basée sur la réaction PCR, utilise des amorces à simple séquence répétée pour amplifier les régions ou nucléotides présentes dans les espaces inter-microsatellites (Zietkiewicz et al. 1994). L'amplification de l'ADN a été effectuée à l'aide d'un thermocycleur.

i. Mélange réactionnel

Après une série d'optimisation de la composition du milieu réactionnel, nous avons opté pour un mélange commun à l'ensemble des amorces et dont la composition est décrite dans le tableau VI. Les réactions PCR (Réaction en Chaîne par Polymérase) ont été faites dans un volume final de 12,5 μ l. tableau 11.

ii. Choix *des amorces*

L'obtention des profils d'amplification nécessite dans un premier temps de sélectionner des amorces (primer). 13 amorces ancrées en 3' et de séquence connues ont été utilisées pour l'amplification de l'ADN inter-microsatellite chez les 11 populations de pistachier (Tableau12). Ils sont constitués d'un motif microsatellite auquel s'ajoutent des nucléotides au niveau de l'extrémité 3' OH libre.

Tableau 9 Le mélange réactionnel de la réaction PCR

Réactifs	Concentration finale
Tampon réactionnel 5X	1X
MgCl ₂ 25mM	2.5 mM
Amorce 10mM	0.8 mM
dNTPS 10 µM	0.8 µM
ADN matrice 10 ng/µl	40ng
Taq polymérase 5U	0.625 U
Eau distillée	Qsp 12,5 µl

Tableau 10 Caractéristiques des amorces ISSR utilisées.

Amorce	Séquence 5'-3'	Ta (°C)
UBC 807	(AG) 8T	45,1
UBC 810	(GA) 8T	44,1
UBC 811	GA(AG) 7C	46,1
UBC 827	(AC) 8G	47,9
UBC 828	(TG) 8A	52,8
UBC 834	(AG) 8YT	47,6
UBC 836	(AG) 8YA	48,3
UBC 840	(GA)YT	46,5
UBC 841	(GA) 8YC	47,1
UBC 855	(AC) 8YT	45,5
UBC 861	(ACC) 6	52
UBC 868	(GGA) 6	50
UBC 889	BDB(AC) 7	34,3

iii. Optimisation du programme d'amplification de l'ISSR

Le programme d'amplification ISSR a connu aussi des optimisations, particulièrement la température d'hybridation de l'amorce. Pour ce faire, un PCR à gradient de température a été effectué afin de déterminer la température de recuit optimale (annealing temperature Ta) pour chaque amorce utilisée, et réduire par la suite les hybridations non spécifiques. Le

thermocycleur utilisé est capable d'exécuter un gradient de température à travers un bloc de 12 colonnes.

Pour ce faire, Il faut entrer la température la plus élevée correspondante à T_m de l'amorce et la température la plus basse correspondante à T_m-5 . Ensuite la machine fait le calcul pour des colonnes individuelles en augmentant la température par des incréments. Chaque colonne atteindra une température différente, la température la plus basse à gauche et la plus haute à droite. La PCR à gradient permet de tester jusqu'à 12 températures de recuit simultanément, au lieu de procéder à de nombreux tests avec différentes températures de recuit. 12 répétitions d'un même échantillon ont été utilisées pour la mise au point de T_a de chaque amorce. Par exemple en réalisant un gradient de température pour l'amorce UBC-818 avec T_m de 47.9°C (donc la basse T° est de 42.9°C et la haute T° est 47.9°C). Les résultats présentés dans la figure 16, montrent une meilleure amplification avec une température d'hybridation de 43.5°C . Par conséquent, cette température d'hybridation a été retenue pour les réactions PCR de l'amorce UBC818.



Figure 15 Photo a: Profil d'électrophorèse des 12 répétitions après amplification par PCR à gradient; Photo b: gradient de température en ($^\circ\text{C}$) affiché par le thermocycleur.

Pour chaque amorce un PCR à gradient de température a été effectué pour déterminer la température d'hybridation optimale. Ainsi les amplifications ont été réalisées selon le programme d'amplification décrit dans la figure 17.

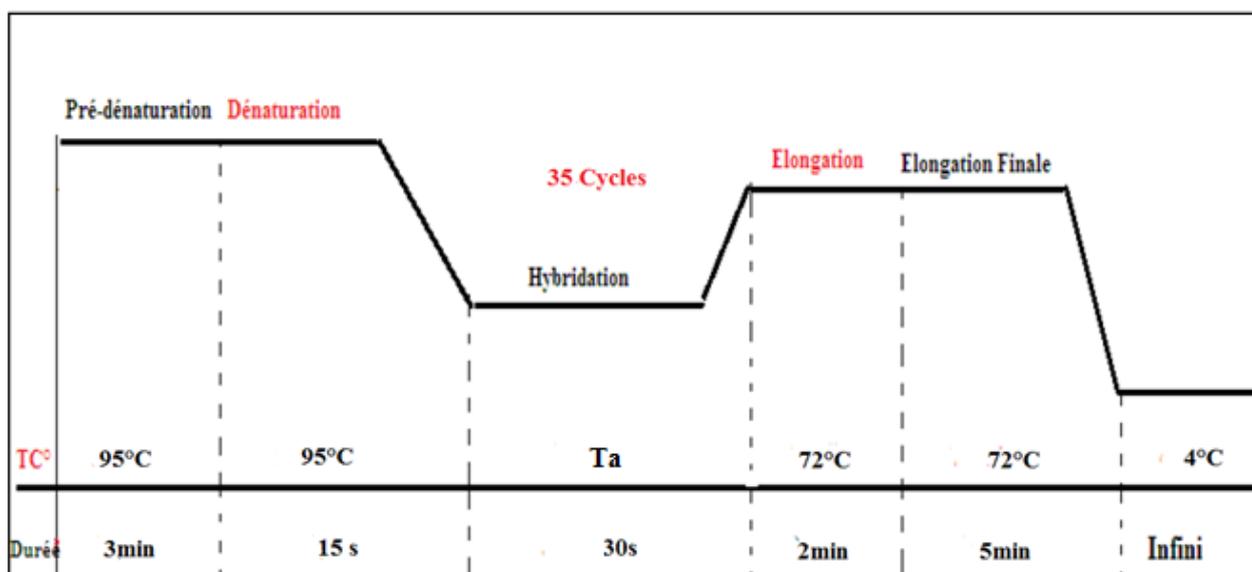


Figure 16 Caractéristiques du programme utilisé dans l'amplification ISSR de l'ADN

II. Analyse des données

La lecture des profils des amorces ISSR est réalisée sur la base de la présence ou l'absence de différentes bandes amplifiées chez les 55 individus analysés. Le chiffre « 1 » est attribué pour la présence de la bande et le chiffre « 0 » pour son absence. Ainsi une matrice binaire a été construite.

A partir de cette matrice binaire des données, nous avons calculé et comparé différents paramètres permettant d'analyser le polymorphisme intra et inter-populations et entre les groupes géographiques et bioclimatiques des populations.

III. Informatisée les marqueurs

Après la lecture des profils électrophorétiques obtenus pour chaque amorce, le nombre total des bandes amplifiées, le nombre des bandes polymorphe et le pourcentage du polymorphisme sont déterminés.

Pour évaluer la capacité des marqueurs ISSR utilisés à révéler le polymorphisme chez les populations étudiées, plusieurs mesures ont été effectuées.

1) Pourcentage de bandes polymorphes (PBP)

Pour chaque amorce ISSR, nous avons calculé le total des bandes amplifiées, le nombre de bandes polymorphes et le pourcentage de bandes polymorphes (PBP). Le PBP est le nombre de bandes polymorphes par rapport au nombre total de bandes révélées.

2) Contenu **informationnel** du polymorphisme (PIC)

La qualité d'un marqueur génétique peut être calculé par PIC (Polymorphism Information Content) (Botstein et al., 1980). L'indice du contenu informatif du polymorphisme permet de mesurer le taux d'informativité d'un marqueur génétique ou d'un gène en fonction des fréquences de chaque allèle dans une population. Il est calculé par la formule suivante (De Riek et al., 2001):

$$PIC = 1 - [f^2 + (1 - f)^2]$$

Où f est la fréquence du marqueur dans l'ensemble de données. Pour les marqueurs dominants, la valeur PIC maximale est de 0,5.

La valeur de PIC s'approche de zéro quand il n'y a aucune variation allélique.

3) Pouvoir résolutif (Rp)

Pour tester l'efficacité des amorces utilisées, le pouvoir résolutif (Rp) a été calculé. Le Rp a été estimé selon la formule de Gilbert et al. (1999) :

$$Rp = \sum Ib \quad \text{Avec} \quad Ib = 1 - 2 \times |0,5 - P|$$

Où P : la fréquence des individus possédant la bande I.

4) Rapport de multiplexe efficace (EMR)

Le rapport de multiplexe efficace ou l'EMR, est estimé à l'aide de l'équation décrit par Powell et al. (1996) :

$$EMR = n_p \left(\frac{n_p}{n} \right)$$

Où n_p est le nombre des bandes polymorphes et n est le nombre total des bandes.

On dit que le système « amorce-marqueur » est plus efficace lorsque la valeur est plus élevée.

5) Indice du marqueur (MI)

Pour chaque amorce le MI ou l'indice du marqueur est déterminé selon Powell et al. (1996) comme le produit de PIC et EMR pour balancer le taux de polymorphisme détecté.

$$MI = EMR \times PIC$$

IV. Analyse de la diversité génétique du lentisque marocain

Plusieurs paramètres ont été calculés pour décrire la diversité et l'identification de notre échantillonnage. A cet égard La matrice binaire a été utilisée par le programme POPGEN 1.32 (Francis et Yang, 1999).

1) Indice de la diversité de Nei

La diversité entre les cultivars peut être estimée par la mesure de l'index GST de Nei est également une mesure de différenciation génétique entre sous-populations (Nei, 1973). Lorsque les loci sont multialléliques, Nei utilise les indices suivants : la diversité génétique totale (HT) est la somme de la diversité génétique intrapopulation (HS) et de la diversité génétique interpopulations (DST) (Crossa et al., 1993). Les hétérozygoties HT et HS sont calculées sous l'hypothèse de Hardy Weinberg et dépendent strictement des fréquences alléliques observées. Le coefficient de différenciation génétique est calculé selon la formule suivante :

$$G_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T} = 1 - \frac{H_S}{H_T} = \frac{D_{ST}}{H_T}$$

2) Flux du gène (Nm)

Le flux génétique (Nm) ou le flux de gènes est un concept en génétique des populations qui fait référence au mouvement de gènes ou d'allèles entre des populations croisées d'une espèce particulière. Lorsque des membres d'un pool de gènes s'accouplent avec des membres d'un autre pool de gènes, cela peut modifier les fréquences des allèles, ayant comme résultat final l'homogénéisation des allèles entre des populations (Slatkin, 1985). A partir des valeurs de GST, le flux de gènes (Nm, où N représente la taille de la population totale et m la fraction de migrants par génération) entre les cultivars est estimé selon la formule suivante :

$$N_m = \frac{0,5 (1 - G_{ST})}{G_{ST}}$$

Plus la valeur de Nm est supérieure à 1, plus l'échange de gènes est important.

3) Indice de diversité de Shannon (I)

La diversité génétique au sein de chacune des populations étudiées est estimée par l'indice génétique de Shanon (I) et traduisant le degré de diversité d'une population

(Bussel, 1999). Plus sa valeur est élevée plus l'hétérozygotie de la population est importante (Shannon, 1948). Il est défini par la formule suivante :

$$I = 1 \times (p \times \ln(p) + q \times \ln(q))$$

Où q= (1-fréquence de la bande) 0.5 et p= 1-q

4) Distances génétiques et établissement des relations génétiques.

La détermination des distances génétiques entre populations permet d'évaluer le degré de ressemblance de leurs structures génétiques. Pour calculer les distances génétiques entre les populations du lentisque étudiées en utilisant la distance de Nei (Nei, 1978), la matrice des données a été soumise au logiciel POPGEN (version 1.32). Le dendrogramme peut être construit sur la base des distances génétiques entre les cultivars. Il permet de visualiser les regroupements possibles, et en répartissant des entités en groupes (classes) homogènes, chaque groupe étant bien différencié des autres. Ainsi, pour l'établissement de la structure génétique des cultivars étudiés, un dendrogramme a été construit via la méthode UPGMA sur la base du coefficient de Dice en tant que distance génétique (Rohlf, 1998) en utilisant le programme informatique NTSYS PC version 2.02.

5) Test de corrélation de Mantel

L'objectif souhaité a été de rechercher si la répartition des populations du lentisque étudiées était associée à leur distribution géographique. Pour ce faire, le test de Mantel qui évalue la corrélation entre deux matrices de ressemblance a été effectué (Mantel, 1967). Dans notre étude, la corrélation entre une matrice de distances génétiques et une matrice de distances géographiques a été calculée grâce au programme Mx Comp de NTSYS PC version 2.02g.

6) Analyse de la structure génétique des populations du lentisque marocain étudiées.

Pour la détermination du nombre de groupes présents dans l'échantillon et l'assignation des populations à ces groupes une méthode bayésienne a été utilisée. Une des premières méthodes basées sur un modèle explicite permettant de détecter la structure génétique des populations a été proposée par Pritchard et al. (2000) ; elle est implémentée dans la première version du logiciel STRUCTURE. Il s'agit d'un modèle hiérarchique bayésien qui constitue la base de nombreuses méthodes actuelles. Le modèle de STRUCTURE suppose l'existence de K populations (non prédéfinies), et chacune d'entre elles sont caractérisée à chaque locus par un ensemble de fréquences alléliques. Pour cela,

nous avons effectué l'analyse par la méthode de STRUCTURE en utilisant le modèle admixture (Mélange des populations) avec l'option fréquences des allèles corrélées (Falush et al., 2003). La longueur de la période initiale « burn-in » a été réglée à 50000 pour un nombre total de permutations MCMC (Markov Chain Monte Carlo) de 1000 pour un nombre de clusters (K) allant de 2 à 11 avec 20 répétitions indépendantes pour chaque K. Pour identifier le nombre optimal K expliquant la structure génétique des cultivars, nous avons utilisé le logiciel Structure Harvester (Earl & vonHoldt, 2012) est un des logiciels implantés dans internet (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/#>). Ce site web a permis de calculer l'indice ad-hoc ΔK d'Evanno et al. (2005) à partir des fichiers zippés des résultats obtenus avec STRUCTURE. Pour obtenir un alignement optimal des exécutions indépendantes, le programme CLUMPP version 1.1.2 (Jakobsson & Rosenberg, 2007) a été utilisé pour calculer la similitude moyenne par paire (H') des exécutions. La représentation des résultats a été réalisée avec le logiciel DISTRUCT (Rosenberg, 2004).

V. Résultats et discussion

1) Quantification et qualité d'ADN extrait

La quantification d'ADN extrait par spectrophotométrie a permis de donner des concentrations comprises entre 75 ng/ μ l et 1620 ng/ μ l ainsi que le calcul du rapport DO260nm/DO280nm a donné des valeurs comprises entre 0,9 et 1,9. Ces résultats signifient que l'ADN extrait à partir des échantillons étudiés est suffisant de point de vue quantitatif et qualitatif (pureté d'ADN) pour les réactions d'amplification des ISSRs.

En outre, l'estimation de l'intégrité d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose (0.8%) montre que le profil électrophorétique comporte des bandes claires à haut poids moléculaire, indiquant que l'ADN extrait au cours de cette étude est non dégradé. (Figure 18).

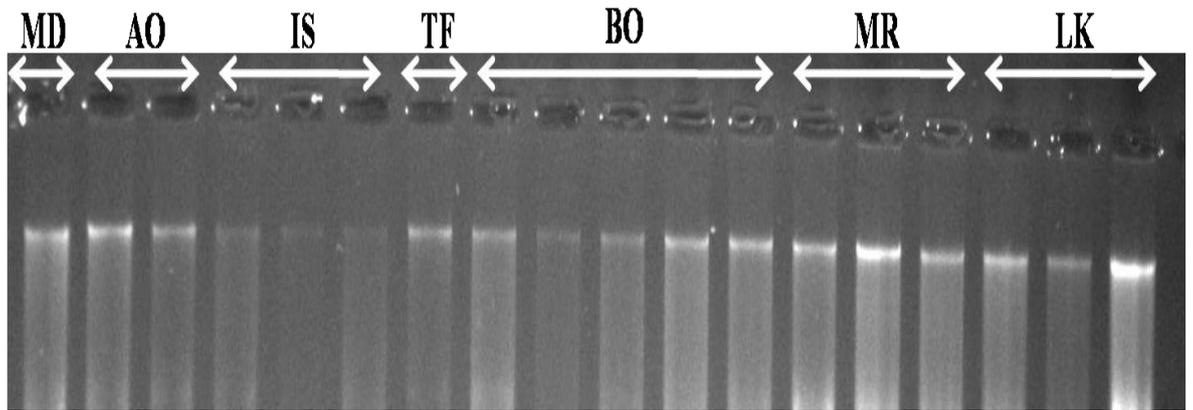


Figure 17 : Profil électrophorétique d'ADN extraite sur gel d'agarose 0.8% MD : Modj ; AO : Ait Yahya Oussaed ; IS : Issekssi ; LK : Lkbab ; TF : Tifrdine BO : Bin El Ouidane ; MR : Mrirte

2) Polymorphisme des marqueurs ISSR

L'optimisation du mélange réactionnel de la PCR et du programme d'amplification a donné des profils nets et de bonne qualité.

Les figures 19 et 20 témoignent de la clarté des marqueurs et la diversité révélée par les amorces UBC 807 et UBC 827.

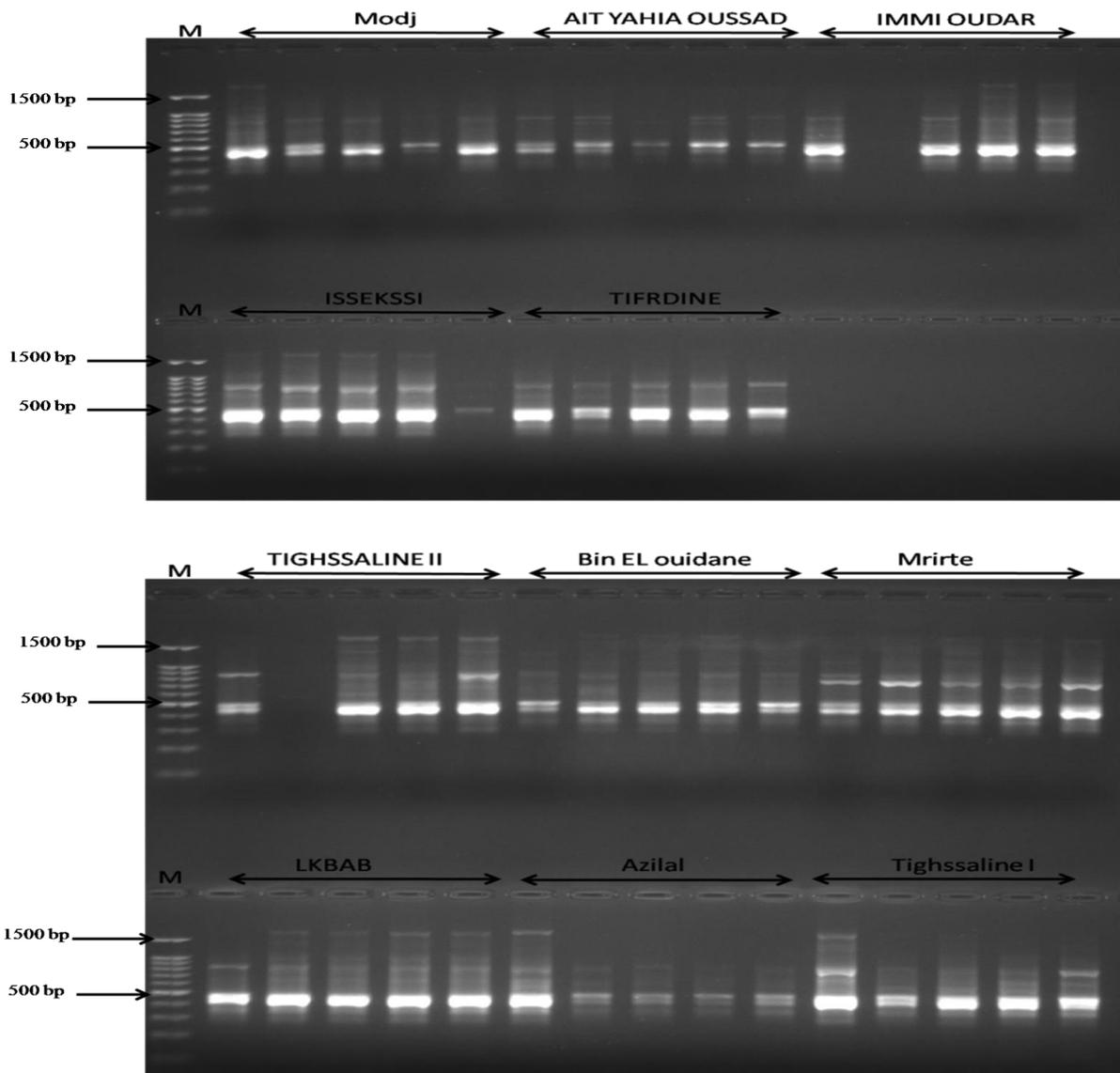


Figure 18 Profil électrophorétique d'ADN des 11 populations (55 individus) amplifié par l'amorce UBC807.M : marqueur de poids moléculaire

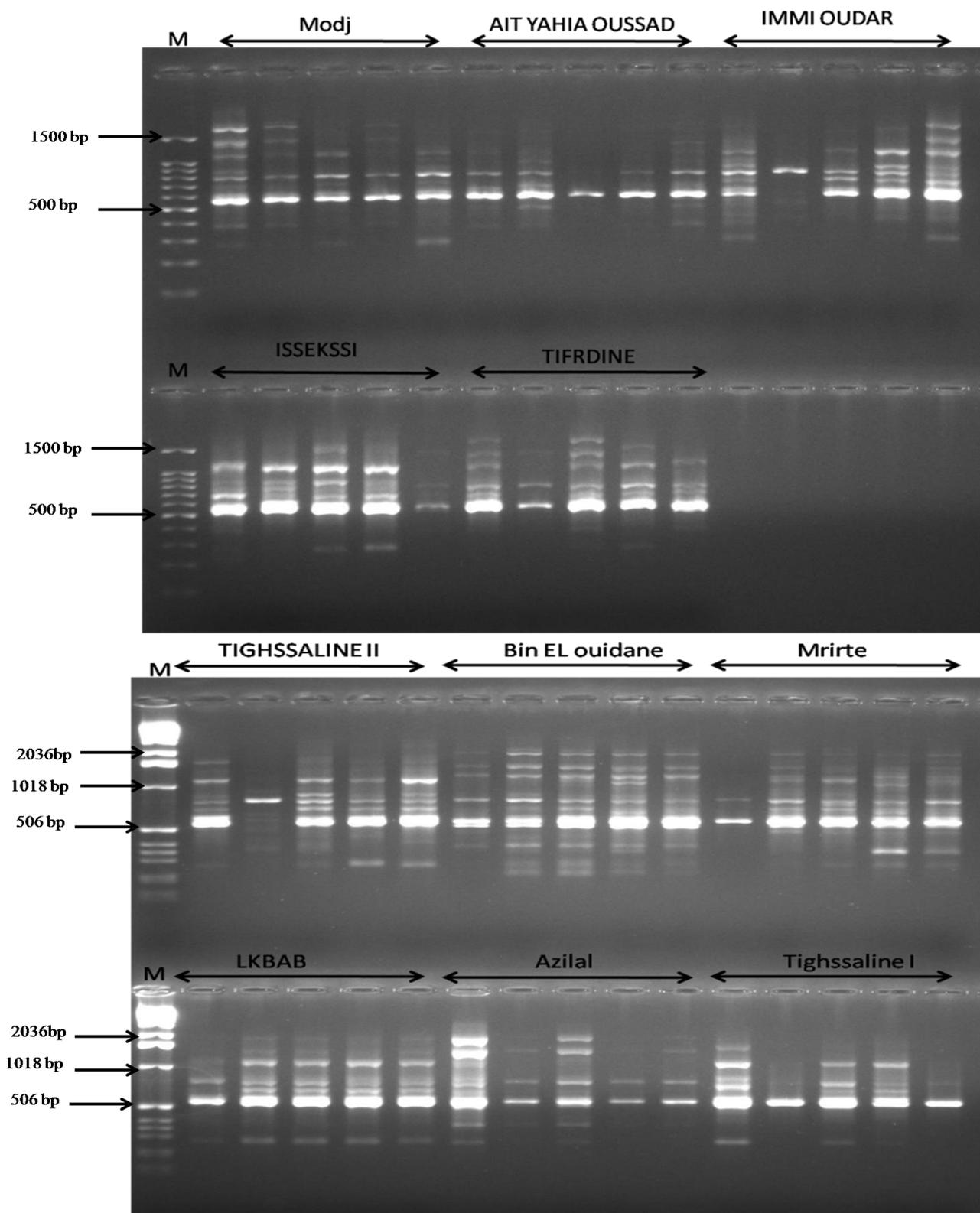


Figure 19 Profil électrophorétique d'ADN des 11 populations (55 individus) amplifié par l'amorce UBC827. M : marqueur de poids moléculaire

Un total de 121 bandes a été obtenu par les treize amorces ISSR pour toutes les populations étudiées (**Tableau13**). Parmi ces bandes, 110 se sont polymorphes ce qui correspond à un pourcentage des bandes polymorphes de 98,4% renseignent sur l'existence d'une importante variabilité génétique chez cette espèce. Le nombre de bandes polymorphes, varie de 5 (UBC807) à 13 (UBC861) avec une moyenne de 8 bandes par amorce. Le maximum des bandes a été généré en présence de l'amorce UBC868 indiquant que ce dernier est très efficace pour explorer le polymorphisme de l'ADN au sein des populations étudiées.

Les marqueurs moléculaires utilisés dans le présent travail représentent un outil efficace et important pour l'analyse génétique du Pistachier. En effet ils ont révélé un grand polymorphisme (91.21%) chez les individus des populations étudiées, ce pourcentage est supérieur à ceux trouvés dans des études menées sur d'autres espèces à savoir 91% pour le Noyer marocain (kabiri et al. 2019). Par contre, ce pourcentage est relativement inférieur à celui rapporté chez *Olea Europaea* (100%), (Hess et al. 2000) et 95% pour le prunier (Goulao et al. 2001).

En outre, l'efficacité des amorces à différencier entre les populations étudiées a également été abordée en estimant le contenu informatif du polymorphisme (PIC) et le pouvoir résolutif (RP). L'estimation du (PIC) montre des valeurs variant de 0,74 pour UBC 807 à 0,90 pour UBC 861 avec une moyenne de 0,79 (**Tableau 13**). Ce résultat témoigne de la puissance de ces amorces pour différencier entre les populations du pistachier. Selon Botstein et al. (1980), une valeur de PIC supérieure à 0,50 indique un locus très informatif. La valeur moyenne du PIC obtenue au cours de cette étude est relativement inférieure à celle trouvé chez le grenadier marocain (Ajal et al.2014) (PIC= 0,95), par contre le PIC détecté est plus important que ceux trouvés dans d'autres études en utilisant des marqueurs SSR à savoir, l'étude d'Ebrahimi et al. (2016), sur la diversité génétique de différentes accessions du Noyer à travers le monde (PIC= 0,67). Ainsi, les valeurs obtenues au cours de ce travail montrent une variation génétique considérable du Pistachier lentisque marocain, qui devrait considérée pour les futurs programmes de sélection et de conservation.

Le pouvoir résolutif (RP), qu'est un paramètre utilisé pour déterminer la capacité des amorces à différencier les populations, a enregistré des valeurs s'étendant de 2,18 (UBC 807) à 9,53 (UBC 868). Prevost et Wilkinson (1999) ont rapporté une relation linéaire forte entre la capacité d'une amorce à distinguer entre les génotypes et les Rp. Dans la présente étude, la

valeur moyenne obtenue de R_p pour les amorces ISSR utilisées était de 4,89 (Tableau 13). Cette valeur est supérieure à celle trouvée par Noor Shar et al. (2016) ($R_p = 2,37$) chez le Noyer indien par les marqueurs SSR, mais elle est inférieure à celle rapportée chez le Noyer marocain par des marqueurs ISSR (Kabiri et al. 2019) ($R_p = 4,91$).

A partir de ces résultats, on peut conclure d'une part, l'existence d'un important polymorphisme moyennant des marqueurs ISSR et d'autre part, la grande capacité de ces marqueurs dans l'estimation de la diversité génétique entre les populations étudiées.

Tableau 11 Paramètres de la variation génétique révélé par les 13 amorces ISSR

Ta : Température d'hybridation ; **PBP** : Pourcentage des bandes polymorphes **I** : L'indice de la diversité de Shannon ; **Ht** : la diversité génétique totale ; **RP** : le pouvoir résolutif ; **PIC** : Contenu informatif du polymorphisme.

Amorce	Sequence	Ta (°C)	Size range (bp)	Total number of bands	Number of polymorphic bands	PBP (%)	PIC	Rp	EMR	MI
UBC 807	(AG) 8T	45,1	1500-400	5	5	100,00	0,74	2,18	5,00	3,70
UBC 810	(GA) 8T	44,1	1800	7	7	100,00	0,83	4,18	7,00	5,81
UBC 811	GA(AG) 7C	46,1	1500-450	8	7	83,33	0,84	2,87	6,13	5,15
UBC 827	(AC) 8G	47,9	2036-396	9	9	100,00	0,83	3,40	9,00	7,47
UBC 828	(TG) 8A	52,8	1800-506,5	8	4	50,00	0,23	4,36	2,00	0,46
UBC 834	(AG) 8YT	47,6	1800-298	10	10	100,00	0,81	3,63	10,00	8,10
UBC 836	(AG) 8YA	48,3	1400-300	9	9	100,00	0,83	4,54	9,00	7,47
UBC 840	(GA)YT	46,5	1400-300	8	8	100,00	0,80	2,80	8,00	6,40
UBC 841	(GA) 8YC	47,1	1800-310	9	9	100,00	0,86	5,85	9,00	7,74
UBC 855	(AC) 8YT	45,5	1636	12	8	66,67	0,88	6,65	5,33	4,69
UBC 861	(ACC) 6	52	1700-310	13	13	100,00	0,90	8,11	13,00	11,70
UBC 868	(GGA) 6	50	1600-350	14	12	85,71	0,91	9,53	10,29	9,36
UBC 889	BDB(AC) 7	34,3	1500-450	9	9	100,00	0,86	5,52	9,00	7,74
Moyenne					8	91,21	0,79	4,89	7,90	6,60
Total				121	110	-	-	-	-	-

3) Diversité génétique des populations

i. Indice de Shannon (I) et diversité génétique totale(Ht)

L'indice de la diversité de Shannon a enregistré des valeurs comprises entre 0,26 pour l'amorce UBC 840 et 0,55 pour l'amorce UBC 861 avec une moyenne de 0,47 (Tableau 14).

En outre, les résultats montrent une grande valeur de la diversité génétique totale (Ht= 0,31) ce qui indique la présence d'une variabilité génétique très importante chez le lentisque.

La grande diversité génétique obtenue au sein du pistachier lentisque marocain est en accord avec la tendance générale des espèces ligneuses pérennes (Ht= 0,28 obtenue de 175 études) et des angiospermes (Ht=0,28 obtenue de 73 études) (Hamrik et al. 1992).

Tableau 12 paramètre d'estimation de la diversité génétique entre individus

	Locus	Gst	Nm	Ht	Hs	Fst	I
1	UBC 807	0,44	0,83	0,33	0,19	0,42	0,50
2	UBC 810	0,53	0,75	0,37	0,17	0,53	0,54
3	UBC 811	0,50	0,47	0,28	0,13	0,54	0,43
4	UBC 827	0,35	1,43	0,28	0,17	0,38	0,46
5	UBC 828	0,42	0,76	0,3	0,18	0,40	0,47
6	UBC 834	0,30	1,59	0,22	0,19	0,14	0,34
7	UBC 836	0,50	0,70	0,28	0,10	0,63	0,42
8	UBC 840	0,22	1,50	0,16	0,13	0,17	0,26
9	UBC 841	0,55	0,50	0,37	0,22	0,40	0,55
10	UBC 855	0,38	1,66	0,34	0,16	0,54	0,50
11	UBC 861	0,47	0,78	0,34	0,15	0,56	0,55
12	UBC 868	0,43	0,86	0,38	0,25	0,34	0,54
13	UBC 889	0,52	0,58	0,36	0,20	0,45	0,53
Average		0,43	0,95	0,31	0,17	0,42	0,47

4) Analyse de la variance moléculaire

L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a montré que 42,4 % ($F_{st}= 0,424$) de la variabilité génétique se trouve entre les populations alors que 57,24 % se trouve au sein des populations (Tableau 15). D'après Hamrick et al (1992), la plupart de la variation génétique des espèces allogames anémophiles réside au niveau intrapopulation. En effet, le pistachier lentisque est une espèce allogame à pollinisation anémophile (Hans, 2007).

La valeur de F_{st} obtenue au cours de ce travail ($F_{st}= 0,427$) indique que les populations sont très largement différenciées ce qui est en concordance avec la valeur faible du flux du gène ($Nem=0,42$). En effet, Wright (1951) a suggéré qu'une valeur de F_{st} comprise entre 0 - 0,05 indique une faible différenciation, 0,05 - 0,15: différenciation modérée, 0,15 - 0,25: grande différenciation et plus de 0,25 indique une très grande différenciation. Un résultat similaire a été révélé chez les populations naturelles d'*Atriplex halimus* ($F_{st}= 0,33$) par Bouda et al. (2013, 2019). En utilisant les marqueurs RAPD et les séquences nucléotidiques de l'ADN ribosomique.

Le flux du gène estimé entre populations est très faible ce qui indique la présence d'un manque de brassage génétique qu'on pourrait expliquer par des facteurs écologiques reliées à l'éloignement et l'isolement des populations étudiées.

Les résultats de l'AMOVA hiérarchique ont montré un faible pourcentage de variation génétique entre les groupes géographiques (3,76%) (Haut Atlas, Moyen Atlas et Littorale) et bioclimatiques (-0,94%) (Humide, Semi- Aride et Aride) des populations (Tableau 15). Ce résultat indique que le bioclimat et l'origine géographique n'ont pas eu un effet sur la structuration génétique des populations étudiées. Ceci laisse penser à l'absence d'une adaptation locale de ces populations aux conditions du milieu.

Tableau 13 Analyse de la variance moléculaire et F- statistique entre les populations et les groupes géographiques et bioclimatiques

Source de variation	d.f.	Somme des carrés	Variance components	Percentage of variation	F- Statistique
Total					
Inter- populations	10	156.455	2.46818 va	42.76	
Intra- populations	44	145.4	3.30455 vb	57.24	F _{ST} = 0.42
Hierarchical					
Inter- groupes géographiques	2	36.895	0.22014 va	3.76	F _{CT} = 0.03761
Inter-populations au sein du groupe	8	119.56	2.32809 vb	39.78	F _{SC} = 0.41332
Inter- populations	44	145.4	3.30455 vc	56.46	F _{ST} = 0.43539
Inter groupes bioclimatic	2	30.543	-0.05409 va	-0.94	F _{CT} =-0.0943
Inter populations au sein groupes	8	125.911	2.48687 vb	43.35	F _{SC} =0.42941
inter populations	44	145.4	3.30455 vc	57.6	F _{ST} = 0.42403
Total	54	301.854	5.73		

Au cours de cette étude, nous avons aussi déterminé les indices de FST spécifiques à chaque population (**Tableau 16**). Les résultats ont montré que la valeur la plus élevée a été enregistrée chez la population LKBAB (FST= 0,447). Ce résultat signifie que cette population est la plus divergente ou différenciée du reste. A l'encontre, la population IMMI OUDARE a obtenu la plus faible valeur de FST (0,325) indiquant qu'elle est la moins différenciée des restantes.

Tableau 14 Indices des FST spécifiques aux populations étudiées

Population	code	F _{ST}
Modj	MO	0.334
Ait Yahya Oused	AO	0.397
IMMI Oudar	IO	0.325
Issekssi	IS	0.372
Tifardine	TF	0.372
Tighssaline II	TII	0.403
Bin El Ouidane	BO	0.416
Mrirte	MR	0.384
lkbab	LK	0.447
Azilal	AZ	0.409
Tighssaline I	TI	0.397

5) **Relation et structure génétique des populations**

Dans le but de déterminer les relations génétiques entre les 11 populations étudiées, une matrice des données binaires a été mise en place pour estimer les distances génétiques entre les populations (**Tableau 17**).

Tableau 15 Matrice de distances génétiques entre paire de populations calculée selon la formule de Nei (au-dessous de la diagonale) et géographiques en Km (au-dessus de la diagonale)

	MDJ	AYO	IMO	ISK	TIF	TG II	BO	MRI	LKB	AZI	TG I
MDJ	0,000	136	508	15	10	118	49	171	133	61	110
AYO	0,108	0,000	616	138	127	22	178	71	15	204	14
IMO	0,115	0,202	0,000	518	649	627	498	690	711	443	689
ISK	0,140	0,175	0,126	0,000	25	126	30	185	148	58	134
TIF	0,106	0,140	0,084	0,079	0,000	118	53	162	124	81	110
TGII	0,221	0,218	0,212	0,257	0,197	0,000	152	52	18	186	8
BO	0,278	0,380	0,307	0,284	0,244	0,325	0,000	212	175	28	160
MRI	0,284	0,229	0,291	0,329	0,226	0,240	0,251	0,000	64	238	44
LKB	0,194	0,158	0,193	0,167	0,097	0,147	0,203	0,118	0,000	200	26
AZI	0,205	0,197	0,299	0,295	0,263	0,270	0,165	0,206	0,169	0,000	194
TGI	0,142	0,113	0,157	0,146	0,094	0,142	0,262	0,204	0,092	0,205	0,000

Les résultats obtenus montrent que les distances génétiques varient entre 0,079 enregistrée chez la paire **Issekssi/ Tifirdine** et 0,380 pour la paire **Ait Yahya Oussed/ Bin El Ouidane**, indiquant l'existence d'une variabilité très importante. En outre, la distance génétique entre les deux populations les plus proches géographiquement (Tighssaline I/Tighssaline II ; 8Km) est égale 0,142, alors que la distance génétique entre des populations géographiquement plus distantes (IMMI Oudar/Tifirdine ; 649Km) est égale 0,084, ce qui suggère l'absence d'une corrélation entre les distances génétiques et géographiques. En effet, le résultat du test de Mantel n'a pas révélé une corrélation significative entre les distances génétiques et géographiques ($r= 0,074$; $P=0,628$; $t=0,328$). Par conséquent, la structuration des populations ne suit pas un modèle d'isolation par distance. Ce résultat est en accord avec celui trouvé par Bouda et al. (2013, 2019) chez *Atriplex halimus*.

En outre, les relations génétiques entre populations ont été davantage reconstruites par la méthode d'agrégation de Neighbor- Joining (NJ) à partir des coefficients de similarité de Dice. Sur le dendrogramme (**Figure 21**), cinq groupes de population peuvent être identifiés :

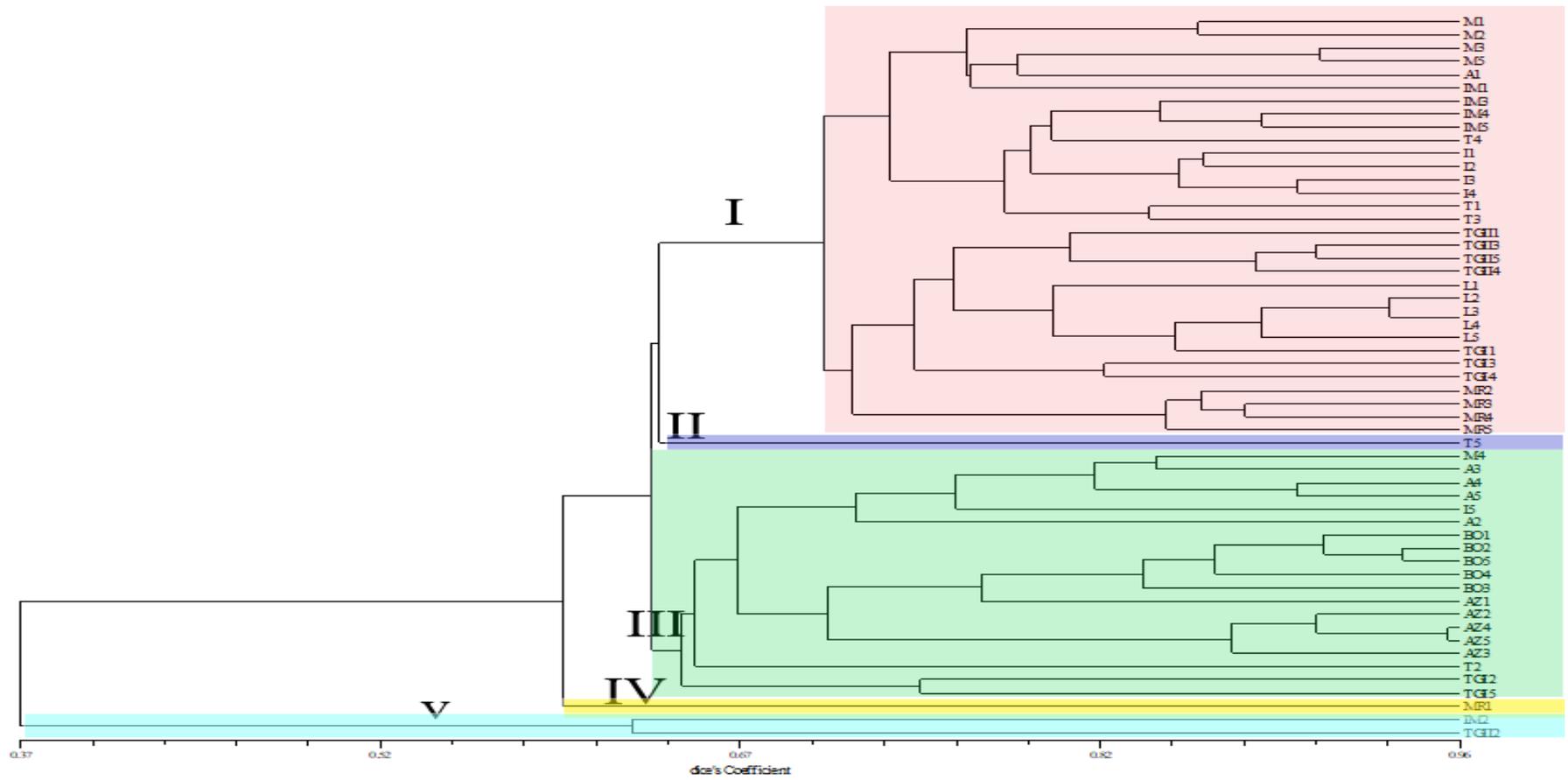


Figure 20 Dendrogramme montrant les relations génétiques entre 55 individus de Pistachier lentisque, construit selon la méthode UPGMA et basé sur les coefficients de similarité de Dice. AO : Ait Yahya Oussaed ; AZ : Azilal ; BO : Bin El Ouidane ; IM : Immi Oudar

Le premier groupe (I) comporte 33 individus :

- Onze individus appartenant au Haut Atlas : population Modj (M1-M2-M3-M5), population Isseksi (I1-I2-I3-I4) et population Tifrdine (T1-T3-T4)
- Dix-sept individus d'origine du Moyen Atlas : population Lekbab (L1-L2-L3-L4-L5), population Tighssaline II (TGII1-TGII3-TGII4-TGII5), population M'rirt (MR2-MR3-MR4-MR5), population Tighssaline I (TGI1-TGI3-TGI4) et population Ayt Yahya Oussad (A1) avec un seul individu

- Quatre individus du littorale : population immiouadar (IM1-IM3-IM4-IM5),

Le deuxième groupe (II) est constitué seulement d'un seul individu de la population de Tifrdine (T5) du haut Atlas.

Le troisième groupe (III) : inclut dix-neuf individus :

- Moyen Atlas : quatre arbres de la population Ayt yahya oussad (A2-A3-A4-A5), Tighssaline II (TGI2) et Tighssaline I (TGI5)

- Haut Atlas : tous les arbres des populations Bin El Ouidane (BO1-BO2-BO3-BO4-BO5) et Azilal (AZ1-AZ2-AZ3-AZ4-AZ5), un arbre de chaque population Modj (M4), Isseksi (I5), Tifridine (T2),

Le quatrième groupe : à l'instar du groupe II, le groupe IV ne comprenait qu'un seul arbre de la population de M'rirt (MR1) du Moyen Atlas.

Le cinquième groupe : comprenait deux arbres,

- Le littorale l'un de la population ImiOuddare (IM2)
- Moyen Atlas de la population Tighssaline II (TGII2).

D'autre part, le dendrogramme montre que les 55 arbres de *Pistacia lentiscus* analysés appartiennent à 53 haplotypes différents, reflétant ainsi une diversité génétique intra-populationnelle élevée. En effet, seulement deux paires d'arbres, une dans la population de Bin El Ouidane et une aussi dans la population de Mrirte ont des phénotypes ISSR identiques, suggérant que chaque paire d'arbres appartient au même génotype. Le dendrogramme a montré aussi que la plupart des individus de chaque population tend à se regrouper ensemble et, par conséquent, sont génétiquement plus proches que des individus appartenant aux autres populations.

Afin de bien étudier la structuration génétique des populations étudiées ; nous avons entamé une approche basée sur un modèle bayésien. La méthode d'Evanno (2005) permet de

déterminer le nombre K des groupes, en se basant sur ΔK . Le résultat obtenu montre que la valeur maximale de ΔK ($\Delta K=9, 3$) a été perpendiculaire avec $K=5$ (**figure 22**), ce qui indique que le regroupement génétique le plus représentatif est constitué de cinq groupes (**Figure 23**) :

- **Groupe 1(en rouge)** : ce groupe est formé par des individus des deux populations originaires du Haut Atlas appartenant aux zones semi-arides : Bin El Ouidane (BO1, BO2, BO3, BO4 et BO5) et Azilal (AZ1et AZ3).Tous ces individus ont eu un coefficient d'appartenance compris entre 0,99 et 0,87 sauf un individu d'Azilal (AZ 3) qui peut être considéré comme admixture (métis).
- **Groupe 2(en vert)** : Ce groupe constitué d'une seule population de Mrirte (MR1, MR2, MR3, MR4 et MR5) appartenant du Moyen Atlas (Zone humide) plus un individu de Lkbab (LK1) appartient a Moyen Atlas (Zone semi-aride), deux individus de ce groupe sont des admixtures (LK1 et MR1).
- **Groupe 3 (en bleu)** : Ce groupe formé de trois populations du Moyen Atlas (zone semi-aride) : Tighssaline I (TI1, TI4 et TI5), Tighssaline II (TII1, TII3, TII4 et TII5) et Lkbab (LK2, LK3, LK4 et LK5) plus un individu appartient au Haut Atlas (Tifrdine 5), tous les individus de ce groupe ont un coefficient d'assignation compris entre 0,8 et 1 à l'exception de LK3 et LK5.
- **Groupe 4 (en jaune)** : constitué de la plupart des individus de trois populations du Haut Atlas (zones semi-arides) : Tifrdine (TF1, TF2, TF3 et TF4), Issekssi (IS1, IS2, IS3 et IS4) et Modj (MD1, MD3 et MD5) plus la population d'Immi Oudar (IM1, IM2, IM3, IM4 et IM5) appartenant au littorale (zone aride).Tous les individus ont un coefficient d'appartenance compris entre 0,8 et 1 excepté un individu de Tifrdine (TF2) qui peut être considéré comme admixture.
- **Groupe 5 (en rose)** : Formé d'un mélange des individus appartenant au sept populations qui ont des origines géographiques et bioclimatiques différentes : Ait Yahya Oussed(Haut Atlas) (AO1, AO2, AO3, AO4 et AO5), MODJ (Haut Atlas) (MD2et MD4), Issekssi (Haut Atlas) (IS5), Azilal (Haut Atlas) (AZ2, AZ4et AZ5), Tighssaline II(Moyen Atlas) (TII2), Tighssaline I (Moyen Atlas)(TI2 et TI3) et Immi Oudar (Littorale) (IM2) . Tous les individus de ce groupe ont un coefficient d'assignation compris entre 0,8 et 1 à l'exception de TI3, MD2, AZ2 et AZ5.

A partir des résultats du dendrogramme et d'analyse bayésienne, on conclut, d'une part que la structure génétique des populations analysées du pistachier lentisque marocain se fait en cinq groupes, et que cette structuration des populations s'est opérée indépendamment de l'origine géographique. Ce résultat est en accord avec celui trouvé par Kabiri et al (2019) chez le noyer marocain. Par contre, il est en désaccord avec le résultat obtenu par wahid et al (2014) qui a montré par les isoenzymes que la structuration des populations naturelles de pin maritime marocain s'effectue en relation avec le type de la chaîne montagneuse. D'autre part, le regroupement des populations se fait indépendamment aussi de leurs bioclimats, ce qui a été confirmé par la faible variation génétique révélée par l'AMOVA entre les groupes bioclimatiques des populations étudiées.

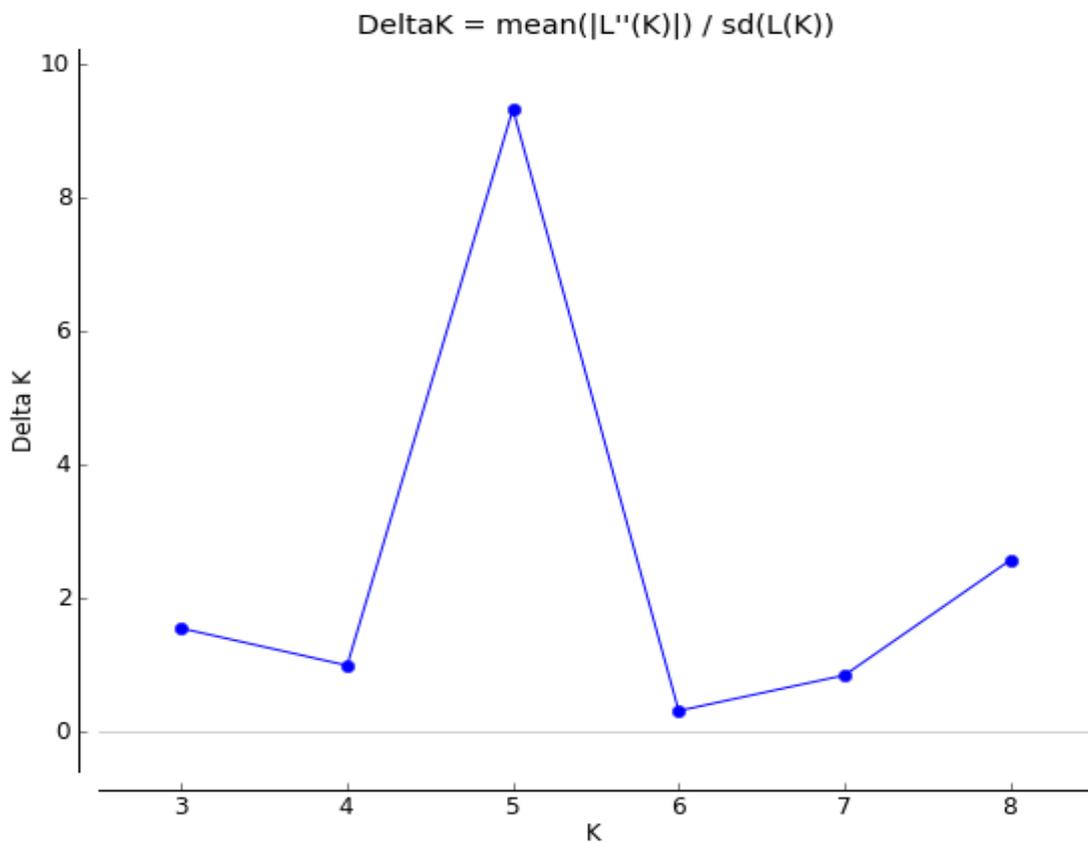


Figure 21 Représentation graphique permettant de déterminer le nombre des groupes le plus représentatif.

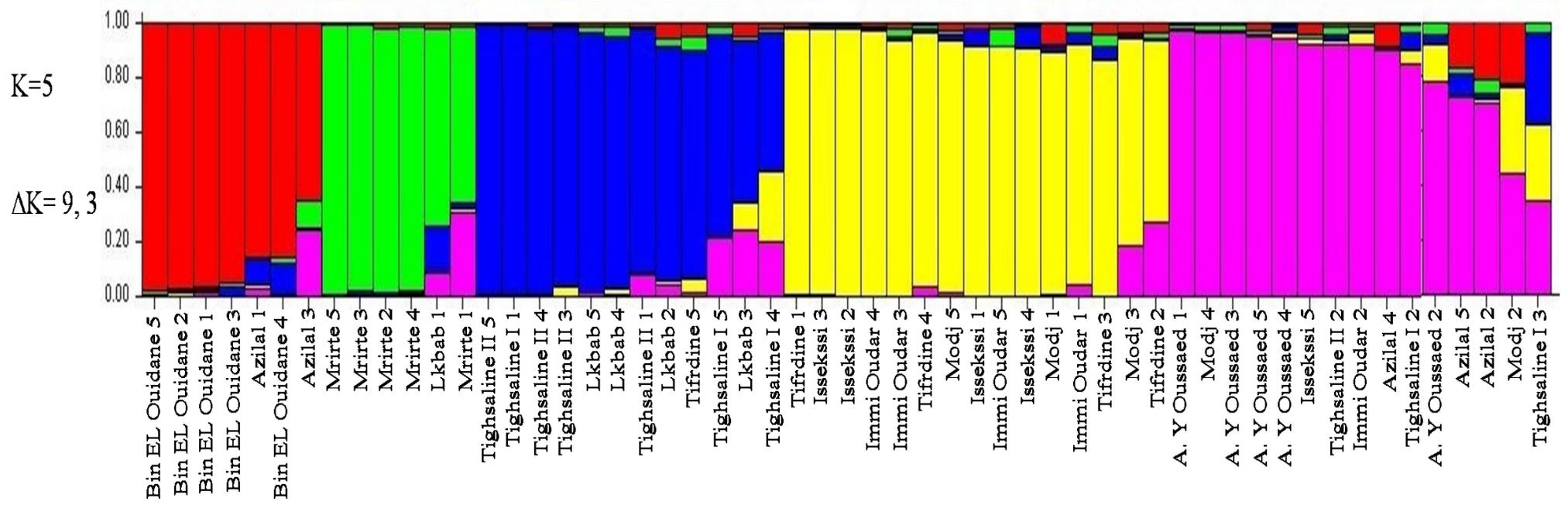


Figure 22 Regroupement génétique des populations de lentisque obtenu par l'analyse STRUCTURE

6) CONCLUSION :

Les résultats obtenus ont montré clairement que les marqueurs ISSRs utilisés au cours de la présente étude, se sont avérés très efficaces en terme de mise en évidence du polymorphisme moléculaire chez le lentisque, ainsi que pour l'exploration des relations génétiques entre les populations considérées. L'utilisation des huit amorces ISSR a révélé un pourcentage de polymorphisme très élevé (91,21%) traduisant l'existence d'une importante variabilité génétique chez le pistachier lentisque marocain.

L'analyse moléculaire de la variance a montré que la grande part de la variation génétique réside au niveau intrapopulation avec une très large différenciation des populations. Le flux de gènes entre populations a été très limité.

L'analyse de la diversité génétique des 11 populations naturelles de pistachier lentisque a montré sa structuration en cinq groupes indépendamment de leurs origines géographiques et bioclimats.

L'ensemble de ces résultats exige un mode de conservation convenable et durable face à l'érosion génétique des ressources génétiques du pistachier lentisque au Maroc. Ainsi, échantillonner à partir d'un petit nombre de populations, particulièrement les plus variables, est suffisant pour garder la majorité de la diversité génétique de cette espèce spontanée.

DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE

L'étude présentée au cours de ce travail a porté sur la caractérisation du patrimoine local marocain du lentisque. Elle a pour but de participer à une dynamique de gestion et de conservation d'un patrimoine très riche et exposé à une érosion génétique. Dans ce sens, le grand intérêt que suscite actuellement la culture des espèces forestières naturelles et la mise en valeur de ses produits et sous-produits devrait aller de pair avec la mise en place d'un programme nationale visant la caractérisation de la diversité génétique de ces espèces au niveau des principales zones d'habitat de notre espèces cibles. Il s'agit en effet d'une étape clef qui devrait déboucher sur la mise en place des collections variétales regroupant les principaux génotypes locaux identifiés et caractérisés génétiquement. Ainsi, le présent travail constitue une contribution à ce programme à travers la mise en valeur du potentiel des techniques de marquage génétique à l'aide des marqueurs pomomorphologique, caractérisation biochimique et ISSR pour la caractérisation de la diversité génétique du lentisque au Maroc vue que ces résultats sont uniques, à nos jours, aucune étude n'est disponible pour les populations marocaines.

La première partie du travail réalisé a été basée sur la caractérisation pomomorphologique des populations spontanées étudiés à l'aide des descripteurs internationaux permettant ainsi leur identification, la recherche des marqueurs les plus informatifs et l'analyse des relations phylogénétiques entre les populations et avec les sites d'origines. Les 11 populations analysées à l'aide de 24 caractères pomomorphologique, ont permis d'identifier :

- Du point de vue morphologique, les mensurations des feuilles sur des onze populations ont montré des différences remarquables pour ce qui est de la couleur, largeur et de la longueur des feuilles. Les populations de MR et BO se distinguent essentiellement par une couleur verte, une longueur et une largeur plus élevée que les autres populations.
- Du point de vue pomologique, les différences sont assez appréciables en ce qui concerne le poids des fruits de MR, BO, Ti et IO par rapport à MD, IS, et AO et aussi on constate une variabilité remarquable entre les populations dans ce qui concerne la taille du fruit avec la plus grande taille est enregistré chez la population de BO avec une longueur de 5,26 cm et une largeur de 5,59 cm.

- L'analyse de la variance ainsi que la comparaison des moyennes des caractères morpho-pomologique étudiés ont révélé une diversité importante à l'intérieur et entre les différentes provenances correspondant à des bioclimats différents ($P < 0.001$). La population de M'ritt montre une longueur des feuilles (7,80 cm) plus élevée par rapport aux autres populations et la plus petits et enregistré chez la population de Lkbab (5,46 cm), tandis que, ce caractère a une corrélation positive significativement avec la longueur de l'amande ($r = 0.46^{***}$).

- L'analyse de la composante principale permis, par la suite, la séparation de ces populations en quatre groupes malgré leur rapprochement géographique. La variabilité morpho-pomologique de cette espèce au Maroc peut être due aux conditions écologiques, et les mécanismes physiologiques impliqués.

La deuxième partie du travail a été fondée sur la caractérisation biochimique des populations étudiés en se basant sur le dosage de quelques paramètres biochimiques qui nous permet l'identification et la recherche des marqueurs les plus informatifs et l'analyse des relations phylogénétiques entre les populations et avec les sites d'origines. Les 11 populations analysées à l'aide de 11 caractères biochimique, ont permis de conclure :

- Les résultats de l'analyse de la variance ont montré l'existence d'une variabilité significative ($p < 0,05$) entre les populations pour la teneur en sucre totaux, en teneur en matière sèche et en teneur en fibres.

- Une corrélation positivement significative a été détectée entre matière organique (MO%) matière sèche (MS%) aussi bien la teneur en azote total et la valeur énergétique ($r = 0.92$ et 0.962). A l'encontre, des corrélations négativement significatives ont été enregistrées entre la matière sèche et la matière minérale, et la teneur en matière grasse et les carbohydate ($r = -0.217, -0.379$).

- Les résultats de l'analyse en composantes principales ont montré la dispersion des 11 populations étudiés en 4 groupes indépendamment de leur proximité géographique. Ce regroupement a été confirmé par la classification hiérarchique (dendrogramme).

La troisième partie du travail a été fondée sur l'identification moléculaire des populations étudiés en se basant sur des marqueurs moléculaire ISSRs qui nous permet l'identification et la recherche des marqueurs les plus informatifs et l'analyse des relations phylogénétiques entre les populations et avec les sites

d'origines. Les 11 populations analysées à l'aide de 13 amorces, ont permis de conclure :

- L'utilisation de treize amorces a produit 121 marqueurs dont 110 sont polymorphes qui correspondent à un pourcentage de polymorphisme de 91,21 %. Le nombre de marqueurs polymorphes varie de cinq (UBC807) à douze (UBC868) avec une moyenne de huit marqueurs par amorce. Les valeurs moyennes du PIC, RP, I et Ht ont été respectivement de 0,79 ; 4,89 ; 0,47 et 0,31. Ceci indique d'une part, que les marqueurs ISSRs utilisés représentent un outil efficace et important pour l'analyse génétique du Pistachier lentisque et d'autre part, l'existence d'une grande variabilité génétique chez le pistachier lentisque.
- L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a montré que la majeure part de la variabilité génétique se trouve au niveau intra population (57,24%). Les populations étudiées se sont montrées très largement différenciées ($F_{ST}=0,42$) en concordance avec un flux de gènes très restreint entre elles ($N_{em}=0,42$). L'AMOVA hiérarchique a montré un faible pourcentage entre les groupes géographiques (3,76%) et bioclimatiques (-0,94%) formés par 11 populations.
- La distance génétique entre les populations a révélé que les populations d'Issekssi et Tifirdine sont les plus proches génétiquement (0,079), alors que celles d'Ait Yahya Oussed et Bin El Ouidane sont les plus divergentes (0,380). D'ailleurs, les distances géographiques entre populations n'ont pas expliqué leurs correspondantes distances génétiques d'après le test de Mantel ($r= 0,074$; $t= 0,328$; $P=0,628$).
- La structure génétique des populations en cinq groupes obtenue à partir des analyses Neighbour-joining et Structure, ne correspond pas à leurs bioclimats et origine géographique.

Perspectives du travail

Les analyses de la diversité génétique entreprise à l'aide des marqueurs pomomorphologique, la caractérisation biochimique et moléculaires ont montré une forte variabilité des populations du lentisque marocain. L'ensemble des résultats recueillis à partir de ces analyses, peuvent être utilisés pour définir une stratégie d'amélioration et de gestion des ressources génétiques de cette espèce. Pour compléter ces résultats, nos recherches doivent être poursuivies par :

- Une étude plus exhaustive, englobant des populations d'autres régions au Maroc, pour mieux cerner la gamme de la variabilité de cette espèce.
- Mettre en évidence les potentielles activités biologiques tout en déterminant avec précision les molécules présentes et responsables de ces activités.
- Une analyse liée aux caractères agronomiques d'intérêt (stress hydriques, amendement organique et autres) chez cette espèce et de continuer l'étude du polymorphisme génétique par d'autres types de marqueurs comme les marqueurs (SSR, SNP...).
- Elaboration des relations entre les marqueurs et les outils de la diversité génétique et les traits agronomiques d'intérêt (production agricoles et aliment de bétails).

References

1. A. R. Vasques G. Pinto, M. C. Dias, C. M. Correia, J. M. Moutinho-Pereira, V. R. Vallejo, C. Santos, J. J. Keizer. *Physiological response to drought in seedlings of Pistacia lentiscus (mastic tree)*. [Revue] // *New Forests*. Vol 47 pp:119-130, (2016). <https://doi.org/10.1007/s11056-015-9497-1>.
2. A. Rhouma H. Ben Daoud, S. Ghanmi, H. ben Salah, M. Romdhane and M. Demak. *Antimicrobial Activities Of Leaf Extracts Of Pistacia and Schinus Species Against Some Plant Pathogenic Fungi And Bacteria*. [Revue] // *Journal of Plant Pathology*. Vol 91(2), pp:339-345, (2009).
3. A. Aafi, M.S. Taleb & M. Fechtal. *Espèces remarquable de la flore du Maroc*. [Revue] // *CNRF-146*, (2002).
4. A. Boukeloua. *Caracterisation Botanique Et Chimique Et Evaluation Pharmaco-Toxicologique D'une Preparation Topique A Base D'huile De Pistacia Lentiscus L. (Anacardiaceae)*. [Rapport]. - Constantine : Universite Mentouri – Constantine N° Ordre : 228/Mag/(2009).
5. A. Chatibi A. Ghorbel, M.L. Kchouk et A. Mliki. *Microgreffage du pis tachier (Pistacia vera L.) cv. Mateur*. [Revue] // *Cahiers Options Méditerranéennes*. N°33, pp: 121- 130, (1998).
6. A. Oukabli. *Impact of some factors on dehiscence and production of empty fruits in the pistachio (Pistacia vera L.)*. [Conférence] // X GREMPA Seminar. - CIHEAM Zaragoza : *Cahiers Options Méditerranéennes*. N°33, pp: 67 -73, (1998).
7. Triantafyllou A. Bikineyeva, A. Dikalova, R. Nazarewicz, S. Lerakis and S. Dikalov. *Anti-inflammatory activity of Chios mastic gum is associated with inhibition of TNF-alpha induced oxidative stress*. *Nutr J* 10, 64 (2011). <https://doi.org/10.1186/1475-2891-10-64>.
8. Abdeldjelil Mohamed Cherif. *Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (Pistacia lentiscus L.) sur les brûlures expérimentales chez le rat*. [Rapport] : Thèse de doctorat. - [s.l.] : Université des Frères Mentouri Constantine 1, (2016).
9. Ait Said, S. *Stratégie adaptative de deux espèces du genre Pistacia (P. lentiscus L. ETP. atlantica Desf.) aux conditions d'altitude, des alinités et d'aridité: approche morpho-anatomique, phytochimique et ecophysiologique*. P15, (2011).
10. Ajaj Abdelkrim [et al.] *Inventaire de la collection des lichens et champignons lichénicoles de l'Herbier national "RAB" de l'Institut Scientifique (Rabat, Maroc)*. [Revue] // *Documents de l'Institut Scientifique, Rabat, Maroc*. N°21 - pp:1-70, (2007).
11. Ajal, E.A, Jbir R., Melgarejo P, Hernández F, Haddioui A, & Hannachi, A.S. *Efficiency of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers for the assessment of genetic diversity of Moroccan pomegranate (Punica granatum L.) cultivars*. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol 56, 24–31, (2014).
12. Al-Saghir, M.G. *Phylogenetic analysis of the genus Pistacia L. (Anacardiaceae) based on morphological data* [Revue] // *Asia Journal of Plant Sciences* 9(1), pp:28-35, (2010).

13. Al-Saghir M.G et Porter D.M. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) study of *Pistacia* species (Anacardiaceae). [Revue] // *Asian Journal of Plant Sciences*, Vol 5 (6), pp:1002-1006, (2006).
14. Al-Saghir M.G. et Porter D.M. Taxonomic revision of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). [Revue] // *American Journal of Plant Sciences*. Vol 3 No.1. pp: 12-32, (2012) <https://doi.org/10.4236/ajps.2012.31002>.
15. Amira Chently. Valorisation nutritionnelle d'*Opuntia* et *Acacia* spp. dans l'alimentation des ruminants. Effets de hautes teneurs en tannins et oxalates sur l'activité du microbiote ruminal [Rapport]. - [s.l.] : Université des Frères Mentouri Constantine, (2015).
16. Amirouche R. Flore spontanée d'Algérie et ressources phytogénétiques. Caractérisation et stratégie de conservation. *Biotech 2008, Xles Journées Scientifiques du réseau « Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire » de l'Agence universitaire de la Francophonie*. 30 juin-3 juillet 2008, Agrocampus Rennes, France. Page 11-12, (2008).
17. Amri. I., Hamrouni L., Hanana M., Jamoussi B. Chemical composition and herbicidal effects of *Pistacia lentiscus* L. essential oil against weeds. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. Vol 2 (4), pp: 558-565, (2012).
18. M Annie, Jean P. *Guide des arbres et arbustes de France*. [Section]: éditions sud oueste:Loire offset titoulet à Sainte-Etienne (42), (2014).
19. Arab K, Bouchenak O et Yahiaoui K. Phytochemical Study and Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Phenolic Compounds of *Pistacia Lentiscus* L [Revue]. - [s.l.]: *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. Vol 6(1), (2014).
20. Atmani D [et al.] Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants [Revue]. - [s.l.]: *Food Chemistry*. Vol 115 (2), pp: 303-309, (2011).
21. Audigie C.L and Dupont G. *Principes des méthodes d'analyses biochimiques* [Revue] // paris. pp:566-567, (1982).
22. B.E. Ak I. Acar and E. Sakar An investigation on the determination of pomological and morphological traits of wild almond grown at Sanliurfa province [Revue] // Zaragoza : CIHEAM, *Cahiers Options Méditerranéennes*, N°5, pp:139-144, (2001).
23. Bammou M. Daoudi A, Slimani I, Najem M, Bouiamrine E.H, Ibijbjen J, Nassiri L. Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*. Vol 86, pp: 7969-7971, (2015).
24. Barazani O, Dudai N et Golan-Goldhirsh A Comparison of Mediterranean *Pistacia lentiscus* genotypes by random amplified polymorphic DNA, chemical, and morphological analyses. [Revue]. - [s.l.]: *Journal of Chemical Ecology*. Vol 29, pp: 1939-1952. (2003).
25. Barra A [et al.]. Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity," [Rapport]. - [s.l.] : *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2007).
26. Belfadel F.Z. Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* caractéristiques physico chimiques et effets biologiques (effet cicatrisant chez le rat) [Rapport]: Mémoire de magister. - Constantine : Université de Constantine (Algérie), (2009).

27. Bellakhdar J. *Le Maghreb à travers ses plantes – plantes, productions végétales et traditions au Maghreb [Ouvrage]. - Casablanca : Editions Le Fennec. (2003).*

28. Ben Ayed R. *Applications et limites des marqueurs moléculaires pour l'identification des variétés d'olivier, Revue Agriculture. Vol 8, pp: 49-54. (2017).*

29. Benabid H. *Caractérisation de l'huile d'olive algérienne Apports des méthodes chimiométriques. Thèse de doctorat (Sciences Alimentaires) université Mentouri de Constantine, institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires. (2000) .*

30. Benmehdi I. *Contribution à une étude phytoécologique des groupements à Pistacia lentiscus du littoral de Honaine (Tlemcen, Algérie occidentale). [Revue]. - Tlemcen : Thèse Mag. Fac. Sci. Univ Tlemcen. (2012).*

31. Bensegueni, A. *Evaluation D L'activité cicatrisante D'un Onguent Traditionnel De La Region De Constantine Sur Les Plaies D'excision Chez Le Rat. Sciences & Technologie.-(2007) pp:83-87.*

32. Benslimane H. *Les Méthodes Moléculaires Pour La Caractérisation Des Champignons Phytopathogènes, European Scientific Journal, Vol 12, pp : 1857-7881. (2017).*

33. Bertheau Y, Darrasse A, Jouan B, Kotousky A and Priou S. *Amplification enzymatique in vitro d'ADN et ses applications : Le progrès génétique passe t'il par le repérage et l'inventaire des gènes ? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris, pp : 3-22. (1993).*

34. Bhouri W [et al.] *Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from Pistacia lentiscus fruits. [Revue]. - [s.l.] : Toxicology in Vitro. Vol 24(2), pp: 509-515. (2010).*

35. Bonnier G, Douin R. *Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique [Ouvrage]. Paris : Librairie Générale de l'Enseignement. Vol. 12 tomes. 120 fasc. 721 pages. (1934).*

36. Botstein, D. *Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. Am. J. Hum. Genet. Vol 32 pp: 314-331. (1980).*

37. Bouda S, HERNANDEZ L.E, BAAZIZ M, DEL CAMPO F.F, HADDIOUI A. *Variability of Natural Populations of Atriplex Halimus L. in Morocco as Investigated by RAPD Markers. Romanian Biotechnological Letters, Vol 18 (3), (2013).*

38. Bouda.S, Hernandez LE and Haddioui A. *Internal transcribed spacer sequences analysis of genetic variation among and within Populations of Atriplex halimus From different bioclimatic zones in morocco. Acta Botanica Hungarica, Vol 61 pp:4-3. (2019)*

39. Boudieb K, Ait Kaki S.A.S et Amellal-Chibane H. *Traditional uses, phytochemical study and morphological characterization of Pistacia lentiscus L. fruits from three areas of northern Algeria. [Revue]. - [s.l.] : Journal of Applied Bioscience, Vol 135. (2019). doi: 10.4314/jab.v135i1.5.*

40. Boukeloua, A. *Caractérisation Botanique et Chimique et Evaluation Pharmacotoxicologique d'une Préparation Topique a Base d'huile De Pistacia lentiscus L. (ANACARDIACEAE). Rapport de Magister, Faculté Des Sciences De La Nature et De La Vie Département De Biologie Et Écologie, Université Mentouri – Constantine, (2009).*

41. Boullard, B. *Dictionnaire des plantes médicinales du monde: Réalités et Croyance*, Ed: Estem. pp: 414-415. (2001).

42. Bouta W, Bouda S, ELRasafi T, EL Hansali M, Haddioui A. Morphological diversity in wild populations of mastic tree, *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) in Morocco. *Phytomorphology*. Vol 70, pp: 17-24, (2020).

43. Bradford M. A rapid and sensitive method for quantitative of microgram quantities of protein utilizing the principle of ptoein-dye bynding. [Revue] // *Analytical biochemistry*. Vol 72, pp: 248-254. (1976).

44. Breton Catherine [et al.] *De l'olivier à l'oléastre : origine et domesticationde l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen*. [Revue] // *Cahiers Agricultures* vol 15, pp: 329-336. - (2006).

45. Browicz K. *Pistacia lentiscus* cv. Chia (Anacardiaceae) on Chios island. *Plant Syst. Evol.* Vol 155, pp: 189 –195, (1987). <https://doi.org/10.1007/BF00936298>.

46. T.S.Rosenstock, U.A.Rosa, R.E.Plant, P.H.Brown. A reevaluation of alternate bearing in pistachio [Revue] // *Scientia Horticulturae*. Vol 124(2), pp:149–152. (2010).

47. Castro-Diez P, Villar-Salvador p, Pérez-Rontomé C, Maestro-Martínez M, Montserrat-Martí G et al. Leaf morphology, leaf chemical composition and stem xylem characteristics in two *Pistacia* (Anacardiaceae) species along a climatic gradient. [Revue] // *Flora*, Vol 193 (2), pp: 195-142, (1998).

48. Sauvage C et Ionesco I. *Fichier Des Espèces-Climax Famille Des Anacarotn*, [Revue] // *Al Awamia*. pp: 1-21, (1964).

49. Chaabani E. *Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de Pistacia lentiscus*. [Revue]. - [s.l.] : Université d'Avignon; Université de Carthage tunis. (2019).

50. Charef M. *Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de Pistacia lentiscus et du Quercus*. thèse de doctorat. p 84, (2011).

51. Charef M, Yousfi M, Saidi M, Stocker P. Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria. *J. Am. Oil Chem. Soc.* Vol 85, pp:921–924, (2008). <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1283-1>.

52. Cherfia R. *Etude de la variabilité morpho-physiologique et moléculaire d'une collection de blé dur algérien (Triticum durum Desf.)*. Thèse de doctorat, Université Mentouri, Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. p89, (2010).

53. Cherif A.M. *Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (Pistacia lentiscus L.) sur les brûlures expérimentales chez le rat*. Thèse Doctorat en sciences vétérinaires. pp: 80-101. (2016).

54. Chriyaa A. *The Use Of Shrubs In Livestock Feeding In Low Rainfall Areas* [Revue] // *Land Use, Land Cover And Soil Sciences* . Vol. V, (2009).

55. Chryssavgi G [et al.] Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts [Revue]. - [s.l.] : Food Chemistry. Vol 107, pp:1120-1130. (2008)

56. Correia O et Barradas M. D Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia lentiscus* L. [Revue]. - [s.l.] : Plant Ecology. Vol 149(2), pp: 131-142. (2000).

57. Cristiano G., De Mastro G, Fracchiolla M, Lasorella C, Tufarelli V, De Lucia B, Cazzato E. Morphological characteristics of different mastic tree (*Pistacia lentiscus* L.) accessions in response to salt stress under nursery conditions. J. Plant Sci. Vol 11, pp:75–80, (2016). <https://doi.org/10.3923/jps.2016.75.80>.

58. CTPS/GEVES PLANTES FOURRAGÈRES Nouvelles Variétés proposées à l'inscription sur la Liste A du Catalogue Officiel Français [En ligne] // http://cat.geves.info/CAT_WEB/Data/PLA_Fourrages_2019.pdf. Accédé le 03 mai 2021.

59. Dahmani Rachid. Etude édapho-floristique du *Pistacia lentiscus* L. des zones littorales et continentales de l'ouest Algérien [Rapport]. (2015).

60. De Vienne et Santoni, S. Les principales sources de marqueurs moléculaires, In : De Vienne D, ed. Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales, France, Paris: INRA Éditions. pp: 15–47. (1998)

61. Dedoussis G.V.Z et Kaliora A.C., Psa rras S., Chiou A, Mylona A, Papadopoulos N.G, Andrikopoulos N.K, Antiatherogenic effect of [Revue]. - *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and down regulation of CD36 mRNA expression: Atherosclerosis, Vol 174(2), pp: 293-303. (2003).

62. Dice LR. Measures of the amount of ecological association between species. Ecology, Vol 26: 297–302. (1945).

63. Djenane D [et al.] Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. [Revue]. - [s.l.]: Food Control. Vol 22, pp : 1046 -1053. (2011).

64. Doghbage A & Belhadj S, Arezki D, Mévy J-P, Gauquelin T, Saifi M, Tonetto A, Foula H. Comparative eco-botanical analysis of *Pistacia lentiscus* L. in Algeria, through morphological and ultra-structural markers related to leaves and stomata. Revue Agrobiologi, Vol 10(1), pp: 1826-1836. (2020).

65. Dogan Y, Baslar S, Ayden H, Mert HH. A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey. Acta Botanica Croatica, Vol 62(2), pp: 73-88. (2003).

66. Dorvault F.L.M. L'officine ou répertoire général de pharmacie pratique [Ouvrage]. - paris : 17ème édition. Vigot frères éd, (1928).

67. Doyle JJ, Doyle JL. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, Vol 12, pp: 13-15. (1990).

68. Dubé M.. Étude de la diversité génétique au sein des génomes nucléaire et chloroplastique chez les cinq races connues du *STRIGA GESNERIOIDES*, une plante parasite d'importance mondiale. Thèse de doctorat, la Faculté des études supérieures de l'Université Laval, p.144 (2009).

69. El Ayadi F. *Diversité des Ressources Génétiques des Acacia sahariens (Acacia tortilis subsp raddiana) du Maroc : Approche Cytogénétique, Morpho-métrique et Moléculaire*. Thèse de doctorat, Université Ibn Zohr, Centre des études doctorales Ibn Zohr, 166p, (2013).

70. ElHaouari M, ElMakaoui S, Jnah M, Haddaouy A. A survey of medicinal plants used by herbalists in Taza (Northern Morocco) to manage various ailments. *J. Mater. Environ. Sci.* Vol 9, pp: 1875–1888, (2018).

71. Elshatshat S et Mansour A. Disturbance of flora and vegetation composition of Libya by human impacts: Costal Region of Al-Jabal Al-Akhdar area as model [Revue] // *Advances in Applied Science Research*. pp: 286-292, (2014).

72. Engler A *Burseraceae et Anacardiaceae [Section]*. - [s.l.] : A. Candolle & C. De Candolle : *Monographiae Phanerogamarum*. G. Masson, Paris, vol. 4, (1883).

73. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *MolEcol.* Vol 14, pp: 2611-2620, (2005).

74. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol. Ecol.* Vol 14, pp: 2611-2620. (2005). <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>.

75. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinforma.* 1, (2005). <https://doi.org/10.1177/117693430500100003>.

76. Excoffier L, Mouse PE, Quatro JM. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data *Genet*, Vol 131, pp: 479–491. (1992).

77.F Maamri, F Arbouche, D Harek, N Zermane, F Alane. Prédiction de la digestibilité de quelques ressources pastorales originaires des parcours steppiques algériens [Revue] // *Livestock Research for Rural Development*. Volume 27, Number 5, (2015).

78.F. Dubois XA. Gilles JK, Hamilton, PA Rebecs, F Smith. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [Revue] // *Analytical chemistry*. Vol 28, pp: 350-356, (1956).

79. Ain-Lhout F, Zunzunegui M, Diaz Barradas M et al.. Comparison of proline accumulation in two mediterranean shrubs subjected to natural and experimental water deficit. *Plant and Soil*, [Revue]. Vol 230, pp: 175-183, (2001). <https://doi.org/10.1023/A:1010387610098>.

80.Fahn A. *Plant anatomy*.Pergamon Press, Exeter [Rapport] // *Plant anatomy*, (1967).

81.FAO, rapport de la conférence de la FAO, 31^{ème} session, Rome,2-13-11-2001. <http://www.fao.org/3/Y2650f/Y2650f00.htm> [En ligne].

82. Fazeli-Nasab B, Fooladvand Z. Classification and Evaluation of medicinal plant and medicinal properties of mastic. *Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res.* Vol 2, pp: 2155–2161, (2014).

83. Fennane M. Propositions de Zones Importantes pour les Plantes au Maroc (ZIP Maroc), Rabat. *Plantelife Internationale et UICN*. [Rapport] : Institut Scientifique, Rabat, Morocco, (2004).

84. Fennane M, Ibn Tattou M.A.O, ElOualidi J. Flore pratique du Maroc - Manuel de détermination des plantes vasculaires Volume 2, Angiospermae (leguminosae - lentibulariaceae). institut scientifique, université mohammed V - Agdal Rabat, (2007).

85. Ferradji A. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. [Rapport]. - SETIF : UNIVERSITE FERHAT Abbas –SETIF, (2011).

86. Floch E Le, Nabli MA. Programme flore et végétation Tunisiennes. In: Contribution à une étude ethnobotanique de la flore Tunisienne [Revue]. - [s.l.] : Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, imprimerie officielle de la république Tunisienne, (1983).

87. Fournier P. Plantes médicinales .Tome III [Ouvrage]. Luxembourg, Menthe à zanihe, (1999).

88. Franchimont Jaques Etude Nationale Sur La Biodiversite Rapport De Synthese [Rapport]. - [s.l.] : Observatoire National De L'environnement Du Maroc, (2001).

89. Francis CY, Yang RC, TBJ Boyle, ZH Ye, JX Mao. POPGENE, the User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis, (1997).

90. Lopez-Gonzalez G. Arboles y arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares. Mundi-Prensa, Madrid. (2001).

91. Mair B. A gradient in cold-resistance of ash budsequences [Revue] // *Planta* Vol 82(2), pp: 164–169. (1968). DOI: 10.1007/bf01305719.

92. Gardeli C, Papageorgiou V, Mallouchos A, Theodosis K, Komaitis M .Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts, [Revue]// *Food Chemistry*, Vol 107 (3), (2008).

93. Gausson H, Leroy, JF, Ozenda P. Précis de Botanique, Les végétaux supérieurs, Ed. Masson, 2ème édition, pp.579. (1982).

94. Goulão JE, Monte-Corvo L., Oliveira CM. Phenetic characterization of plum cultivars by high multiplex ratio marker: amplified fragment length polymorphisms and Inter-Simple Sequence Repeats. *Journal of the American society for Horticultural Science*, Vol 126 (1), pp: 72-77, (2001). <https://doi.org/10.21273/JASHS.126.1.72>.

95. Grimaud MA. les enjeux de la recevabilité de la preuve d'identification par ADN dans le système pénal canadien, *R.D.U.S*, Vol 24, pp : 294-345. (1994).

96. Guo X, Elston R. Linkage Information Content of Polymorphic Genetic Markers. *Hum. Hered.* Vol 49, pp: 112–118, (1999). <https://doi.org/10.1159/000022855>.

97. Karimi HR, Zamani Z, Ebadi A , Fatahi MA. Morphological diversity of *Pistacia* species in Iran [Revue] // *Genet Resour Crop Evol.* Vol 56, pp: 561–571, (2009).

98. Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species, in: Adams WT, Strauss SH, Copes DL, Griffin AR. (eds) *Population Genetics of Forest Trees*. *Forestry Sciences*, vol 42. Springer, Dordrecht, (1992). https://doi.org/10.1007/978-94-011-2815-5_7.

99. Hans W. Koth. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed: Terre. p 242. (2007).

100. Hayder N, Ben Ammar R, Abdelwahed A, Kilani S, Amor M, Ben Chibani J, Antibacterial and antimutagenic activity of extracts and essential oil from (Tunisian) *Pistacia lentiscus*. [Revue]. - [s.l.] : Toxicological and Environmental Chemistry. Vol 87, pp: 567-573, (2005).
101. Abdallah H, « Dynamique de la végétation et transformation des systèmes d'élevage sur les marges arides du Tell oriental de Soughas à Souar (Dorsale Tunisienne) », Thèse, Université de Tunis/Université de Toulouse I, 373 p, (2015).
102. Heywood VH. The importance of urban environments in maintaining biodiversity [Revue] // In: di Castri F, Younes T (eds) Biodiversity, science and development: towards a new partnership, CAB International, Wallingford, pp: 543–550 (1996).
103. Hmimsa Y. L'agrobiodiversité dans les agrosystèmes traditionnels de montagnes: Cas du Rif marocain. Mémoire de troisième cycle. Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté des Sciences, Tétouan, Maroc, Vol 100, pp: 21-22, (2004).
104. Daoudi, A., Bammou, M., Zarkani, S. et al. Étude ethnobotanique de la flore médicinale dans la commune rurale d'Aguelmouss province de Khénifra (Maroc). *Phytothérapie*, Vol 14, pp: 220–228 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0953-z>.
105. Ionesco T, Sauvage C. Fichier Des Espèces-Climax [Revue] // Recherches géobotanique, Al Awamia, (1965).
106. IPGRI Descripteurs du pistachier [Rapport]. - Roma : Institut international des ressources phytogénétiques, (1997).
107. IPGRI. Descripteurs du pistachier (*Pistacia vera* L.) [Ouvrage]. - Rome, Italie. : Institut international des ressources phytogénétiques, (1998).
108. Ismail A, Lamia H, Mohsen H, et al. Chemical composition and antifungal activity of three anacardiaceae species grown in Tunisia. *Sci Int*. Vol 1, pp:148–54. (2013).
109. Doyle, JJ, Doyle JL, 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* (Madison).
110. Janakat S, Al-Merie H. Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca* [Revue]. - [s.l.]: *Journal of Ethnopharmacology*, Vol 83, pp: 135-138, (2002).
111. Jean-Claude EMILE, Sandra NOVAK, Stéphanie MAHIEU, Valeur alimentaire des feuilles de ligneux pour les ruminants [Conférence] // Journée ARBELE Rambouillet (78), (2018).
112. Jordano, P, Pre-dispersal biology of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae): cumulative effects on seed. *Oikos*, pp: 375-386, (1989).
113. Judd W. S. [et al.] *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach*, 2nd ed [Revue] // *Systematic Biology*, Volume 53 (3), pp: 517–518, (2004).
114. Kannan V.B, Costas D, Jeffrey P, Konstantine D, Margarita C, Zhiyong H, James H.W and Panayotis Pantazis . Induction of apoptosis in human colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product. *Chios mastic gum*. *In Vivo*. Vol 19 (1), pp:93-102, (2005).

115. Kabiri G, Bouda S, El Hansali M, Haddioui A. Genetic of diversity and structure of walnut (*Juglansregia* L.) provenances from Middle and High Atlas Mountains of Morocco as revealed by ISSRs markers. *Australian journal of crop science*, Vol 13(12),pp :1983–1991,(2019).
116. Kharchoufa L, Merrouni I.A, Yamani A, Elachouri M. Profile on medicinal plants used by the people of North Eastern Morocco: Toxicity concerns. *Toxicon*, Vol 154, pp : 90-113, (2018). <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.09.003>.
117. Khedir S Ben [et al.] the healing effect of *Pistacia lentiscus* fruit oil on laser burn. [Revue]. - [s.l.]: *Pharm. Biol.* Vol 55, pp: 1407-1414., (2017).
118. Kijas, J.H.M., J.C.S. Fowler, C.A. Garbett & M.R. Thomas. Enrichment of microsatellites from the citrus genome using biotinylated oligonucleotide sequences bound to streptavidin-coated magnetic particles. *BioTechniques*, Vol 16, pp: 657–662, (1994)
119. Kivçak B, Akay S. Quantitative determination of α -tocopherol in *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia*, Vol 76 pp: 62–66, (2005).
120. Kjeldhal J. Meue method lurk besyimmung des stichs offs in organischemkorpon. *Z Anal. Chem.* Vol 22, pp : 366-382, (1883).
121. Konate I. 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, 195p, (2007).
122. Kordali S, A Cakir, H Zengin, M E Duru. Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in turkey, *Fitoterapia*, Vol 74(1-2), pp: 164-167, (2003).
123. Kostas S, Hatzilazarou S, Pipinis E, Vasileiadis A, Magklaras P, Smyrnioudis I, Vasilakis T, Chazakis M, Anastasiadi V. Propagation of *Pistacia lentiscus* var. *Chia* Genotypes and Determination of Their Ornamental Traits Combined with a Genetic Analysis Using ISSR Markers. *Agronomy*, Vol 11(2), 205,(2021). <https://doi.org/10.3390/agronomy11020205>.
124. Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in bioinformatics*. Vol 5, pp: 150–163, (2004) <https://doi.org/10.1093/bib/5.2.150>.
125. L. Mebirouk-Boudechiche, M Cherif, L Boudechiche ,F Sammar. Teneurs en composés primaires et secondaires des feuilles d'arbustes fourragers de la région humide d'Algérie [Revue] // *Revue Méd. Vét.* Vol 165 (11-12), pp : 344-352. (2014).
126. De Lanfranchi Fr, Bui ThiMaï, Girard M. La fabrication d'huile de Lentisque (*listincu* ou *Chessa*) en Sardaigne. *JATBA, Revue d'ethnobiologie*, Vol 41 (2), pp : 81-100,(1999).
127. Linnaeus C. *Species Plantarum* [Section]. - London: The ray society, *Laurentii Salvii*, vol 2, (1753)
128. Lynch M, Walsh B. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*, Sinaver, Sunderland. (1998). MA.<https://doi.org/10.1046/j.1439-0388.2002.00356.x>

129. M.Y Sayah, A.El Ouali Lalam, H Greech, F Errachid, Y.R El Kandri, F.O Chahdi. *Activité Larvicide des Extraits de Plantes Aromatiques sur les Larves de Moustiques [Revue] // International Journal of Innovation and Applied Studies, Vol 7, pp : 832-842, (2014).*
130. M Ater, Y Hmimsa. *Agriculture traditionnelle et agrodiversité dans le bassin versant de l'Oued Laou. Travaux de l'Institut Scientifique, Rabat, série générale. N°5-,pp: 107-115. (2008).*
131. MK Ettian, GA Gbogouri, JA Djenontin, G.A. Mensah. *Évaluation des apports nutritionnels et énergétiques des fourrages verts dans l'alimentation des aulacodes (Thryonomys swinderianus) en Côte d'Ivoire [Revue] // Mar. Sci. Agron. Vét. Vol 6 (1), pp: 99-109, (2018).*
132. Maameri H Z. *Pistacia lentiscus L.: Evaluation pharmacotoxicologique. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Constantine 1, Algérie. Pp : 56-102, (2014).*
133. *Maghreb méditerranéen. Ed. Ibis. Press. Paris. Pp : 13-117.*
134. Magiatis Prokopios, Eleni Melliou, Alexios-Leandros Skaltsounis, Ioanna B Chinou, Sofia Mitaku. *Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Pistacia lentiscus var. chia. Planta Med, Vol 65(8), pp : 749-752. (1999).*
135. Mahmoudi, M. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Hafezi S, Nabavi SM, et Eslami Sh. *Antiinflammatory and antioxidant activities of gum mastic. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, Vol 14, pp: 765-769, (2010).*
136. I M L-Calleja, S de la Cruz, I González, T García, M Rosario. *Survey of undeclared allergenic pistachio (Pistacia vera) in commercial foods by hydrolysis probe real-time PCR. Food Control, Vol 39, pp: 49-55, (2014).*
137. Medouri A. *Diversité génétique de l'espèce Aegilops geniculata Roth en Algérie par approches morphologique, biochimique et moléculaire. Thèse de doctorat, Université des Frères MENTOURI Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 115p, (2016).*
138. Mehenni C, Atmani-Kilani D, Dumarçay S, Perrin D, Gérardin P, Atmani D. *Hepatoprotective and antidiabetic effects of Pistacia lentiscus leaf and fruit extracts. Journal of Food and Drug Analysis. Vol 24, pp: 653-669, (2016).*
139. Messaoudi Assia Et Kessbia Amira. *Etudes ethnobotanique, screening phytochimique et évaluation du pouvoir antimicrobien des polyphénols des grains de lentisque « Pistacia lentiscus L.» [Rapport]. - BOUMERDES : UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES, 2017.*
140. Mezni F, C Aouadhi, M.L Khouja, A Khaldi, A Maaroufi. *In vitro antimicrobial activity of Pistacia lentiscus L. edible oil and phenolic extract. Natural Product Research. Vol 29, pp: 565-570, (2015).*
141. Moghtader, M. *Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and fruits of Pistacia mutica Fischer Kerman Province .Middle east journal of scientific research, Vol 5, pp: 291-297, (2010).*
142. Montaigne W. *Diversité génétique et adaptation au milieu chez les arbres forestiers tropicaux. Etude chez le genre Virola (Myristicaceae). Thèse de doctorat, Université des Antilles et de la Guyane Faculté des Sciences exactes et naturelles, 178p. (2011).*

143. Montserrat-Marti J, Montserrat-Marti G. Hypothesis on the postglacial dynamics of thermo-Mediterranean plants on the Southern slopes of the Pyrenees. *Monogr. [Revue] // Inst. Pir. Ecol. Vol 4, pp: 649-660, (1988).*
144. More D et White J. *Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, pp 18 ; 797 , (2005).*
145. Moumen A & Melhaoui M. *Evaluation de la biodiversité et de l'abondance des espèces de flore et de faune et de leurs menaces principales dans le site du Cap de Trois Fourches : C3F. (2010).*
146. Mounen A. & M. Melhaoui *Evaluation de la biodiversité et de l'abondance des espèces de flore et de faune et de leurs menaces principales dans le site du C3F [Rapport]. Intermédiaire. EUCCC/ABIPA, (2010).*
147. N. Benhammou et F Atik-Bekkara. *Activité antibactérienne de l'huile essentielle de Pistacia lentiscus L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie) [Conférence] // Recherches sur les plantes aromatiques et médicinales. - Actes du congrès international des 22-24 mars 2007, Mezraoua (Taounate) & Fès, Maroc, pp: 281-285, H. Greche & A. Ennabili (éd.) 2009.*
148. Najimi B, El Jaafari S, Jlibène M, Jacquemin JM. *Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, Vol 7: 17135, (2003).*
149. Nei M. *Genetic distance between populations. American Naturaliste, Vol 106, pp: 282-292. (1972).*
150. Nekka A. *Appréciation de la variabilité génétique de quelques espèces du genre Medicago par les marqueurs biochimiques. Thèse de doctorat, Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 124p. (2014).*
151. Noor-Shah U, Mir JI, Ahmed N, Fazili Kh M. *Assessment of germplasm diversity and genetic relationships among walnut (Juglans regia L.) genotypes through microsatellite markers. J of the Saudi Soc of Agri Sci. Vol 17, pp: 339-350. (2018).*
152. O. Barradas Correia, M.C. Diaz. *Ecophysiological differences between male and female plants of Pistacia [Revue] // Plant Ecology, p. 149. (2000).*
153. H Ohba et R Amirouche. *Observation of the flora of Tadmait and Tidikelt, central Sahara, Algérie [Revue] // Journal of Japanese botany, Vol 78, pp: 104-111, (2003).*
154. Olfa E, Ben-Jamâa, M, M'nara S, Nouira S. *Bioécologie d'Orgyia trigotephras (Boisduval, 1829), (Lepidoptera, Lymantriidae) à Jebel Abderrahman, Cap Bon (Nord Est de la Tunisie). Integrated Protection in Oak Forests Vol 57, pp: 123-127. (2010).*
155. Jordano P. *Pre-dispersal biology of Pistacia lentiscus (Anacardiaceae): cumulative effects on seed removal by birds. Oikos, Vol 55, pp: 375-386. (1989).*
156. Padulosi S, Caruso T, Barone E. *Taxonomy, distribution, conservation and uses of Pistacia genetic resources. Rome (Italy) IPGRI, Palermo. (1996)*
157. Palevitch D & Yaniv Z, *Medicinal plants of the Holy Land. (2000).*

158. Pandulosi S, Catuso T & Barone E .Taxonomy, distribution conservation and uses of pistacia genetic resources. (1995)

159. Paraschos, S. Sotirios, Prokopios Magiatis, Sofia Mitakou, Kalliopi Petraki, Antonios Kalliaropoulos, Petros Maragkoudakis, Andreas Mentis, Dionyssios Sgouras, et Alexios-Leandros Skaltsounis., 2007. *In vitro and in vivo activity of chios mastic gum extracts and constituents against Helicobacter pylori. Antimicrobial. Agents and Chemotherapy, Vol 51(2), 2007.*

160. Pedro Jordano. *Pre-dispersal biology of Pistacia lentiscus (Anacardiaceae): cumulative effects on seed removal by birds. Nordic Ecological Society Oikos, 55: 375—386. Copenhagen (1989).*

161. Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A. *The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Mol. Breed, vol 2, pp: 225–238. (1996). <https://doi.org/10.1007/BF00564200>.*

162. Prevost A, Wilkinson MJ. *A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. TheorAppl Genet. Vol 98, pp: 107–112, (1999). <https://doi.org/10.1007/s001220051046>.*

163. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. *Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, Vol 155, pp: 945–959, (2000). <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>.*

164. Prokopios M, Eleni Melliou, Alexios-Leandr Skaltsounis, Ioanna B. Chinou et Sofia Mitaku., *Chemical Composition and antimicrobial activity of the essential oils of Pistacia lentiscus var.chia. Planta Med, Vol 65(8), pp: 749-752, (1999). DOI: 10.1055/s-2006-960856*

165. Quezel P. *Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb Méditerranéen, Ibis Press. Paris (2000). 117p.*

166. R.Dahmani. *Etude édapho-floristique du Pistacia lentiscus L. des zones littorales et continentales de l'ouest Algérien. [Rapport] : UNIVERSITE ABOU BAKR BELKAID-TLEMEN, (2015).*

167. Rauf Abdur [et al.] *Phytochemical, ethnomedicinal uses and pharmacological profile ofgenus Pistacia [Revue] // Biomedicine & Pharmacotherapy, Vol 86, pp: 393–404, (2017).*

168. Reddy MP, Sarla N, Siddiq EA. *Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica, Vol 128, pp: 9–17, (2002). <https://doi.org/10.1023/A:1020691618797>*

169. Remila S [et al.] *Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of Pistacia lentiscus (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. [Revue] : European Journal of Integrative Medicine. Vol 7, pp: 274-286 ,(2015).*

170. Rivera D and C Obón. *La guía de INCAFO de las plantas útiles y venenosas de la Península Ibérica y Baleares (excluidas medicinales). INCAFO, Madrid. (1991).*

171. Rohlf FJ .*NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Software, New York, Applied Biostatistics, (1992).*

172. Rousou Maria Identification des restes archéologiques du genre *Pistacia* L. : approches morphologique et morphométrique traditionnelle et géométrique [Rapport] : these. - [s.l.] : dumas-01860439f, (2018).

173. S Belhadj, A Derridj, T Yaigouy, C Gers, T Gauquelin, JP Mevy. Comparative Morphology of Leaf Epidermis in Eight Populations of Atlas Pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae) [Revue] // MICROSCOPY RESEARCH AND TECHNIQUE., Vol 70(10), pp: 837–846, (2007). <https://doi.org/10.1002/jemt.20483>.

174. S Kafkas, E Kafkas and R Perl-Treves. Morphological diversity and a germplasm survey of three wild *Pistacia* species in Turkey [Revue] // Genetic Resources and Crop Evolution, Vol 49. Pp: 261–270. (2002).

175. S. Kafkas R.Pperl-Treves, Morphological and molecular phylogeny of *Pistacia* species in Turkey. *Theor Appl Genet*, Vol 102, pp: 908–915. (2001). <https://doi.org/10.1007/s001220000526>.

176. S. Mecherara-Idjeri, A. Hassani, V.Castola, J. Casanova. Composition and Chemical Variability of the Essential Oil from *Pistacia lentiscus* L. Growing Wild in Algeria Part I: Leaf Oil, [Revue] // *Essential Oil Research*, Vol 20(1), pp: 32-38, (2008).

177. Samir Ait Said. Stratégies adaptatives de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. lentiscus* L. et *P. atlantica* Desf.) aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité : approche morpho-anatomiques, phytochimiques et écophysiologicals. Thèse de doctorat, Université Mouloud Mameri de Tizi-Ouzou, Algérie, 180 p. (2011).

178. Babu SVS, Shareef MM, Shetty APK et al. HPLC method for amino acids profile in biological fluids and inborn metabolic disorders of aminoacidopathies. *Indian J Clin Biochem*, Vol 17, pp : 7–26, (2002). <https://doi.org/10.1007/BF02867967>.

179. Saadoun SN. Types stomatiques du genre *Pistacia* : *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *Atlantica* et *Pistacia lentiscus* L., Options Méditerranéennes, pp: 369-371. (2002).

180. Sakagami H [et al.] Selective antibacterial and apoptosis-modulating activities of mastic. [Revue]. *In Vivo*, 23 (2), pp: 215-223. (2009).

181. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning*. Cris Nolan, ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989).

182. Santoni S, Patricia F.R, Emilce P & Daniel P. Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahiers Agricultures*, Vol 9, N°4, pp. 3327-3311. (2000).

183. Sheikhi A, Arab MM, Brown PJ, Ferguson L, Akbari M. Pistachio (*Pistacia* spp.) Breeding. In: Al-Khayri J., Jain S., Johnson D. (eds) *Advances in Plant Breeding Strategies: Nut and Beverage Crops*. Springer, Cham. (2019). https://doi.org/10.1007/978-3-030-23112-5_10.

184. Shields LM. Leaf xeromorphy as related to physiological and structural influences. *Bot. Rev* 16, 399–447 (1950). <https://doi.org/10.1007/BF02869988>.

185. Slatkin M, and Barton NH. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution*, Vol 43, pp: 1349–1368. (1989).

186. Stockwell C A, Hendry AP & Kinnison MT. Contemporary evolution meets conservation biology. *Trends Ecol. Evol.* Vol 18, pp: 94–101 (2003).
187. Stuessy TE. *The systematic evolution of comparative data.* Columbia Univ. Press, New York, USA. (1990)
188. Tela Botanica. *Pistacia lentiscus L. // eFlore, la flore électronique de Tela Botanica.* (2016).
189. List of references supporting the assessment of *Pistacia lentiscus L.*, resin (mastix), EMA/HMPC/46757/2015. The European Medicines Agency (2015).
190. Tingshuang Yi [et al.] Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). *American Journal of Botany*, Vol 95(2), pp: 241–251 (2008).
191. Trabelsi Hajer [et al.] Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus L.* growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*, Vol 131(2), pp: 434-440 (2012).
192. Turhan PS, Özcan T. Intraspecific variations studied by ISSR and IRAP markers in mastic tree (*Pistacia lentiscus L.*) From Turkey. *Trak. Univ. J. Nat. Sci.* Vol 19, pp: 147–157 (2018). <https://doi.org/10.23902/trkjnat.433329>.
193. VA Evreinoff. *Le Pistachier: Etude pomologique.* *Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée.* N° 2-7-9, pp: 387-415 (1955).
194. Rivera D, and C. Obón. 1991. *La guía de INCAFO de las plantas útiles y venenosas de la Península Ibérica y Baleares (excluidas medicinales).* INCAFO, Madrid.
195. Verdú M, Garcia-Fayos P. Reproductive ecology of *Pistacia lentiscus L.* (Anacardiaceae): an evolutionary anachronism in the Mediterranean shrubland. *Rev Chil Hist Nat*, Vol 75, pp: 57–65. (2002)
196. A Villar, MJ Sanz & M Paya. Hypotensive Effect of *Pistacia lentiscus L.* *International Journal of Crude Drug Research*, Vol 25(1), pp: 1-3, (1987) DOI: 10.3109/13880208709060902.
197. Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., de Lee TV, Hornes M., Frijters M., Pot J., Peleman J., Kuiper M., & Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting, *Nucleic Acids Research*, Vol 23, pp: 4407-4414p. (1995)
198. Wahid, N. C. González-Martínez, S., EL hadrami, I. & Boulli, A. Variation of morphological traits in natural populations of maritime pine (*Pinus pinaster Ait.*) in Morocco. *Ann. For.Sci*, Vol 63, pp: 83-92 (2005).
199. Watts, MJ., Button M., Brewer TS., Jenkin, G R.T., & Harrington,CF. Quantitative arsenic speciation in two species of earthworms from a former mine site. *Journal of Environmental Monitoring*, Vol 10, pp: 753–759. (2008).
200. Werner P. The ecology of urban areas and their functions for species diversity. *Landscape Ecol Eng*, Vol 7, pp : 231–240 (2011). <https://doi.org/10.1007/s11355-011-0153-4>.
201. Olaf Werner, Pedro Sánchez-Gómez, Miguel A. Carrión-Vílches & Juan Guerra. Evaluation of genetic diversity in *Pistacia lentiscus L.* (Anacardiaceae) from the southern Iberian Peninsula and

North Africa using RAPD assay. Implications for reforestation policy, *Israel Journal of Plant Sciences*, Vol 50(1), pp: 11-18 (2002). DOI: 10.1560/R57X-EANT-LJGW-HEJ7

202. Wright S. The genetical structure of populations. *Ann of Eugenetics*, Vol 15, pp: 323 –354 (1951).

203. Yi T., [et al.] Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). *American Journal of Botany* vol. 92 (2), pp: 241-251 (2008).

204. Z. MAAMERI –HABIBATNI. *Pistacia lentiscus L. : Evaluation pharmaco toxicologique [Thèse]. UNIVERSITE CONSTANTINE, (2014).*

205. Landau S., Muklada H., Markovics A., Azaizeh H. Traditional Uses of *Pistacia lentiscus* in Veterinary and Human Medicine. In: Yaniv Z., Dudai N. (eds) *Medicinal and Aromatic Plants of the Middle-East. Medicinal and Aromatic Plants of the World, vol 2. Springer, Dordrecht, (2014).* https://doi.org/10.1007/978-94-017-9276-9_8.

206. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D, Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification, *Genomics*, Vol 20(2), pp: 176-183 (1994).

207. Zohary M. A monographical study on the genus *Pistacia*. *Palestine Journal of Botany, Jerusalem*, Vol 5, pp: 187–228 (1957).