



Université Sultan Moulay Slimane
Faculté des Sciences et Techniques
Beni Mellal
Département des sciences de la vie



N° d'ordre 91/2016

Centre d'Etudes Doctorales « Sciences et Techniques » Formation Doctorale
« Ressources Naturelles, Environnement et Santé »

THESE

Présentée par

Mohammed El Hansali

Pour obtenir le grade de

Docteur

Spécialité : Biologie végétale

Option : Génétique et Amélioration Génétique des Plantes

Evaluation et valorisation du potentiel adaptatif des quatre espèces spontanées et semi-spontanées, en vue d'une réhabilitation des zones arides et semi arides.

Soutenue le 19 Mars 2016 devant la commission d'examen :

Abdelali BOULLI : Professeur à la FST Beni Mellal, (Président).

Hafida HANINE : Professeur à la FST Beni Mellal, (Examineur).

Charki GHOULAM : Professeur à la FST Guéliz, Marrakech, (Rapporteur).

Ahmed AIT CHAOUI : Professeur à la FST Beni Mellal, (Rapporteur).

Soumaya HAMMADA : Professeur à la FST Beni Mellal, (Rapporteur).

Abdelmajid HADDIOUI : Professeur à la FST Beni Mellal, (Directeur de thèse).

Résumé

L'humanité entière est frappée, ces dernières années, par un désastre environnemental. Les composantes principales de ce déséquilibre naturel, c'est tout d'abord le manque incessant des ressources en eau, l'augmentation de la salinité et la pression anthropique. Devant ce désordre écologique, la plupart des espèces végétales deviennent vulnérables. Par ailleurs, afin de pallier à ce problème, nous avons entrepris cette étude qui a choisi quatre espèces : Caroubier (*Ceratonia siliqua L.*), le figuier de Barbarie (*Opuntia Ficus-Indica L.*), l'Atriplex (*Atriplex halimus L.*) et le Medicago annuel (*Medicago truncatula Gaerth L.*) Ces espèces manifestent une grande tolérance à ces conditions de stress. Cette résistance est due au fait que ces espèces ont vraisemblablement gardé les gènes responsables de la résistance aux différents stress.

Ainsi, notre travail a été entamé depuis 2002 par une prospection sur presque tout le territoire national qui a abouti à une collection nationale du Caroubier. Dans notre laboratoire, à partir de ce matériel collecté, nous avons entrepris trois analyses distinctes, la première sur la recherche d'une variabilité des caractères morphologiques du fruit. La deuxième a concerné la variabilité isoenzymatique. Et la troisième sur la variabilité biochimique.

Au terme de cette étape, nous sommes parvenus à des résultats très probants qui convergent vers une diversité très significative du caroubier et ce sur le plan morphologique, isoenzymatique et biochimique.

En second lieu, nous avons lancé une autre étude sur le figuier de Barbarie en menant une étude comparative de la croissance de quatre variétés marocaines. Également les résultats de cette étude ont révélé l'existence d'une variabilité significative entre les variétés étudiées.

En dernier lieu, nous avons mené une autre investigation sur l'Atriplex et le Medicago annuel comme plantes fourragères. L'objectif de cette analyse a été, encore, une mise au point d'une variabilité entre les variétés de chacune de ces deux espèces. En effet les résultats ont montré une variabilité significative pour les caractères étudiés.

En somme, l'ensemble de ces résultats constitue une plate forme pour tout programme visant à introduire ces espèces dans des territoires où l'aridité et la salinité ont provoqué des dégâts considérables.

Mots clés : Aridité, Salinité, Tolérance, Caroubier, Fiquier de Barbarie, Atriplex et Medicago annuelle

Sommaire

Résumé	6
Introduction.....	7
PARTIE I	14
Le Caroubier	14
1. Le CAROUBIER: <i>Ceratonia siliqua</i> L.	15
1. 1. Taxonomie.....	15
1. 2. Données botaniques	15
1. 3. Reproduction biologique	18
2. ORIGINE ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	19
2. 1. Origine du caroubier	19
2. 2. Distribution géographique du caroubier.....	19
3. PROPRIETES ET UTILISATIONS	20
3. 1. Propriétés	20
3. 2. 2. 2. Graines	24
3. 2. 3. Feuilles.....	25
3. 2. 4. Ecorce.....	25
4. AIRE DE PRODUCTION.....	25
5. PROPAGATION DU CAROUBIER ET CONCEPTION DU VERGER	27
5. 1. Propagation du caroubier.....	27
5. 1. 1. Germination des graines.....	27
5. 1. 2. Propagation végétative: bouturage	28
5. 2. Conception du verger	30
6. RESSOURCES ET DIVERSITE GENETIQUES.....	30
6. 1. Ressource et variabilité génétique.....	30
6. 2. Amélioration génétique	32
6. 3. Quelques outils pour l'amélioration des ressources génétiques.....	32
6. 3. 1. Polymorphisme de plante.....	33
6. 3. 1. 1. Polymorphisme phénotypique.....	33
6. 3. 1. 1. 1. Polymorphisme agronomique	34
6. 3. 1. 1. 2. Variabilité de la taille du génome ou polyploïdie	34
6. 3. 1. 2. Polymorphisme biochimique.....	35
6. 3. 1. 3. Polymorphisme moléculaire.....	36
6. 3. 1. 3. 1. RFLP: <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>	37

6. 3. 1. 3. 2. RAPD: <i>Random Amplified Polymorphic ADN</i>	37
6. 3. 1. 3. 3. Microsatellites ou <i>SSR (Simple Sequence Repeats)</i>	40
6. 3. 1. 4. 4. ISSR: <i>Inter-Simple Sequence Repeat</i>	41
6. 3. 1. 3. 5. AFLP: <i>Amplified Fragment Length Polymorphism</i>	41
7. CONSERVATION DU CAROUBIER	43
MATÉRIEL ET MÉTHODES	45
1-MATERIEL BIOLOGIQUE	46
2. METHODES D'ANALYSE DE LA VARIABILITE MORPHOLOGIQUE ET ISOENZYMATIQUE	46
2.1. Caractères morphologiques	46
2.1.1. Caractères relatifs aux gousses.....	49
2.1.2. Caractères relatifs aux graines	49
2.1.3. Étude statistique des caractères morphologiques	49
2.1.3.1. Étude des caractères pris séparément.....	49
2.1.3.2. Analyse conjointe de tous les caractères	49
2.1.3.2.1. Analyse en composantes principales (ACP)	49
2.2. Les systèmes enzymatiques étudiés	52
2.2.1. Les oxydoréductases.....	52
2.2.2. Les transférases.....	52
2.2.3. Les isomérases	53
2.2.4. Les hydrolases	53
2.2.4.1. La leucine aminopeptidase LAP	53
2.2.4.2. L'alanine aminopeptidase AAP	53
2.3. Les méthodes d'extraction et de séparation des enzymes	53
2.4. EXTRACTION DES PROTEINES ENZYMATIQUES	54
2.4.1. Electrophorèse des extraits enzymatiques.	54
2.4.1.1. Préparation des gels de polyacrylamide.....	55
2.4.1.2. Migration.....	55
2.4.1.3. Révélation des isoenzymes sur gels de polyacrylamide.	55
2.3.METHODES D'INTERPRETATIONS DES RESULTATS	56
2.3.1. Étude du polymorphisme isoenzymatique	56
2.3.1.1. Niveau phénotypique.	56
2.3.1.1.1. Variabilité intrapopulation	56
2.3.1.1.2. Variabilité inter population	57
2.3.1.2. Au niveau génotypique.	58
2.3.1.2.1. Variabilité intrapopulation	58

2.3.1.2.1.1. Les fréquences alléliques.....	58
2.3.1.2.1.2. Le pourcentage des loci polymorphes (P%).....	58
2.3.1.2.1.3. Le nombre moyen d'allèles par locus (A).	58
2.3.1.2.1.4. Le taux d'hétérozygotie.	59
2.3.1.2.2. Variabilité interpopulation.....	59
2.3.1.2.2.1. Équilibre de Hardy-weinberg.....	59
2.3.1.2.2.2. Paramètre de différenciation.....	60
2.3.1.2.2.3. Distance génétique (D).....	60
RÉSULTATS.....	62
1- ÉTUDE MORPHOLOGIQUE.....	63
1.1. ÉTUDE DES CARACTERES PRIS SEPARÉMENT.....	63
1.1.1. Les caractères relatifs aux gousses.....	64
1.1.1.2. Largeur de gousse.....	64
1.1.1.3. Épaisseur de gousse.....	64
1.1.1.4. Nombre de graine par gousse.....	66
1.1.1.5. Poids de la pulpe.....	66
1.1.1.6. Proportions pondérales des graines.....	66
1.1.2. Caractères relatifs aux graines.....	66
1.1.2.1. Longueur de graine.....	66
1.1.2.2. Largeur de graine.....	66
1.1.2.3. Épaisseur de graine.....	67
1.1.2.4. Poids de graine.....	67
1.1.2. ÉTUDE MULTIVARIEE DE LA DIVERSITE PHENOTYPIQUE.	67
2.1.2.1. Matrice des corrélations.....	68
2.1.2.2. Absorption de la variabilité par les premiers axes de l'analyse en composantes principales.....	70
2.1.2.3. Projection des populations dans les plans 1, 2 et 3 de l'ACP.....	70
2.1.3. DISCUSSION ET CONCLUSION.....	71
3-ÉTUDE DU POLYMORPHISME ISOENZYMATIQUE.....	76
3.1. INTERPRÉTATION GÉNÉTIQUE DES ZYMOGRAMMES.....	77
3.1.1. La phosphoglucomutase (PGM).....	77
3.1.2. La phosphoglucoisomérase (PGI).....	78
3.1.3. Shikimate déshydrogénase (SKD).....	79
3.1.4. La leucine aminopeptidase (LAP).....	79
3.1.5. L'alanine aminopeptidase (AAP).....	79

3.2.ÉVALUATION DU POLYMORPHISME ISOENZYMATIQUE CHEZ <i>CERATONIA SILIQUA</i> L.....	80
3.2.1. Niveau phénotypique.....	80
3.2.1.1 Variabilité intrapopulation.....	80
3.2.1.2. Variabilité interpopulation	85
3.2.2. Niveau génotypique.	87
3.2.2.1.Structure génétique et génotypique intrapopulation	87
a-Niveau génique	87
a.1. Les fréquences alléliques	87
a-2. Le nombre moyen d'allèles par locus polymorphe (A_p).....	90
a-3 Le pourcentage de loci polymorphes (P)	90
b-Niveau génotypique	90
3.2.2.2 Structure génétique inter populations	92
3.2.2.2.1. Les F statistiques de Wright	92
3.2.2.2.2. Les distances génétiques de Nei (1978).....	92
3.3.DISCUSION ET CONCLUSION.....	95
ANNEXES	98
PARTIE II.....	101
Figuier de Barbarie	101
1. Origine et diffusion	102
2. Encadrement et caractéristiques botaniques de l' <i>Opuntia ficus-indica</i>	102
3. Rôle économique et écologique des <i>Opuntia</i> e.....	104
4. Aspects biologiques liés à la multiplication de l'espèce et technique de propagation.....	107
5. Ecophysiologie du genre <i>Opuntia</i>	109
5.1. Adaptations structurales aux milieux arides	109
5.2. Mécanismes d'arido-résistance	111
6. Techniques culturales pour le genre <i>Opuntia</i>	114
6.1. Choix de l'espèce et du cultivar.....	114
7. Implantation	114
8. Fertilisation du sol	117
9. Valeur nutritionnelle et utilisation zootechnique	118
10. Gestion de la ressource.....	122
11. L'utilisation de l' <i>Opuntia</i> comme source d'eau pour les animaux	127
Matériel et Méthodes	130
Resultats	Erreur ! Signet non défini.
et.....	132

Discussions.....	132
CONCLUSION.....	143
PARTIE III	144
L'Atriplex.....	144
1. Origine et Diffusion.....	145
2. Taxonomie, botanique et physiologie	145
3. Techniques culturales pour le genre <i>Atriplex</i>	148
3.1. Choix de l'espèce.....	148
4. Technique de propagation et plantation	151
5. Irrigation	151
6. Valeur nutritionnelle et utilisation zootechnique	155
RESULTATS.....	161
PARTIE IV.....	162
Medicago annuel.....	162
RESULTATS.....	163
CONCLUSION.....	164
ET PERSPECTIVES	164
REFERENCES.....	169
BIBLIOGRAPHIQUES.....	169

Résumé

L'humanité entière est frappée, ces dernières années, par un désastre environnemental. Les composantes principales de ce déséquilibre naturel, c'est tout d'abord le manque incessant des ressources en eau, l'augmentation de la salinité et la pression anthropique. Devant ce désordre écologique, la plupart des espèces végétales deviennent vulnérables. Par ailleurs, afin de pallier à ce problème, nous avons entrepris cette étude qui a choisi quatre espèces :

Caroubier (*Ceratonia siliqua L.*), le figuier de Barbarie (*Opuntia Ficus-Indica L.*), l'Atriplex (*Atriplex halimus L.*) et le Medicago annuel (*Medicago truncatula Gaerth L.*)

Ces espèces manifestent une grande tolérance à ces conditions de stress. Cette résistance est due au fait que ces espèces ont vraisemblablement gardé les gènes responsables de la résistance aux différents stress.

Ainsi, notre travail a été entamé depuis 2002 par une prospection sur presque tout le territoire national qui a abouti à une collection nationale du Caroubier. Dans notre laboratoire, à partir de ce matériel collecté, nous avons entrepris trois analyses distinctes, la première sur la recherche d'une variabilité des caractères morphologiques du fruit. La deuxième a concerné la variabilité isoenzymatique. Et la troisième sur la variabilité biochimique.

Au terme de cette étape, nous sommes parvenus à des résultats très probants qui convergent vers une diversité très significative du caroubier et ce sur le plan morphologique, isoenzymatique et biochimique.

En second lieu, nous avons lancé une autre étude sur le figuier de Barbarie en menant une étude comparative de la croissance de quatre variétés marocaines. Egalement les résultats de cette étude ont révélé l'existence d'une variabilité significative entre les variétés étudiées.

En dernier lieu, nous avons mené une autre investigation sur l'Atriplex et le Medicago annuel comme plantes fourragères. L'objectif de cette analyse a été, encore, une mise au point d'une variabilité entre les variétés de chacune de ces deux espèces. En effet les résultats ont montré une variabilité significative pour les caractères étudiés.

En somme, l'ensemble de ces résultats constituent une plate forme pour tout programme visant à introduire ces espèces dans des territoires où l'aridité et la salinité ont provoqué des dégâts considérables.

Mots clés : Aridité, Salinité, Tolérance, Caroubier, Fiquier de Barbarie, Atriplex et Medicago annuelle.

INTRODUCTION

L'humanité est confrontée actuellement, à un drame d'extrême ampleur menaçant même sa survie. Ceci concerne la sécurité alimentaire mondiale qui se trouve vacillante devant les conséquences néfastes des changements climatiques de ces dernières quarante années. En effet, la salinité excessive qui est un problème agronomique dont les conséquences sont de plus en plus sévères dans plusieurs endroits du monde. Ce problème affecte une part importante de la surface de notre globe, les estimations varient de 400 à 950 millions d'hectares (EL hansali M., 1992). En outre la diminution des niveaux des ressources hydriques dans les zones arides et semi-arides où la sécheresse est devenue une donnée structurelle.

Il semble alors, que cette sensibilité aux différents stress, notamment le stress salin et le stress hydrique, qui caractérise presque toutes les espèces cultivées pourrait être considérée comme une conséquence directe du phénomène de la domestication qui a été amorcé par les premiers hommes il y a presque 10 000 ans (Chalbi, 1991). En effet, ces espèces ont connu durant cette longue période une domestication et une sélection inconsciente probablement dans des milieux favorables. Ainsi les gènes qui sont à l'origine de la tolérance aux différents stress ont subi une « exclusion » progressive du pool génique (Mudie, 1974 ; Maas et al., 1978).

Au Maroc, le phénomène d'aridité, qui prend souvent l'ampleur de désertification, cause annuellement une perte d'environ 31 000 hectares. Face à ce problème agronomique, plusieurs solutions ont été avancées pour le développement des cultures :

A. Stress salin

- Dessolement des eaux d'irrigation ou des sols salés.
- Utilisation de pratiques culturales appropriées.
- Sélection d'espèces et variétés adaptées aux conditions de forte salinité.

Les deux premières solutions apparaissent onéreuses et difficiles à réaliser (Boyer, 1982). En revanche, c'est la dernière qui semble être la plus prometteuse. En effet, l'amélioration de la résistance au sel chez les espèces cultivées pourrait se faire :

- Soit par l'obtention des mutants présentant une forte tolérance saline et qui sont le produit d'une sélection par culture en vitro (Tal, 1983 ; Stavarek et Rains, 1984).
- Soit par le transfert des gènes provenant des plantes spontanées ou semi spontanées manifestant une forte résistance à la salinité en croisant ces dernières avec des plantes cultivées de la même espèce sensible au sel (Rains, 1982).

C'est dans cette perspective que les études se sont multipliées sur la recherche de types végétaux mieux adaptés aux conditions salines. C'est le cas de croisement entre des plantes cultivées sensibles au sel et des plantes spontanées résistantes au sel chez la Tomate (Rick, 1960,

1979 ; Epstein et al. , 1980 ; Sacher et al. , 1982 ; Tal et Shanon, 1983) ou des croisements inter variétales chez l'orge (Norlyn, 1980), chez le blé (Dvorak et al. , 1991).

Dans un travail antérieur, nous avons conduit une étude comparative, vis-à-vis de la salinité entre une variété appartenant à la forme cultivée : *Capsicum annuum* Var. *annuum* de l'espèce *Capsicum annuum* L. du Piment et une variété mexicaine appartenant à la forme spontanée : *Capsicum annuum* Var. *fasciculatum* de la même espèce.

En somme les fortes tolérances au sel ont été exprimées chez la forme spontanée et surtout chez l'hybride issu du croisement entre la forme cultivée et le forme spontanée. Cette performance est due au système génique codant pour une meilleure résistance au sel et qui provient du parent spontané (El hansali M. et al. , 1993 ; Harzallah H. , Dhaouadi . , El hansali M. et al. , 1994)

B. Stress hydrique

- Mise au point des techniques permettant une utilisation raisonnée et une économie des ressources hydriques.

- Sélection et introduction des espèces et variétés plus tolérantes. De telles espèces ont vraisemblablement gardé les gens responsables de la résistance aux différents stress.

Dans le présent travail nous avons entrepris des investigations sur quatre espèces végétales : le caroubier ; *Ceratonier siliqua* L. – le figuier de barbarie ; *Opuntia ficus indica* L. – l'Atriplex : *Atriplex halimus* L. et le Medicago annuel : *Medicago trunculato* Gaertn. Toutes ces espèces sont des plantes naturelles ou spontanées qui n'ont pas subi une amélioration intensive dans des conditions de cultures favorables. Elles gardent dans leurs génomes les gènes qui leur confèrent des stratégies d'adaptation et de résistance vis-à-vis de différents degré de contraintes salines et hydriques.

En effet le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), cesalpiniacées, est considéré comme une espèce forestière (ou semi forestière) typique du bassin Méditerranéen (Maroc, Tunisie, Algérie, Corse, Italie, Grèce, Portugal, Espagne, Chypre, Turquie) (Mitrakos, 1968 ; Batlle, 1997). Il a été utilisé depuis longtemps pour l'alimentation humaine et animale (Calixto *et al.*, 1982 ; Albanell *et al.*, 1991). L'espèce est de plus en plus utilisée par les industries agro-alimentaires (boissons sirupeuses ou fermentées, substitut du chocolat, biscuiterie, glaces, alimentations des bébés, etc.), pharmaceutique (antidiarétique, anticancérigène) diététique (régime d'amincissement) et cosmétique (Salari, 1982 ; Johnsen *et al.*, 1988 ; Neukom, 1988 ; Corsi *et al.*, 2002). Cette espèce est l'un des principaux arbres productifs de choix et peut être

introduit sans problèmes dans les aires les plus défavorisées (sols pauvres, pénurie en eau) grâce à sa rusticité, à ses facultés d'adaptation aux stress environnementaux et à sa rentabilité économique. Par conséquent, le caroubier peut contribuer au développement de ces zones par l'intensification de la production et l'amélioration de niveau de vie. Cependant, il a été négligé par

les programmes de recherche et de développement eu égard à d'autres espèces méditerranéennes. Des études multidisciplinaires (physiologie, pomologie, chimie, pharmacie, industrie) de cette espèce n'ont commencé à paraître qu'à la fin de années soixante-dix.

C'est une espèce agro-sylvo-pastorale ayant d'énormes intérêts socio-économiques et écologiques (Batlle et Tous, 1997 ; Gharnit *et al.*, 2001). Vu sa capacité de développer des stratégies d'adaptation morphologique, physiologique et biochimique vis à vis de différents degrés de contraintes hydriques, le caroubier s'installe favorablement dans les zones côtières, semi-arides et arides, d'où l'importance de son utilisation dans les programmes de reforestation et de reboisement est de plus en plus conseillée (Rejeb, 1995 ; Batlle et Tous, 1997). Par ailleurs, cet arbre est d'une importance économique considérable ; ses gousses, plus riches en sucre que la canne à sucre et la betterave sucrière, sont utilisées en industrie alimentaire et pharmacologique (NAS, 1979 ; Batlle, 1997 ; Markis et Kefalas, 2004).

Au Maroc, le caroubier est largement reparti sous forme de peuplements spontanés ou artificiels (Emberger, 1938 ; Ouchkif, 1988). Les traits morphologiques et physiologiques ont été traditionnellement utilisés pour l'identification et la gestion des cultivars du caroubier (Tous et Batlle, 1990). Cependant, ces caractères sont souvent influencés par les facteurs environnementaux ce qui entraînerait souvent des erreurs dans le choix et la sélection des cultivars. Par ailleurs, l'utilisation des critères liés aux fleurs et fruits qui sont aussi importants dans la détermination d'un cultivar, peut être limitée seulement aux arbres adultes et exclure les jeunes plantes dont le sexe n'est défini qu'après 6 ans de développement. Récemment, les marqueurs isoenzymatiques et moléculaires ont été développés et appliqués comme moyen de différenciation entre les cultivars du caroubier.

L'exploitation rationnelle du caroubier et l'élaboration des stratégies de sa conservation, devraient passer au préalable par l'analyse de la diversité des populations naturelles. Cette recherche, conjointement à celles se rapportant aux modalités de propagation, à la culture, à la biologie florale et aux mécanismes régissant l'adaptation de l'espèce aux stress biotiques et abiotiques, devraient conduire à une meilleure valorisation du caroubier au Maroc.

Dans cette optique, le présent travail a commencé tout d'abord par de nombreuses prospections effectuées dans différentes régions du Maroc pour la collecte de fruits des populations de cette espèce. Une évaluation de la diversité génétique de ces populations a été ensuite entreprise. Elle a été faite selon deux approches différentes :

- Une approche morphologique, basée sur la variabilité des caractères de fruits et de graines (El hansali M. *et al.*, 2005 ; Sidina M.M., El hansali M. *et al.*, 2009)

- Une approche biochimique, basée sur l'étude du polymorphisme isoenzymatique (Sidina M.M., El hansali M. et al., 2011)

Le figuier de barbarie est un arbre originaire des régions arides et semi-arides du Mexique d'où il a été introduit en Afrique du Nord après son introduction en Espagne vers le 16^{ème} siècle. Il occupe actuellement une superficie de 200.000 ha en Afrique du Nord (Kerny, 1997). Jusqu'aux années soixante dix peu d'intérêts ont été accordés à cette espèce.

Actuellement la culture du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica L.*) constitue une meilleure alternative pour la lutte contre les effets de la sécheresse. En effet, cette culture contribue aussi bien à la mise en valeur, des sols pauvres qu'à leur protection contre l'érosion. Elle est actuellement pratiquée de façon intensive et moderne dans plusieurs pays. Soit en tant que culture fourragère, ou en tant que culture maraîchère. La production de fruit reste cependant l'aspect le plus recherché et le plus développé.

A l'exception des zones sahariennes et des montagnes, le figuier de barbarie est largement représenté dans le paysage rurale marocain, en plantations plus au moins régulières, au tour des villages, en haies limitant les parcelles de culture ou de vergers (Loudyi, 1997). La grande importance de l'*Opuntia* c'est qu'il a transformé les tribus nomades en communauté rurale, de cette manière il représente une phase intermédiaire entre l'élevage du chaptel et l'agriculture permanente.

Opuntia ficus indica couvre dans l'Afrique du Nord près de 200.000 ha avec 60 000 ha en Tunisie toute seule, où elle se localise dans la région centrale du Nord. En Algérie, le cactus peut être trouvé dans les régions côtières aussi qu'à l'intérieur du pays (Monjauze, Le Houerou, 1965). Au Maroc, il est très diffusé et utilisé dans la région du Rif où les précipitations sont souvent entre 500 et 600 mm, dans la plaine du Nord-est et Nord-ouest et dans les régions côtières depuis Sidi-Ifni jusqu'à Tanger, mais aussi dans plusieurs zones continentales du Sud où les précipitations entre 200 et 400 mm. Dans ces régions on le rencontre dans des altitudes allant de 0 à 1000 m (Dehbi et Radouane, 2000)

L'importance agro-économique du figuier de barbarie, réside dans le fait qu'il prend de plus en plus de l'importance, car en plus de son rôle écologique pour la valorisation des terres incultes, il peut être utilisé comme culture fruitière, fourragère et industrielle.

Dans ce travail nous avons entrepris une évaluation de quatre origines, cultivars ou variétés. Cette étude a été menée dans une parcelle expérimentale dans la commune rurale d'Ouelad Hassoun Hamri à Bengurire dans la région de Rhamna en collaboration avec la Direction Provinciale d'Agriculture de Kalaa Sraghna. Ce travail a consisté à évaluer la production en biomasse d'une manière non destructive.

Cette parcelle expérimentale (pilote) rentre dans le cadre de la promotion de la culture du cactus dans cette région à climat sec tout en protégeant les sols contre l'érosion. Ce projet a été dirigé par la DPA Kalaa Sraghna.

Dans la présente étude (El hansali M ., 2004) nous nous sommes limités à la comparaison de la croissance de quatre variétés d'*Opuntia ficus indica* L., (Haddaouia, Aissa, Moussa et Skhour) implantées pendant l'année 2000 dans cette parcelle dotée d'une superficie de 2 ha et d'une densité de plantation de 1000 pieds / ha, réparties entre les quatre cultivars.

L'échantillonnage a consisté à dénombrer le nombre des raquettes produits chaque année ainsi que leurs dimensions, la longueur et l'épaisseur. Le choix des pieds à évaluer a été systématique en échantillonnant un pied et en sautant le suivant, un total de 81 pieds a été retenu par variété.

L'ensemble des données ont été approchées par des analyses descriptives pour chacun des paramètres mesurés (longueur, largeur et épaisseur) et par variété. De même, des approches statistiques approfondies telle la comparaison des moyennes par l'analyse de la variance ont été effectuées.

> *L'Atriplex halimus* L. appartient au genre *Atriplex*, famille des chénopodiacées, un certain nombre d'espèces de ce genre présentent un intérêt fourrager (Francllet et Le Houerou, 1971; Osmond et al., 1980; Le Houerou, 1992).

Les espèces d' *Atriplex* qui sont des plantes annuelles ou pérennes, herbacées ou arbustives, occupant en général des environnements à caractère aride et salin (Storey et Wyn Jones, 1979; Glenn et al., 1995).

En effet, les éleveurs utilisent quelques espèces de ce genre dans l'alimentation de leur bétail pendant les périodes de l'arrêt de la végétation des herbacés imposé surtout par les hautes températures dans les régions arides.

Le rendement des *Atriplex* varie selon le facteur génétique, edaphoclimatique et technique. Certaines espèces peuvent atteindre une production de 2 tonnes de matière sèche /hectare/année (Aronson et al., 1988). D'autres espèces dans des milieux arides, produisent entre 200 à 1500 kg de matière sèche/hectare/année (Le Houerou, 1986).

Ces espèces présentent une production de 170 kg de protéines brutes/hectare/année (Le Houerou, 1992); avec un taux appréciable d'azote (Francllet et Le Houerou, 1971; Wyn Jones et Gorham, 1986; Le Houerou, 1992).

La teneur moyenne de protéines brutes varie selon les espèces elle est de 9,6% de la matière sèche chez *Atriplex canescens* (Welch, 1978); de 14% chez *Atriplex hamilus* L. (Choukr-Allah, 1991); entre 15 et 20% chez d'autres espèces (Wyn Jones et Gorham, 1986).

Les espèces de ce genre manifestent des caractéristiques leur permettant de végéter des contextes où sévit le stress hydrique (Mc Arthur et Sanderson, 1984). Les plantes de ces espèces sont capables de survivre pendant longtemps en absence d'eau, *Atriplex halimus* L. peut traverser des périodes de 12 mois avec une pluviométrie de 50 mm. Ainsi plusieurs stratégies adaptatives sont mises au point par ces espèces. Ces mécanismes sont d'ordre morphologique: développement des

racines, chute des feuilles ou physiologique: régulation des stomates et la présence de poils à la surface des feuilles, d'autres mécanismes sont d'ordre biochimique consistant à modifier le système photosynthétique et protoplasmique.

Ces potentialités adaptatives de ces espèces ont été exploitées dans plusieurs endroits. Dans l'Espagne, *Atriplex nummularia* produit presque 2000 kg de matière sèche par hectare et par années (Correal et al., 1996). En Libye l'introduction de *Atriplex halimus* L. s'est faite avec succès où la pluviométrie annuelle est de 150 mm (Le Houerou, 1992).

Nous avons été tentés par les traits adaptatifs de l'espèce *Atriplex halimus* L. ce qui nous a conduit à entreprendre une analyse comparative entre 5 populations naturelles marocaines et ce pour l'effet de la salinité sur la croissance des plantes de ces 5 populations. Les résultats de cette étude ont montré qu'il y a une variabilité très significative entre les populations étudiées (Haddioui A., Bouda S., Ould Mohamed Lemine M.M., Hammada S. et El hansali M., 2007).

>*Medicago truncatula* Gaertn L. appartient au genre *Medicago*, familles des Papilionacées. Comme beaucoup des espèces de cette famille, les espèces de *Medicago* fixent l'azote atmosphérique grâce à la symbiose avec une bactérie du sol, *Rhizobium meliloti*. Cette espèce végète les milieux arides et semi aride, elle est capable de tolérer des sols pauvres.

Dans la même perspective nous avons entrepris des recherches sur le *Medicago* annuelle: *Medicago truncatula* Gaertn L.. Ainsi une variabilité hautement significative des caractères morphologiques a été obtenue suite à l'analyse de la variance des populations naturelles de cette espèce (El hansali et al., 2008). Nous avons mené une autre étude qui a révélé une diversité génétique des populations naturelles du *Medicago truncatula* Gaertn L. au Maroc en utilisant le polymorphisme isoenzymatique (Haddioui A., El hansali M. et al., 2012)

En somme, ces résultats acquis à ce stade de travail nous permettent de confirmer qu'il y a une diversité génétique significative au sein des quatre espèces analysées et ce pour les différents critères fixés. De telle variabilité pourrait constituer une plate forme pour le lancement d'éventuels programmes d'amélioration de ces quatre espèces à fin de dresser une stratégie rationnelle de réhabilitation et d'aménagement des zones arides tout en contribuant au développement.

PARTIE I

Le Caroubier

1. Le CAROUBIER: *Ceratonia siliqua* L.

1. 1. Taxonomie

Scientifiquement, le caroubier est appelé *Ceratonia siliqua*. Ce nom dérive du grec *keras* et du latin *siliqua*, faisant allusion à la forme de son fruit qui ressemble à la ‘corne’ de bouc (Bolonos, 1955). Par ailleurs, le nom dialectal *kharouf*, originaire d’hébreu, a donné lieu à plusieurs dérivés tels *Kharroub* en arabe, *algarrobo* en espagnol, *carroubo* en italien, *caroubier* en français, etc... En outre, les graines de caroube, vu leur uniformité, sont appelées ‘carats’ et ont servi pendant longtemps aux joailliers comme unité de poids pour peser les diamants, les perles et d’autres pierres précieuses (1 carat = 205,3mg) (Rejeb, 1995).

Le genre *Ceratonia* appartient à la famille des *Leguminosae* (*Fabaceae*) de l’ordre des *Rosales*. Toute fois, cette position taxonomique reste litigieuse. Il est généralement placé dans la tribu des *Cassieae*, sous famille des *Cesalpinoïdæ*. Cependant, certains auteurs tels que Irwin et Barneby (1981) et Tucker (1992a et b), ont émis des réserves en ce qui concerne la véracité de ce positionnement. Par ailleurs, des études cytologiques ont révélé que le genre *Ceratonia* qui possède un nombre total du chromosome $2n=24$ est éloigné des autres membres des *Cassieae* dont le nombre du chromosome est $2n=28$ (Goldblatt, 1981; Bureš et al., 2004). En plus, certains auteurs ont désigné *Ceratonia* comme étant l’un des genres les plus archaïques des légumineuses (Tucker, 1992a) et qui serait complètement isolé des autres genres de sa famille (Zohary, 1973).

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

1. 2. Données botaniques

Le caroubier est un arbre à croissance lente, pouvant atteindre une quinzaine de mètres de hauteur (Quezel et Santa, 1962/63). Il possède une cime très étalée et un tronc dont la base peut atteindre 2 à 3 mètres de circonférence (Fig. I. 1). Sa longévité est importante, dépassant souvent les 200 ans (Rejeb et al., 1991). Ses feuilles, de 10 à 20 cm de longueur, sont persistantes, composées (4 à 10 folioles glabres), vertes, luisantes sur la face dorsale, plus claires et mates sur la face ventrale, à folioles ovales entières, légèrement échancrées au sommet et paripennées (Diamantoglou et Mitrakos, 1981; Rejeb, 1995).



Figure I. 1: L'arbre du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.)

L'arbre est dioïque, parfois hermaphrodite et rarement monoïque (Linskens and Scholten, 1980; Batlle et Tous, 1988). Les pieds mâles sont stériles et improductifs (Rejeb, 1995). Les fleurs mâles, femelles et hermaphrodites poussent sur des pieds différents. D'après Tucker (1992a), les fleurs sont initialement bi-sexes et au cours de leur développement, l'une des fonctions sexuelle mâle ou femelle est supprimée.

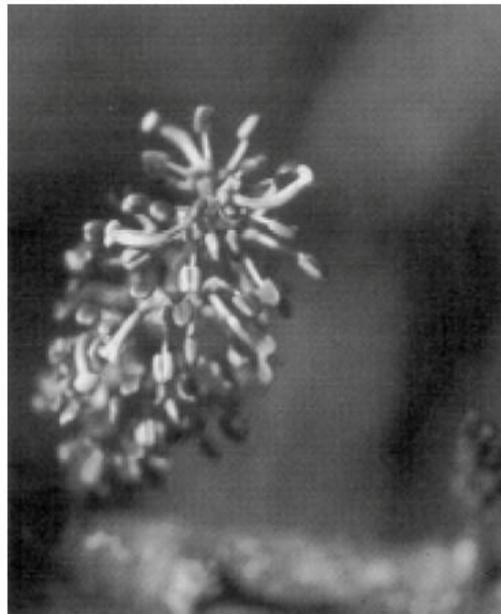
Les fleurs sont verdâtres, de petite taille (6 à 16 mm de longueur), spiralées et réunies en un grand nombre pour former des grappes droites et axillaires plus courtes que les feuilles à l'aisselle desquelles sont développées (Fig. I. 2) (Batlle et Tous, 1997). Les fleurs femelles sont constituées d'un pistil court et recourbé avec un petit ovaire (5 à 7mm) bi-carpelle. Les stigmates sont bilobés et couvertes par des papilles. A la base, le disque nectarifère est entouré de 5 à 6 sépales rudimentaires. Par contre, la corolle est absente et les fleurs mâles portent 5 étamines (Aafi, 1996).



a



b



c

Figure I. 2: Inflorescence mâle (a), fleurs femelles et gousses (b) et fleurs hermaphrodites

(c) (Batlle et Tous, 1997)

Les grains de pollen sont ellipsoïdes avec aux pôles 28 à 29 μm de diamètre et à l'équateur 25 à 28 μm (Ferguson, 1980; Linskens et Scholten, 1980) et peuvent germer facilement (Sfakiotakis, 1978).

Le fruit du caroubier se développe très lentement nécessitant 9 à 10 mois pour atteindre la maturité. Il est de grande taille, 10 à 30 cm de longueur et 2 à 3.5 cm de largeur et indéhiscant après maturité. Il est vert puis brun et au moment de la maturité, brun foncé à noir. Il est sinueux sur les bords, aplati, droit ou arqué et présente un tissu pulpeux sucré et rafraîchissant. La gousse est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses et renferme 12 à 16 graines brunes dont la longueur et la largeur sont respectivement de 8 à 10 mm et de 7 à 8 mm (Batlle et Tous, 1997).

1. 3. Reproduction biologique

De nombreux aspects liés à la reproduction biologique du caroubier, tel que la floraison, la pollinisation, la compatibilité entre les différents sexes ou encore entre les cultivars, ainsi que la fructification, restent largement inconnus (Batlle et Tous, 1997). Le caroubier est considéré comme le seul arbre méditerranéen qui fleurisse en été : d'août à octobre (Aafi 1996) ou en automne : de septembre à novembre (Fournier 1977). Cependant, le temps et la durée de période de la floraison dépendent des conditions climatiques (Batlle et Tous, 1997). Quatre types d'inflorescence décrits par Schroeder (1959) peuvent occasionnellement être rencontrés sur un même arbre:

- les fleurs pistillées,
- les fleurs pistillées avec parfois des fleurs parfaites ou staminées (l'arbre se comporte comme un pied femelle),
- les fleurs parfaites avec parfois des fleurs staminées,
- les fleurs staminées ; la fleur peut démarrer hermaphrodite puis il y a une chute des pistils et la fleur devient staminée du point de vue structure et fonction.

La pollinisation des fleurs du caroubier est, en grande partie, assurée par les insectes (Retana *et al.*, 1990, 1994; Rejeb *et al.*, 1991; Ortiz *et al.*, 1996) mais aussi par le vent (Passos de Carvalho, 1988; Tous et Batlle, 1990). Les trois sexes de fleur, sécrètent des substances nectarifères dont la quantité et la contenance en sucre sont élevées dans la fleur femelle par apport à son homologue mâle (Ortiz *et al.*, 1996).

La fructification, chez le caroubier, se situe entre juillet et décembre de l'année qui suit la floraison, selon les régions et les cultivars (Aafi, 1996). D'après Haselberg (1996), la variation dans l'intensité d'inflorescence et la production des gousses, est plutôt liée à des facteurs endogènes qu'aux aléas climatiques. Toutefois, des conditions défavorables de l'environnement peuvent entraver, d'une manière significative, la production des fruits (Batlle et Tous, 1997).

2. ORIGINE ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE

2. 1. Origine du caroubier

Le lieu d'origine du caroubier demeure aberrant. Toutefois, De Candolle (1983) et Vavilov (1951) ont rapporté qu'il serait native de la région Est méditerranéenne (Turquie et Syrie).

Par contre, Schweinfurth (1894) a insinué qu'il est originaire des pays montagneux du Sud d'Arabie (Yémen). Tardivement, il a été considéré, par Zohary (1973), comme originaire de la flore d'Indo-Malaisie, groupé avec *Olea*, *Laurus*, *Myrtus* et d'autres plantes. Par ailleurs, *Ceratonia oreothauma* est la seule espèce connue et originaire du Sud-est d'Arabie (Oumane) et des bordures de la corne africaine (Nord de Somalie) (Hillcoat et al., 1980).

2. 2. Distribution géographique du caroubier

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



Figure I. 3: Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997)

Le caroubier a été également, introduit avec succès dans plusieurs autres pays ayant un climat méditerranéen. C'est le cas en Australie, en Afrique du Sud, aux Etats Unis (Fig. I. 3) (Arizona, Californie du Sud), aux Philippines et en Iran (Evreinoff, 1947; dans Batlle et Tous, 1997). Généralement, la distribution des espèces arborescentes, telle que *C. siliqua* est limitée par des stress liés aux froids (Mitrakos, 1981). En effet, l'espèce *C. oreothauma* qui semble être plus sensible au froid a une répartition restreinte et limitée seulement à Omane et au Somalie (Hillcoat et *al.*, 1980). Dans les zones basses méditerranéennes (0-500m, rarement 900m d'altitude), le caroubier constitue une essence dominante et caractéristique du maquis des arbres sclérophylles (Zohary et Orsham 1959; Folch i Guillen, 1981).

Au Maroc, le caroubier est présent, sous forme des plantations naturelles ou artificielles, dans l'ensemble du pays jusqu'à 1150m d'altitude à l'exception des zones très arides (Emberger et Maire, 1941; Metro et Sauvage, 1955; Quezel et Santa, 1962/63; Guinochet et Vilmorin, 1984). Il est rencontré dans le Rif occidental et oriental, le pré-Rif, le Rharb, le Saïa, l'Anti Atlas, le Haut Atlas septentrional et le Plateau Central (Aafi, 1996). Les peuplements de caroubier s'intègrent dans l'ordre des *Pistacio-Rhamnenalia* (Achhal et *al.*, 1980), qui englobe des groupements de matorrals arborés claires ou arbustifs et qui sont soit naturels soit introduits en tant qu'essences régénératrices de forêts.

3. PROPRIETES ET UTILISATIONS

3. 1. Propriétés

La pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total. Selon plusieurs auteurs, la composition chimique de la pulpe dépend, en générale, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte (Orphanos et Papaconstantinou, 1969; Vardar et *al.*, 1972; Calixto et Cañellas, 1982; Albanell et *al.*, 1991).

La pulpe est très utilisée soit comme aliment diététique, soit comme remplaçant du chocolat, ou encore en alimentation animale. Elle est très riche en sucre (48- 56%), en particulier, sucrose, glucose, fructose et maltose (Tableau I. 1), mais pauvre en protéines (2- 6%) et en lipides (0.4- 0.6%) dont les acides saturés et insaturés sont en proportions égales (Leroy, 1929; Puhan et Wieling, 1996). A partir d'extrait de gousses, cinq acides aminés, en l'occurrence, alanine, glycine, leucine, proline et valine, ont été isolés par Vardar et *al.*, (1972) et deux autres composés, tyrosine et phénylamine, ont été rapporté par Charalambous et Paconstantinou (1966). En plus, la pulpe présente également une teneur très élevée en fibres (27- 50%) et une quantité non négligeable en tanins (18- 20%) (Saura- Calixto, 1987; Puhan et Wielinga, 1996). Par ailleurs, l'analyse minéralogique faite, par Puhan et Wielinga (1996), sur

la pulpe, a révélé une composition (en mg/100g de pulpe) de: K= 1100, Ca= 307, Mg= 42, Na= 13, Cu= 0.23, Fe= 104, Mn= 0.4, Zn= 0.59.

Tableau I. 1: Composition moyenne de la pulpe de caroube

Constituant	%
Sucres totaux	48 – 56
Sucrose	32 – 38
Glucose	5 – 6
Fructose	5 – 7
Pintol	5 – 7
Tannins	18 – 20
Polysaccharides non amines	18
Cendre	2 – 3
Lipides	0.2 – 0.6

Puhan et Wielinga (1996; cité dans Batlle et Tous, 1997)

La graine est composée de 30 à 33% d'enveloppe tégumentaire, de 42 à 46% de l'albumen et de 23 à 25% d'embryon (Neukom 1988). L'enveloppe tégumentaire est considérée comme étant une source naturelle pour la production de polyphénol antioxydant (Batista et al., 1996; Makris et Keflas, 2004). L'albumen est essentiellement constitué de gomme ou galactomannane, qui est une molécule polysaccharidique composée de deux unités de sucre, mannose et galactose, à une proportion de 4:1, peu similaire à la gomme de guar (*Cyamopsis tetagonolobus*) (2:1) et celle de Tara (*Colosasia esculenta* L.) (3:1) (Fig. I. 4). Ce polysaccharide naturel est doté de diverses propriétés importantes, à savoir une haute viscosité dans l'eau, même à température et à pH variables (García-Ochao et Casas 1992), une capacité de former à partir d'une solution très diluée de stable solution visqueuse et une haute potentialité de réagir avec d'autres polysaccharides induisant ainsi un effet de synergie (Puhan et Wielinga, 1996).

La valeur nutritionnelle de la gousse du caroubier est considérée similaire à celle de la plupart de céréales (Coit 1962; NAS 1979). Selon Noblet et al., (1989), la valeur d'énergie métabolique (EM) de la farine de caroube est estimée à 13.1MJ EM/kg de produit frais.

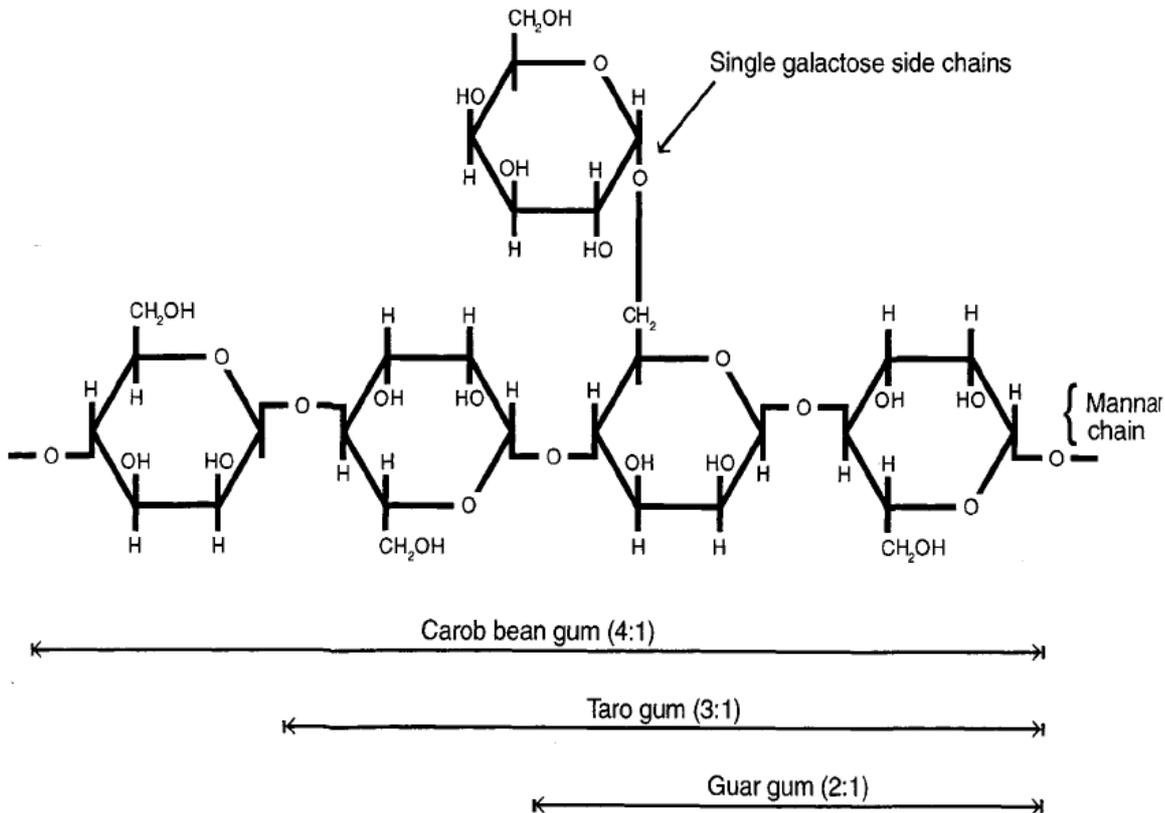


Figure I. 4: Gomme de caroube, de Taro (*Colosasia esculenta* L.) et de Guar (*Cyamopsis tetagonolobus*) (de Puhan et Wiellinga (1996) rapporté par Batlle et Tous, 1997).

3. 2. Utilisations du caroubier

Le caroubier se présente comme une essence à la foie forestière et arboricole. Il est d'une grande importance économique, écologique et sociale. Son utilisation est multiple.

3. 2. 1. Arbre

L'arbre isolé peut être utilisé comme plante ornementale ou pour son ombre au bord des routes, c'est le cas en Californie, Australie et ailleurs. Les pieds mâles, qui ne fournissent pas de gousses sont les plus préférés dans le domaine d'ornementation (Batlle et Tous,

1997). Il peut être également utilisé en verger comme plantation homogène destinée à la production commerciale (Espagne, Portugal et Grèce).

Basé sur sa faible exigence en culture, sa grande tolérance vis-à-vis des sols pauvres, le caroubier est de plus en plus recommandé pour la reforestation des zones côtières dégradées sous l'effet d'érosion ou de désertification (Batlle et Tous, 1997). Actuellement, il est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers le plus performant; puisque toutes ses parties (feuilles, fleurs, fruits, bois, écorces et racines) sont utiles et ont des valeurs dans plusieurs domaines (Aafi, 1996).

3. 2. 2. Fruit

Dans les pays producteurs, les gousses de caroube ont été, traditionnellement, utilisées non seulement en alimentation des animaux ruminants (Louca et Papas, 1973) ou non ruminants (Sahle et *al.*, 1992), mais aussi en alimentation humaine. Après l'écrasement des gousses et séparation de pulpe et des graines, les produits dérivés de ces deux éléments sont principalement utilisés dans plusieurs domaines (Tableau I. 2).

3. 2. 2. 1. Pulpe

La farine issue de pulpe peut servir comme ingrédient de certains menus de pâtisseries: gâteau, pain, bonbon, crème glacée, boisson (NAS, 1979; Vidal, 1985) ou utiliser comme substituant du cacao dans le chocolat, car elle est moins calorifique et ne contient ni caféine ni théobromine (Whiteside, 1981; Craig et Nguyen, 1984). Par ailleurs, la pulpe a été le premier produit d'horticulture utilisé en fermentation, dans plusieurs pays méditerranéens, pour la production d'alcool industriel (Merwin,

1981). En Egypte, les sirops à base de fruits de caroube constituent une boisson populaire (Batlle et

Tous, 1997).

Selon certains auteurs, les organismes unicellulaires jouent un rôle important dans l'amélioration et la conversion de la pulpe en fourrage hautement riche en protéines. En effet, les extraits de sucres des gousses ont fourni un excellent substrat pour la culture fongique tel que *Aspergillus niger* et *Fusarium moniliforme*. Les mycéliums, une fois, séchés ont donné du fourrage agréable et nutritif, contenant plus de 38% de protéines brutes par rapport à leur poids (Imrie, 1973; Sekeri-Pataras et *al.*, 1973).

De nombreuses études ont démontré l'influence positive de la farine de caroube sur la performance et la santé des animaux soumis à un régime alimentaire (Lizardo et *al.*, 2002). Par ailleurs, elle joue un rôle effectif dans la suppression des parasites intestinaux (Min et Hart 2003) et dans le traitement de diarrhée (Serairi-Béji et *al.*, 2000). Les tanins, pectine et β -carotène ont été, jadis, utilisés en Egypte dans la médecine «traditionnelle» pour traiter la diarrhée (Hamed et *al.*, 2003). Selon certains auteurs, les fibres solubles de la pulpe peuvent avoir un effet préventif ou curatif sur la santé humaine et animale, grâce à la réduction du

risque de thrombose par *biais* de la diminution de pression sanguine et le niveau de cholestérol dans le sérum (Williams et *al.*, 1995; Beaggar et *al.*, 1996).

Tableau I. 2: Principaux produits dérivés de la gousse (pulpe et graines) et quelques majeures utilisations (Batlle et Tous, 1997)

Produit	Traitement subi	Usage
Pulpe		
Brute	Aucun	alimentation animale (chevaux et ruminants)
Moulu		alimentation humaine et animale
extraction et purification	Sucre	
fermentation et distillation		production d'alcool et protéine bactérienne
Poudre moulu	Lavage, séchage, torréfié et	Ingrédient d'aliment; substituant de cacao; préparation des produits diététiques et pharmaceutiques
Graines		
Endosperme choyé; produits pharmaceutiques et cosmétiques	meuler	additives d'aliments; fibres diététiques; aliments
Embryon	Meuler	Substrat microbien; nutrition humaine et animale
Enveloppe tégumentaire	extraction	Tannins pour tanner les cuirs

3. 2. 2. 2. Graines

Les graines de caroube sont bien appréciées et recherchées pour leurs qualités et multiples usages industriels. L'utilisation possible, dans l'industrie alimentaire, de polyphénol antioxydant contenu naturellement dans l'enveloppe tégumentaire (Makris et Kafalas, 2004) a soulevé d'énormes intérêts au même titre que la production industrielle de gomme de caroube (Batista et *al.*, 1996). La gomme issue de l'endosperme constitue le 1/3 du poids total de graine et 100kg de graines produisent en moyenne 20kg de gomme pure et sèche (Jones, 1953).

Cette gomme mucilagineuse est utilisée dans plusieurs produits commerciaux comme agent stabilisateur, épaississeur, agglomérant et gélifiant (Batlle, 1997). En plus, elle est utilisée en industrie alimentaire pour la fabrication d'un grand nombre de denrées alimentaires: crème glacée, soupe, sauce, biscuit, tourte, confiserie, produits de boulangerie et nourriture des animaux. Par ailleurs, son application dans les domaines techniques est large. Elle est utilisée en imprimerie, photographie, textile, matière plastique, encre, cirage, matière adhésive et pharmaceutique et cosmétique (Johnson et *al.*, 1988; Neukom, 1988; Tous et Batlle, 1990).

3. 2. 3. Feuilles

Dans les domaines forestiers, les pieds mâles sont souvent taillés pour le fourrage. Plusieurs études ont montré que l'utilisation des feuilles associées avec le polyéthylène glycol (PEG) améliore la digestibilité et la qualité nutritive des tanins contenus dans les feuilles (Silanikove et *al.*, 1996; Priolo et *al.*, 2000). Rejeb et *al.*, (1991) ont estimé la valeur nutritive des feuilles du caroubier à 0.25uf/kg de matière sèche. Les extraits des feuilles qui contiennent de tanins ont été, en Turquie, utilisés dans la médecine 'traditionnelle' pour traiter la diarrhée et dans l'alimentation diététique (Baytop, 1984). Ces extraits foliaires ont été également désignés comme étant porteurs des activités cytotoxiques et antimicrobiennes (Kivçak et Mart, 2002)

3. 2. 4. Ecorce

L'écorce du caroubier a été toujours utilisée en tannerie, particulièrement dans l'achèvement et l'émaillage des peaux (Batlle, 1997). En Turquie, elle a été également utilisée par la médecine 'traditionnelle' comme remède anti-diarrhée (Baytop, 1984).

4. AIRE DE PRODUCTION

Selon Batlle et Tous (1997), l'aire totale de la production mondiale du caroubier est estimée à 210.000ha (Tableau I. 3). La plus grande superficie, 148.000 ha, se trouve dans les pays méridionaux de l'Union Européenne (Espagne, Italie, Portugal et Grèce) qui comptent 74% des superficies plantées et 70% de la production mondiale des fruits.

La production mondiale de caroube est estimée à 310.000 tonnes. Elle est essentiellement concentrée en Espagne, en Italie, au Portugal, au Maroc, en Grèce, au Chypre, en Turquie, en Algérie et autres (Tableau I. 3). Par ailleurs, de faibles productions ont été enregistrées en Croatie, en Tunisie, à Malte, en Australie, en Californie et en Afrique du sud.

Tableau I. 3: Superficies occupées par le caroubier et production mondiale (Batlle et Tous, 1997).

Pays	Superficie (ha)	Production de		Production	
		gousses		graines	
		t	%	t	%
Espagne	82 000	135 000	43.5	12 000	37.5
Italie	30 000	45 000	14.5	4 000	12.5
Portugal	21 000	30 000	9.7	3 600	11.3
Maroc	25 000	26 000	8.4	4 800	15.0
Grèce	15 000	20 000	6.5	1 800	5.6
Chypre	12 000	17 000	5.5	1 700	5.3
Turquie	≈10 000	15 000	4.8	1 800	5.6
Algérie	≈5 000	7 000	2.3	800	2.5
Autres*	≈10 000	15 000	4.8	1 500	4.7
Total	210 000	310 000	100	32 000	100

* Australie, Afrique du Sud, USA, etc.

Durant le siècle dernier, la production mondiale de caroube a connu une chute dramatique, elle est passée de 650.000t en 1945 (Orphanos et Papaconstantinou 1969) à 310.000t en 1997. La grande perte a été enregistrée en Espagne où la production a chuté de 400.000t en 1930 à 150.000t en 1990 (MAPA, 1994). Selon Batlle (1997), la régression accusée dans la production du caroubier, a été principalement liée à la baisse des prix et aux programmes du développement des zones côtières au dépend des plantations de caroubier.

Contrairement au Maroc, cette production a connu une augmentation significative ; elle est passée de 19.248t en 1981 à 24.000t en 1986 (Ouchkif, 1988b) puis à 26000t en 1997 (Batlle, 1997) et elle est estimée à 45000-50000t (Gharnit et *al.*, 2001). Les principales populations spontanées sont concentrées dans les régions de Tafechma au Nord et Ait Ishaq au Sud et à Agadir (Ouchkif, 1988a). Cependant, les trois domaines d'exploitation, commercialement connus, sont Fès, Marrakech et Agadir. La superficie occupée par le caroubier spontané, est estimée à 25000ha, mais de nouveaux vergers ont été plantés dans différentes régions du Maroc, ce qui laisse à prévoir, pour les années à venir, une hausse modérée dans la production nationale.

5. PROPAGATION DU CAROUBIER ET CONCEPTION DU VERGER

D'après Zohary (1973,1996), la région méditerranéenne serait le centre de la domestication du caroubier. Se basant sur les données de littérature et archéologiques, il a rapporté que le caroubier était,

Pour les cultivateurs, la propagation végétative constitue une des solutions aux problèmes liés à la grande diversité qui caractérise la reproduction sexuée. Ainsi, les plantes juvéniles de caroubier possédant des caractéristiques supérieurs et prometteurs, ont été empiriquement choisies et propagées par clonage (Batlle et Tous, 1997).

5. 1. Propagation du caroubier

Les donneurs potentiels de greffon sont des plantules issues de graines et qui varient largement dans leur vigueur et leur aptitude à résister au froid. Actuellement, aucun procès et ni collection sélectionnée ne sont disponibles en tant que donneurs de greffons. Toutefois, ils sont essentiellement reconnus par leur système racinaire bien développé. Les plantules sont greffées 1 ou 2 ans après leur germination dans une pépinière, puis transplantées dans les vergers (Batlle et Tous, 1997).

5. 1. 1. Germination des graines

Bien que les graines de caroubier peuvent se maintenir intactes, pendant plusieurs années et

à basse température, il serait judicieux d'utiliser celles provenant de la dernière récolte et de semer très tôt, au début du printemps (Goor et Barney, 1968; Hong et *al.*, 1996).

Les graines sont dotées d'une enveloppe tégumentaire épaisse et dure, ce qui nécessite une scarification préalable pour faciliter la germination. Un prétraitement avec de l'eau bouillante, l'acide sulfurique (H₂SO₄) ou l'acide gibberelline (AG₃) peut améliorer considérablement le taux de germination (Batlle et Tous, 1997). Avec l'acide sulfurique, le résultat de la germination est spectaculaire (Frutos, 1988), mais la durée de scarification est variable en fonction des cultivars et des provenances des graines (Konaté, 2001).

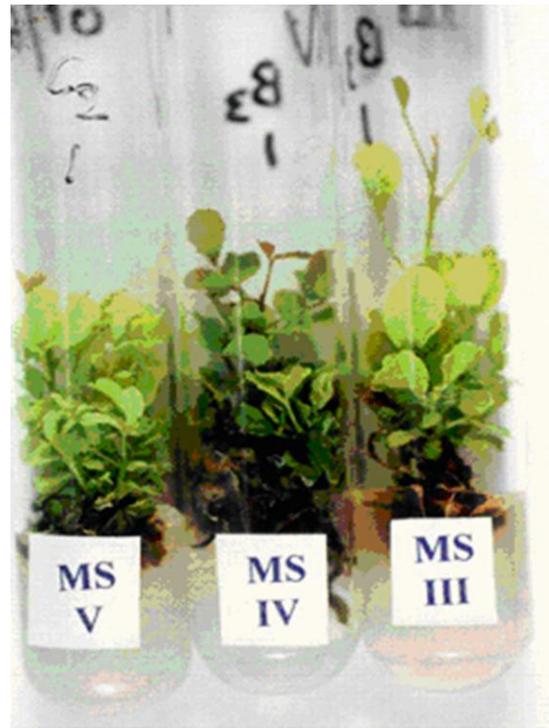
5. 1. 2. Propagation végétative: bouturage

Le caroubier a été décrit par Lee et *al.*, (1977) et Hartmann et Kester (1983), comme une espèce capricieuse, très difficile à enraciner et à bouturer. Ses potentiels d'enracinements adventifs sont jugés très faibles. Cependant, Alorda et *al.*, (1987) ont pu, *in vitro* et après stérilisation et traitement hormonal (IBA), enraciner des explants composés de coupes sub-terminales de plantules âgées de 2 à 3 ans. Trois critères semblent être importants à en tenir compte pour réussir l'induction d'une rhizogénèse: la période du prélèvement de l'explant, le type de bouture (âge et position) et le génotype du donneur (potentiel d'enracinement) (Batlle et Tous, 1997). Cependant, la transplantation au champ des boutures enracinées *in vitro* est problématique ; son taux de réussite est satisfaisant selon Alorda et Medra (1988), trop faible selon Cabrita et *al.*, (1988).

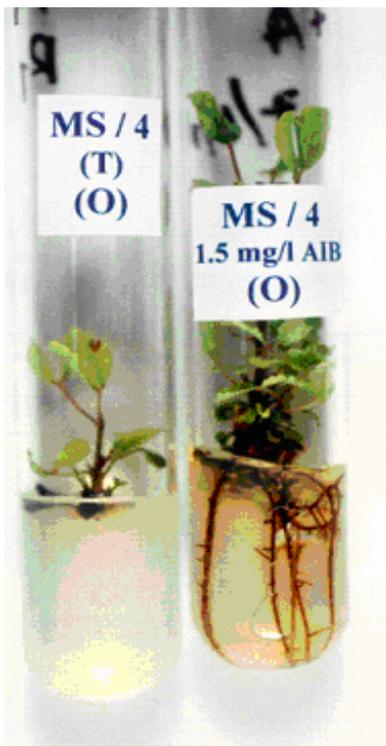
Par ailleurs, de nombreux travaux et essais, utilisant des explants juvéniles et adultes, ont été réalisés, afin d'améliorer la micro-propagation du caroubier (Martins-Loução et Rodriguez-Barrueco, 1982; Sebastian et McComb, 1986; Vinterhater et *al.*, 1992; Belaizi et *al.*, 1994; Alorda et Medrano, 1996; Gharnit, 1997). Des tentatives d'enraciner, au laboratoire, de coupes faites au dessus des cotylédons des plantules âgées de 2 et 12 mois, ont été concluantes (Konaté, 2001). Après stérilisation et traitement hormonal (5 mg/L d'AIB), 30% des deux types d'explants ont été enracinés (Fig. I. 5d). Pourtant, les coupes provenant des plantules néoformées à partir de culture d'apex *in vitro* (Fig. I. 5 a et b) et traitées avec 1.5mg/L d'AIB, ont enregistré 80% de rhizogénèse (Fig. I. 5c) (Konaté, 2001). Cependant, nous ne disposons d'aucune information sur la réussite et la stabilisation des vitroplants transférés au champ.



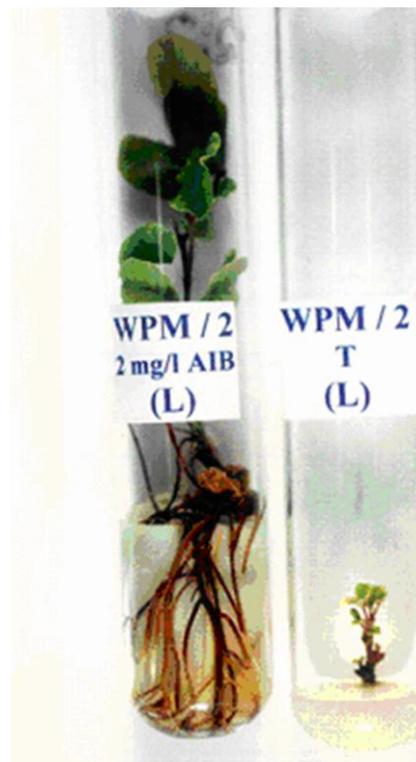
a



b



c



d

Figure I. 7: Micro-propagation de caroube *via* culture d'apex *in vitro* (a et b) et enracinement de vitroplant (c) et d'expant issu de plantule de 12 mois (d).

5. 2. Conception du verger

Dans les pays méditerranéens, la densité des arbres de caroubier dans les vergers est, généralement, basse et variable. Elle est environ de 25 à 45 arbres/ha, espacés de 15x15 à 20x20m (Batlle et Tous, 1997). Au Maroc, cette densité est évaluée à 15-45 arbre/ha (Gharnit et *al.*, 2001). Communément, ces plantations ont une conception triangulaire et sont fréquemment inter-mêlées par des oliviers, des vignes et des amandiers. Dans les vergers modernes, l'espacement entre les arbres a été réduit afin d'intensifier la récolte (Batlle et Tous, 1997). Actuellement, pour les vergers situés sur les sols secs et pauvres, notamment dans le pourtour méditerranéen, la densité recommandée est de 100 et 175 arbres/ha avec un espacement de 9x9m à 7x8m entre les arbres (Tous et Batlle, 1990).

L'arrangement des pieds pollinisateurs (males et/ou hermaphrodites) dans le verger a été ignoré par beaucoup de planteurs, ce qui pourrait soit diminuer la production soit contribuer à l'abondance de la récolte (Sfakiotakis, 1978; Batlle et Tous, 1997). Ces pollinisateurs, doivent, cependant, être parsemés en modèle régulier, aux alentours et à l'intérieur du verger. Leur proportion dans le verger dépend vraisemblablement de l'activité des insectes et du vent, notamment durant la période de pollinisation, et aussi du pollen apte à germer (Russo, 1954). Cette proportion varie de 4% selon Coit (1949) à 20% selon Merwin (1981). Néanmoins, il serait suffisant de planter environ 12% d'arbres pollinisateurs, soit environ 1 pied mâle pour 8 pieds femelles (Tous et Batlle, 1990).

6. RESSOURCES ET DIVERSITE GENETIQUES

6. 1. Ressource et variabilité génétique

Le caroubier a été, depuis des siècles, propagé en culture par semis et plus tard par bouturage et greffage. Ainsi, les plantes choisies au hasard, dans les populations locales, ont été à la base de la sélection des cultivars et l'établissement des vergers commerciaux (Batlle et Tous 1997). De ce fait, le caroubier cultivé ne diverge pas beaucoup de son ancêtre sauvage (Zohary, 1973). Toutefois, les différents cultivars recensés actuellement dans le monde se distinguent entre eux par leur vigueur, leur taille, leur qualité de gousses, leur graines, leur productivité et leur résistance aux maladies (Batlle et Tous, 1997).

Cependant, des études basées sur l'analyse enzymatique (Isozymes), ont révélé de très faible niveau de polymorphisme entre les cultivars de différentes origines (Tous et *al.*, 1992; Batlle et *al.*, 1996) et de même origine (Barracosa et *al.*, 1996). Ce dernier type d'analyse, a montré une grande similarité entre les caroubiers de type sauvage et cultivé (Batlle et *al.*,

1996). Par contre, l'analyse cytologique et particulièrement la taille du chromosome, des caroubiers présents dans la réserve 'Evolutio n Canyon d'Israel', a révélé une large variabilité

intra-spécifique par la présence d'individus diploïdes, triploïdes et tétraploïdes (Bureš et al., 2004).

Par ailleurs, les dérives génétiques et la pression sélective provoquées par le phénomène d'érosion génétique ont occasionné d'énormes inconvénients dans la conservation des variétés génétiques de cette espèce (Batlle et Tous, 1997).

Les cultivars communément connus dans les vergers commerciaux sont essentiellement composés de femelles sélectionnées et quelques pieds males et/ou hermaphrodites éparpillés. La sélection a été traditionnellement basée sur la qualité du fruit notamment la grandeur de la gousse, le poids de pulpe et la teneur en sucre. Sachant que la quantité de la pulpe et le nombre de graines d'une gousse sont corrélés négativement, les planteurs se sont plus penchés sur le critère de rendement des gousses en graines qui est actuellement plus valable et rentable sur le plan commercial.

Tableau I. 4: Les principaux cultivars de caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997)

Pays	Région ou district	Cultivar ou type
Espagne Barcelone, Málaga	Tarragona, Valence, Majorque, Valence, Ibiza,	Castellón, 'Negra', 'Matalafera', 'Duraio', 'Rojal', 'Bugadera', Alicante, 'Costella d'Ase', 'Mollar', 'Lindar', 'Melera', Murcia, 'Sayalonga', 'Comuna', 'Boval', 'Del Pom', 'Banyeta', 'Borrera', 'Cacha', 'Banya de Cabra', 'Casuda'
Italie Bari	Sicile, Apulia	'Gibiliana', 'Racemosa', 'Saccarata', 'Amele di
Portugal	Algarve, Alentej	'Mulata', 'Galhosa', 'Canela', 'AIDA'
Maroc Mokrisset, Bab Taza	Fès, Marrakech,	Agadir, 'Lanta', 'dkar: types sauvages non greffés'
Grèce	Crète	'Hemere', 'Tylliria'
Chypre	Toutes les îles	'Tylliria'
Turquie	Côte méditerranéenne, Izmir	Type 'sauvage' et 'charnu', type 'Sisam'
Tunisie	Tabarka, Beni-Khiar, Sfax	'Sfax'
Israël		'Tylliria', 'Sandalawi', 'Habati', 'Aaronsohn nos'
USA	Californie	'Santa Fe', 'Clifford', 'Bolser', 'Grantham'
Australie	Sud et Ouest australien	'Bath', 'Irlam', 'Maitllan', 'KP-1', 'Princess', 'Marshall no. 1'

Les principaux cultivars de caroubier recensés à travers les différents pays du monde, ont été consignés dans le tableau (I. 4). En Espagne, les cultivars sont caractérisés par leur haute teneur en pulpe dans les gousses, avec un rendement moyen en graine de 8 à 10%. En effet, les cultivars des îles Baléares se distinguent par une grande production en graines pouvant atteindre 16%, contrairement aux écotypes spontanés d'Andalousie où le rendement en graines ne dépasse pas 8% (Batlle et Tous, 1997). Au Maroc, il existe deux cultivars, 'lanta' qui est le type greffé et 'dkar' le type sauvage et la production massive de gousse est assurée par des populations spontanées qui ont enregistré un rendement très élevé en graines : 15% selon Ouchkif (1988b) et 12 à 25% selon Gharnit et *al.*, (2001). Ces graines sont caractérisées par des péricardes non charnues (Ouchkif, 1988b).

6. 2. Amélioration génétique

Jusqu'au aujourd'hui, la seule amélioration apportée au caroubier, a été l'oeuvre des planteurs. Ces derniers ont sélectionné par hasard les plantes estimées prometteuses afin de greffer les géotypes les moins fructueux. L'absence d'un programme planifié pour la reproduction et la multiplication du caroubier serait, en grande partie, due à son importance relativement mineure. En effet, un tel programme incluant la reproduction et le choix de la progéniture des futures plantes, est sensiblement coûteux, notamment que plus de 8 années peuvent s'étaler du semis à la fleur, rendant le processus très lent (Batlle et Tous, 1997). L'usage des marqueurs moléculaires, particulièrement pour déterminer le sexe, pourrait non seulement accélérer la première sélection, mais aussi tous les processus. Cependant, le système de reproduction y compris la pollinisation et l'expression du sexe sous les contraintes écologiques, demeure non élucidé. Par ailleurs, divers clones issus des vieux arbres qui ont, dans le temps, accumulé différentes mutations spontanées, peuvent être exploités pour sélectionner les meilleurs clones à des fins commerciales (Batlle et Tous, 1997).

6. 3. Quelques outils pour l'amélioration des ressources génétiques

Des réflexions critiques concernant les stratégies empiriques de l'amélioration génétique des rendements dans les milieux à fortes contraintes, ont abouti à la proposition d'une stratégie globale associant des études conduites à différents niveaux d'intégration (génome, plante, peuplement) et intégrant divers outils physiologiques, génétiques et moléculaires (Monneveux et Depigny-This, 1995).

6. 3. 1. Polymorphisme de plante

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

6. 3. 1. 1. Polymorphisme phénotypique

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

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

L'analyse de diverses données morphologiques permet d'identifier et de caractériser des groupes de diversité et de préciser leur constitution. Cette description a été utilisée pour caractériser les types sauvages et cultivés du caroubier (Crossa-Raynaud, 1960; Navarro, 1992; Tous *et al.*, 1996). Elle a été, en grande partie, à la base d'identification et de sélection des cultivars qui constituent le principal gémplasma espagnol (Tous *et al.*, 1996; Batlle et Tous, 1997). Par ailleurs, les traits liés à la taille d'inflorescence et au nombre de fleurs par inflorescence, qui sont indépendants des conditions environnementales, ont servi d'outils, dans plusieurs pays, pour caractériser et étiqueter les pieds mâles et femelles du caroubier (Linskens et Scholten, 1980; Retana *et al.*, 1994; Gharnit *et al.*, 2004).

6. 3. 1. 1. Polymorphisme agronomique

Les caractères agronomiques, à immense intérêt, sont généralement quantitatifs, à contrôle oligo ou polygénique et à «manipulation» complexe. Ils sont souvent soumis aux besoins et choix commerciaux et peuvent être regroupés en plusieurs catégories: caractère lié à la production (précocité, rendement), vigueur de plante, qualité de fruit, résistance aux stress biotiques (maladies et parasites) et abiotiques (stress hydrique, thermique, salinité). En effet, en Espagne et précisément en Andalousie, les types de caroubier locaux non greffés sont plus tolérants au froid par rapport aux cultivars greffés (Tous et *al.*, 1995). Le caractère de la production a été utilisé par Gharnit et *al.*, (2001) pour distinguer 4 variétés de caroubier au Maroc: (i) *lanta* type greffé à moyenne et haute régularité de production; (ii) *dkar* productif type greffé ayant une production variable; (iii) *dkar* improductif type florissant, à fleur mâle, femelle et hermaphrodite, mais qui ne produit pas de fruits; et (iv) variété stérile, extrêmement rare et non florissante. Par ailleurs, plusieurs auteurs estiment que la production de graines est plus importante chez les caroubiers sauvages que chez les types cultivés (Marakis et *al.*, 1988; Di Lorenzo, 1991; Tous et *al.*, 1995; Gharnit et *al.*, 2001).

6. 3. 1. 1. 2. Variabilité de la taille du génome ou polyploïdie

La caryologie qui est l'étude du génome pendant la phase diploïde de l'individu, permet de distinguer les différents taxons par la taille, la forme et le nombre de leurs chromosomes, incluant le nombre et la taille de satellite (Davis et Heywood, 1973; Stace, 1989). Le nombre de chromosomes est normalement constant au sein d'une espèce et la morphologie de chaque paire chromosomique lui est caractéristique. Toutefois, des conditions éco- géographiques peuvent induire des variations au niveau de la taille du génome dans une même espèce (Bureš et *al.*, 2004). En effet, la variabilité intraspécifique liée au phénomène de polyploïdie et corrélée aux conditions écogéographiques, a été rapporté par certains auteurs chez plusieurs plantes, incluant *Poa annua* (Grime, 1983) *Dactylis glomerata*. (Reeve et *al.*, 1998), *Sesleria albicans* (Lysák et *al.*, 2000) et *Ceratonia siliqua* (Bureš et *al.*, 2004).

Cette étude permet d'établir un «caryotype» qui constitue une «carte d'identité chromosomique» ou caryogramme, représentation schématique du génome haploïde. Elle peut être basée sur la technique classique d'observation de caryotype des cellules de pointes racinaires; mais aussi sur les techniques plus récentes de banding (C ou D: coloration chromosomique) ou d'hybridation *in situ* (utilisation de sonde spécifique d'ADN) (Birkam et Kimber, 1974; Teoh et *al.*, 1983; Shang et *al.*, 1988). Actuellement, une nouvelle approche

rapide permettant la détermination du niveau de ploïdie d'une espèce, a été élaborée. Il s'agit de la cytométrie en flux (CMF), basée sur la mesure de fluorescences, qui permet l'estimation du contenu en ADN (Arumuganathan et Earle, 1991), sa répartition dans les différentes phases du cycle cellulaire (Jayat et Ratinaud, 1993) ou simplement la recherche du degré de ploïdie (Brown et *al.*, 1991; dans Belkadi, 2003).

Se basant sur l'utilisation de technique de cytométrie en flux (CMF), Blakesly et *al.*, (2002) ont mis en évidence l'existence d'un niveau naturel de polyploïdie (di, tri et tétraploïde) au sein des plantes légumineuses et en particulier chez le genre *Acacia*. Par ailleurs, l'usage de la même technique a permis à Bureš et *al.*, (2004) de détecter dans la réserve 'Evolution Canyon, Israël (ECI)' et chez *Ceratonia siliqua* L., de diversité intraspécifique par l'obtention des individus di, tri et tétraploïdes.

6. 3. 1. 2. Polymorphisme biochimique

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

On peut citer en premier lieu, la recherche de composés synthétisés lors d'un stress hydrique (Rejeb et *al.*, 1991; Ledoigh et Courdert, 1992). De composés de métabolisme secondaire (flavone, polyphénol, terpène) ont été trouvés chez *Triticum*, *Aegilops* et *Ceratonia* (Cooper et *al.*, 1994; Min et Hart, 2003; Makris et Kefalas, 2004).

En second lieu, il y a des protéines possédant des propriétés amphotères et qui peuvent être séparées par électrophorèse sur gel. Différentes méthodes d'électrophorèse sont utilisées selon l'espèce: les protéines de réserve, les isozymes ou les empreintes protéiques (Weber et Wirke, 1994).

Les protéines de réserve de graine (gliadines, glutenines) sont facilement séparées par électrophorèse mono-dimensionnelle sur gel de polysaccharide. Souvent polymorphes, elles se sont avérées un moyen rapide d'identification de diverses espèces ou cultivars, en particulier chez les plantes céréalières (Branlard et *al.*, 1989; Metakostvsky et Baboer, 1992). Une autre technique, permettant de séparer les protéines totales par électrophorèse bi- dimensionnelle

après dénaturation, a été mise au point par O'Farrell (1975). La première migration s'effectue sur un gradient de pH (électrofocalisation) induisant la séparation des protéines selon leur point isoélectrique et la seconde favorise la séparation des protéines selon leur poids moléculaire en présence d'agents dénaturants (SDS et β -mercaptoéthanol) (Gorg et al., 1980; Pernès, 1984). Cette dernière méthode est lourde et coûteuse d'où rarement utilisée pour les études de diversité; mais plutôt complément des techniques moléculaires pour cartographier des gènes de structure exprimés et traduits dans un organe donné (De Vienne et al., 1995; dans Belkadi, 2003).

Les isozymes sont l'ensemble de multiformes, d'une même enzyme résultant génétiquement de différences dans la structure primaire, issues de même organisme. Les échantillons sont déposés sur un gel d'amidon (support poreux) et grâce à un tampon chimique, la migration s'effectue sous l'action d'un champ électrique, et les enzymes, étant chargées négativement, vont migrer vers le pôle positif. Ainsi, les différentes molécules sont séparées selon leur charge et secondairement selon leur poids moléculaire. Ces isozymes ont les mêmes propriétés catalytiques induisant, après l'addition d'un substrat spécifique naturel ou artificiel, l'apparition d'un produit terminal coloré (visible) et insoluble (Westman et Kresovich, 1997).

Ces marqueurs, bien qu'ils soient codominant, sont accusés d'une sous estimation du polymorphisme réel, seule la partie codant est détectable (Gottlieb, 1977).

Les marqueurs enzymatiques ont été utilisés afin de caractériser et comparer le caroubier de types sauvages et cultivars issus de différentes (Tous et al., 1992; Batlle et al., 1996) ou de mêmes origines (Barracosa et al., 1996).

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

6. 3. 1. 3. Polymorphisme moléculaire

L'amélioration des plantes est basée sur une large utilisation de la variabilité génétique naturelle et sur des méthodes d'exploitation rapides et fiables de cette diversité dans les programmes de sélection. Les marqueurs moléculaires 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 (Adam et Dron, 1993). 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 (De Vienne, 1990). Ils présentent également différents avantages comparés aux marqueurs morphologiques et protéiques; très nombreux, neutres vis à vis de la sélection, couvrent le génome entier, indépendants de la partie de la plante prélevée et de son stade de développement et indépendants des influences environnementales (FAO, 1996; dans Belkadi, 2003). Il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires, mais ce chapitre sera consacré aux RFLP, RAPD, Microsatellites ou SSR, ISSR et AFLP.

6. 3. 1. 3. 1. RFLP: *Restriction Fragment Length Polymorphism*

La technique RFLP ou polymorphisme de longueur des fragments de restriction permet une analyse directe du génotype. Elle réside principalement sur la détection de la variabilité de la taille de séquences nucléotidiques du génome, générées par la digestion enzymatique et révélées par hybridation avec une sonde marquée (ADNc, séquence anonyme, séquence clonée...) (Southern, 1975; Beckmann et Soller, 1986).

Le polymorphisme révélé par cette technique peut être illimité et concerne toutes les parties du génome notamment en fonction de diverses enzymes de restriction et des sondes utilisées (Gentzbittel, 1990; Adam et Dron, 1993). Ces sondes peuvent être de différentes natures: ADNc, ADN génomique total et ADN cytoplasmique ou mitochondrial (Pradhan et al., 1992; Karp et Edward, 1997).

De nombreuses études génétiques ont été menées grâce à ce type de marqueur surtout chez plusieurs espèces de plantes (Lefort Buson et al., 1990), comme *Brassica* spp., par Song et al., (1990) et par Förster et Knaak (1995), la tomate par Miller et Tranksley (1990), le blé (*Triticum*, *Aegilops*) par Gill et al., (1992), Dubcovsky et al., (1996) et par Mingeot et Jacquimin (1999), le tremble (*Populus* spp.) par Liu et Furnier (1993), le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par Cornique et Mercier (1994), et l'olivier (*Olea europaea*) par Khadari et al., (2003).

Cette méthodologie, malgré le progrès présenté dans l'identification et amélioration des variétés, semble devoir être remplacée dans certain nombre de cas par les méthodes d'amplification d'ADN (PCR) et leur adaptation à l'amélioration des plantes plus rapides, plus aisées et faciles à mettre en œuvre (Williams et al., 1990; Adam et Dron, 1993).

6. 3. 1. 3. 2. RAPD: *Random Amplified Polymorphic ADN*

Le polymorphisme d'AND amplifié au hasard ou RAPD est produit par la technique PCR (Polymerase Chain Reaction; Réaction de Polymérisation en Chaîne), utilisant d'ADN génomique, d'une amorce aléatoire courte d'environ 10 nucléotides et d'enzyme *Taq*

polymérase (Welsh et McClelland, 1990; Williams et *al.*, 1990). Les fragments générés en nombre quasiment illimité, sont répartis dans tout le génome, non spécifiques de locus et dominants qui ne peuvent donc mettre en évidence l'état hétérozygote. Le polymorphisme observé se traduit par la présence ou l'absence de bande chez les différents génotypes. En effet, l'amplification avec les marqueurs RAPD obéit à la loi de «tout ou rien» mettant en jeu des amorces très spécifiques (Adam et Dron, 1993). 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 (Park et *al.*, 1991).

Les marqueurs RAPD ont été utilisés dans l'élaboration des cartes génétiques de plusieurs plantes (MacRobert et *al.*, 1999), notamment *Arabidopsis* (Reiter et *al.*, 1992), Luzerne (Echt et *al.*, 1991) et *Petuni* (Peltier et *al.*, 1994) et dans l'étude de la structuration de la diversité au sein d'un grand nombre d'espèces (Tableau I. 4), particulièrement au niveau inter et intra-spécifique (Thormann et *al.*, 1994; Castragna et *al.*, 1997; Khadari et *al.*, 2003; Chen et Yamaguchi, 2005) et au niveau de cultivars d'olivier (Sanz-Cortés et *al.*, 2001).

Tableau I. 4: Technique RAPD utilisée dans l'étude du polymorphisme génétique de différentes espèces de plante

Espèce	Références
<i>Aegilops</i> spp. Zaharieva et al., 1999	Okuno et al., 1998; Monte et al., 1999;
Apricot (<i>Prunus armenaica</i> L.)	Gogorcena and Parfitt, 1994.
Arabidopsis thaliana	Reiter et al., 1992
Arachis hypogaea	Dwived et al., 2001
Blé (<i>Triticum</i> spp.)	Devos et Gale, 1992
Bombyx mori	Pradeep et al., 2005
<i>Brassica</i> spp.	Divaret et Thomas, 1998; Geraci et al., 2001; Jain et al., 1994
Caféier (<i>Coffea</i> spp.)	Lashermes et al., 1993
Cacaoyer (<i>Theobroma cacao</i> L.)	Wild et al., 1992
Celerie (<i>Apium graveolens</i> L.)	Yang et Quiros, 1993
Fève (<i>Vicia faba</i> . L.)	Link et al., 1995
Figuier (<i>Ficus carica</i> L.)	Khadari et al., 1994
Laitue (<i>Lactuca sativa</i> L.)	Waycott et Fort, 1994
Lentille (<i>Lens culinaris</i> spp.)	Ahmad et al., 1996
Luzerne	Echt et al., 1991
Maïs (<i>Zea mais</i> L.)	Welsh et McClelland, 1990
Manguier (<i>Magifera indica</i> L.)	Schnell et al., 1995
Mil (<i>Panicum</i> spp.)	M'Ribu et Hilu, 1994
Oignon (<i>Allium</i> spp.)	Wilki et al., 1993; Friesen et al., 1999
Olivier (<i>Olea europaea</i>) Cortés et al., 2001	Belaj et al., 2001; Khadari et al., 2003; Sanz-
Orobanche (<i>Orobanche</i> spp.)	Samec et Nasinec, 1995
Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera</i> L.)	Corniquel et Mercier, 1994; Sedra et al., 1998)
Pistacia vera	Hormaza et al., 1994
Populus spp.	Liu et Furnier, 1993
Riz (<i>Oryza sativa</i> L.)	Virk et al., 1995
Thé (<i>Camellia</i> spp.)	Chen et Yamaguchi, 2005
Tomate (<i>Lycopersicon</i> spp.)	Klein-Lankhorst et al., 1991
Soja (<i>Glycine</i> spp.)	Li et Nelson, 2001; Xu et Gai, 2003
Vigne (<i>Vigna angularis</i>)	Yee et al., 1999

Source: (Belkadi, 2003) avec actualisation.

Par ailleurs, cette technique a été utilisée pour produire des marqueurs spécifiques aux espèces de figuier et de *Triticeae* (Khadari *et al.*, 1994; Wei et Wang, 1995; Cao *et al.*, 1999), pour gérer des germplasmes (Kresovich *et al.*, 1992; Belaj *et al.*, 2001; Geraci *et al.*, 2001; Sanz-Cortés *et al.*, 2001; Khadari *et al.*, 2003; Chen et Yamaguchi, 2005) et pour établir la phylogénie de 40 cultivars d'olivier (Sanz-Cortés *et al.*, 2001). Selon Cao *et al.*, (1999), ces marqueurs constituent un moyen efficace d'identification d'espèces et de reclassement des accessions mal classées, ce qui diminue le coût de stockage et de régénération des collections.

Des marqueurs RAPD liés aux gènes de résistance à certains agents pathogènes ont été identifiés chez plusieurs plantes. En effet, chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), 18 marqueurs liés à 11 locus impliqués dans la résistance à la cécidomyidé ou "Hessian fly" ont été caractérisés par Dweiket *et al.*, (1997). Chez les cultivars du blé, des marqueurs RAPD liés aux gènes de résistance à la rouille brune (Lr24) et jaune (Yr17) ont été également identifiés et transformés en marqueurs SCAR "Sequence Characterized Amplified Region" (Dedryver *et al.*, 1996; Rober *et al.*, 1999). En plus, elle a pu produire chez certaines espèces dioïques, telle que les cultivars de *Pistacia vera*, des marqueurs liés au sexe (Hormaza *et al.*, 1994).

6. 3. 1. 3. 3. Microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeats)

Les microsatellites, alternativement connus sous le nom de «séquences simples répétées (SSR) sont des éléments d'ADN répétés dont la taille est généralement moins de 5pb (mono, di, tri et tétra-nucléotidiques), révélés par amplification par PCR de l'ADN génomique (Tautz et Rentz, 1984; Tautz, 1989; Bruford et Wayne, 1993).

Le polymorphisme des SSRs résulte de la différence du nombre d'unité répétée, estimée de 5 à 50 copies chez les plantes (Cardle *et al.*, 2000) et qui émane des erreurs survenues lors de la réplication d'ADN (Jarne et Lagoda, 1996). Ces différences sont révélées sur gel polysaccharide où les motifs en tandem migrent en fonction de leur poids. Par ailleurs, ces marqueurs sont adaptés aux études de populations étroitement apparentées et permettent même les comparaisons entre individus ou cultivars (Takezaki et Nei, 1996; Hokanson *et al.*, 1998; Westman et Kresovich, 1997). Grâce à leur grand contenu informatif, 10 à 20 loci suffisent pour distinguer des génotypes très proches. Ils ont été utilisés aussi bien dans l'étude de la diversité génétique que dans l'élaboration des cartes génétiques du blé, de l'orge et du soja (Röder *et al.*, 1995; Peakall *et al.*, 1998; Ramsay *et al.*, 2000). En plus, ce sont de marqueurs multi-alléliques d'où leur usage dans les études phylogénétiques et de l'évolution des espèces.

Ainsi, Mhameed et *al.*, (1997) utilisant ces marqueurs ont pu établir un arbre phylogénétique composé de *Persea americana* et ses espèces sauvages.

6. 3. 1. 4. 4. ISSR: *Inter-Simple Sequence Repeat*

Les marqueurs ISSR, liés aux séquences ou nucléotides de l'espace présent entre les séquences simples répétées (SSRs) dans le génome, sont basés sur le polymorphisme de taille de 200 à 2500pb le long de ces espaces inter-microsatellites amplifiables par une seule amorce PCR (Zietkiewicz et *al.*, 1994). En générale, les locus microsatellites sont régulièrement distribués en grand nombre à travers le génome d'eucaryote, fournissant ainsi un pool riche en potentiels marqueurs ISSR convenables pour révéler la diversité génétique étroitement associée aux accessions (Wiesner et Wiesnerová, 2003).

En effet, cette amplification ISSR est définie par variation des PCR qui utilisent des amorces à simple séquence répétée comme [AC]*n*, pour amplifier les régions situées entre les séquences microsatellites (Kahl, 2001). Selon Zietkiewicz et *al.*, (1994), La production des marqueurs ISSR est, par rapport aux marqueurs AFLP, SSR et RFLP, moins coûteuse, rapide et facile à optimiser. Par ailleurs, ils sont considérés plus reproductibles que ceux de RAPD et détectent un grand polymorphisme génomique que les marqueurs RFLP (Zietkiewicz et *al.*, 1994; Oh et al., 2000).

La technique ISSR a été largement et diversement appliquée dans l'étude de la variabilité génétique des plantes (Godwin et *al.*, 1997) et la caractérisation de certains organismes fongiques (Grunig *et al.*, 2001). Ainsi, elle a été utilisée pour déterminer le polymorphisme génétique des espèces de *Sorghom*, *Ipomoea*, *Eucalyptus*, *Oryza*, *Lupinu*, *Asparagus*, etc (Yang et *al.*, 1996; Prevost et Wilknsn, 1999; Qian et *al.*, 2001; Sica et *al.*, 2005).

6. 3. 1. 3. 5. 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.*, (1995). Elle est fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de site de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires. Cette technique sophistiquée est principalement basée sur la digestion totale d'ADN par deux enzymes, une enzyme (*Msp I*) qui coupe fréquemment l'ADN à 4 bases et une autre (*Ecor I*, *Pst I*,...) qui coupe à 6 bases; puis la ligation des bouts cohésifs avec un adaptateur de séquences connues et spécifique à chaque enzyme, tel que *EcoRI*, qui ajoute 16 bases de part et d'autre des fragments digérés engendrant ainsi le polymorphisme de site de restriction (Vos et *al.*, 1995). Cette étape est

secondée par une première PCR dite «pré-amplification», utilisant un seul nucléotide comme amorce correspondante à la séquence de l'adaptateur qui prolonge ce dernier en 3' par 3 bases arbitraires; puis une autre PCR dite «sélective» permettant seulement l'amplification des fragments ayant des bases complémentaires des ces 6 (2x3) bases arbitraires (Vos et *al.*, 1995; Karp et *al.*, 1997; Matthes et *al.*, 1998). Après l'électrophorèse sur gel d'acrylamide, plusieurs dizaines voire centaines de fragments peuvent être révélés, dont le polymorphisme provient de site de restriction et de bases arbitraires.

La méthode AFLP, donnant de marqueurs dominants, est hautement reproductible et applicable à toutes les espèces (Vos et *al.*, 1995; Karp et Edwards, 1997). Elle a été largement utilisée dans l'étude et l'établissement de carte génétique de diverses espèces de plantes, comme *Petunia* (Geratas et *al.*, 1995), *Cucumis* (Wang et *al.*, 1997), *Glycine* spp. (Keim et *al.*, 1997), *Arabidopsis* (Alonso-Blanco et *al.*, 1998), *Oryza* (Zhu et *al.*, 1984), *Solanum* (Bradshaw et *al.*, 1998), *Zea* (Xu et *al.*, 1999) et *Triticum* (Junhua et *al.*, 2000).

Par ailleurs, certains auteurs qui ont eu recours à son usage dans l'analyse phylogénétique, ont conclu que l'AFLP constitue «une technique efficace et fiable pour les études de l'évolution» (Aggraw et *al.*, 1999; Kardolus et *al.*, 1998). Ainsi, elle a été appliquée pour l'analyse phylogénétique de *Triticum* spp. (*Poaceae*) (Heun et *al.*, 1997), *Solanum* (Kardolus et *al.*, 1998), *Datureae* (Mace et *al.*, 1999), et *Oryza* spp. (Aggawal et *al.*, 1999).

D'autres marqueurs AFLPs spécifiques ont été développés. Ils sont soit liés aux stress biotiques et abiotiques (Meksem et *al.*, 2001), soit associés spécifiquement aux locus déterminant le sexe chez certaines plantes, telle que *Asparagus officinalis* (Reamon-Büttner et Jung, 2000), *Dioscorea tokoro* (Terauchi et Kahl, 1998) et *Cannabis sativa* L. (Flachowsky et *al.*, 2001).

L'avantage majeur de l'AFLP réside dans le grand nombre de marqueurs polymorphes qu'elle génère. Sa capacité de différenciation individuelle dans une population donnée, l'a rendue utile pour l'analyse de paternité (Krauss, 1999), l'expérimentation des intro-gènes et l'enregistrement ou l'étiquetage de Plantes Variétales (Law et *al.*, 1998). Toutefois, elle est confrontée à de problèmes similaires à ceux de la technique SSR: problème pratique (très coûteuse, lourde,...), problème de données (dominance d'où l'hétérozygote non identifié,...), et problème d'analyse de données.

7. CONSERVATION DU CAROUBIER

Le but principal de cette conservation est de préserver la diversité d'une large gamme de génotypes de caroubier. Actuellement, il existe dans le monde, huit domaines de collection de caroubier (Tableau I. 7). La plus grande banque de germplasm se trouve en Espagne. Elle est constituée d'environ 280 accessions locales d'une trentaine de provenances étrangères. Ces accessions sont préservées dans 4 régions différentes par leur types de climats méditerranéen (Batlle et Tous, 1997). Par ailleurs, le Portugal dispose de quelques collections composées de 13 cultivars locaux et 2 étrangers. En dehors de ces deux pays, nous ne disposons d'aucune information sur la conservation du caroubier surtout dans les pays producteurs comme le Maroc, l'Italie, le Chypre et autres.

Tableau I. 7: Collections et germplasmes mondiales de caroubier

Place, Pays district*	Aire (ha)	Année de plantation	Accession		Evaluation	
			Native	étrangère		
Espagne Tarragona	Reus,	1	1987	52	16	Caractérisation phénotypique, commerciale, agronomique et production
	Tortosa, Tarragona	0.8	1989	59	12	Production;
	Palma, Majorca	0.5	1990	39	1	caractérisation phénotypique; qualité de fruits et production
	Villajo yosa, Aliante	1.5	1986	133	2	Caractérisation agronomique
Portugal Algare	Tavira,	0.5	1988	11	2	Caractérisation phénotypique et production
Tunisie	ariana		1950	10	-	aucune
USA Californie	San Diego,		1960	2	3	aucune
Australie Australie	Loxton, S.	0.3	1985	-	10	Production

* Pour les adresses complètes, voir annexe II (Batlle et Tous, 1997)

Actuellement, la menace d'érosion génétique qui pesait sur le caroubier semble être modérée. Pourtant, dans certains endroits comme Murcia, Sud-est d'Espagne, il y a eu perte de 37% d'arbres de caroubier au détriment des cultures maraîchères et rentables (Rodriguez et Fruto, 1988). En Croatie, Vinterhalter et *al.*, (1992) ont pratiqué la culture *in vitro* des tissus, pour pouvoir propager les génotypes de caroubier qui étaient presque éteints. La micropropagation *in vitro* a été également développée comme moyen alternatif pour préserver le caroubier en Australie (Sebastian et McComb, 1986), en Espagne (Alorda et Medrano, 1996), en Tunisie (Belaizi et *al.*, 1994) et au Maroc (Gharnit, 1997 ; Konaté, 2001).

Toutefois, cette méthode n'a pas permis d'atteindre les résultats escomptés et la technique de propagation par bouturage végétatif reste meilleure et plus utilisée malgré son taux de réussite qui est encore trop faible.

MATÉRIEL ET METHODES

Dans ce chapitre, nous présentons successivement les populations de caroubier analysées et les techniques expérimentales préconisées pour étudier leur variabilité génétique puis les traitements statistiques utilisées pour interpréter les résultats.

1-MATERIEL BIOLOGIQUE

Le matériel biologique concerné par cette étude a été récolté grâce aux nombreuses prospections que nous avons entreprises dans différentes régions du Maroc. Notre étude a porté sur 13 populations représentatives de l'aire de répartition de l'espèce au Maroc. Ces populations ont été prospectées au cours de l'été de l'année 2005. La localisation géographique et les caractéristiques écologiques de chaque site prospecté sont rapportées dans la figure 6 le tableau 3.

30 arbres ont été choisis au hasard pour chaque région. Les arbres sont distants de plus de 50 m les uns d'autres. Pour chaque arbre choisi, 2 à 5 kg de gousses sont prélevés et mis dans des sacs en plastiques et ramener au laboratoire.

2. METHODES D'ANALYSE DE LA VARIABILITE MORPHOLOGIQUE ET ISOENZYMATIQUE

2.1. Caractères morphologiques

Notre travail a porté sur 13 populations représentatives de l'aire de répartition du caroubier au Maroc. La caractérisation des populations étudiées a porté sur la description morphologique de différents organes de l'appareil reproducteur (gousses et graines). Les mesures ont été effectuées sur 30 arbres par population à raison de 10 gousses par arbre. Ainsi nous avons utilisé un total de 10 caractères se rapportant aux fruits et graines de l'arbre de caroubier. Le choix de ces caractères a été basé sur des paramètres jugés les plus discriminants.

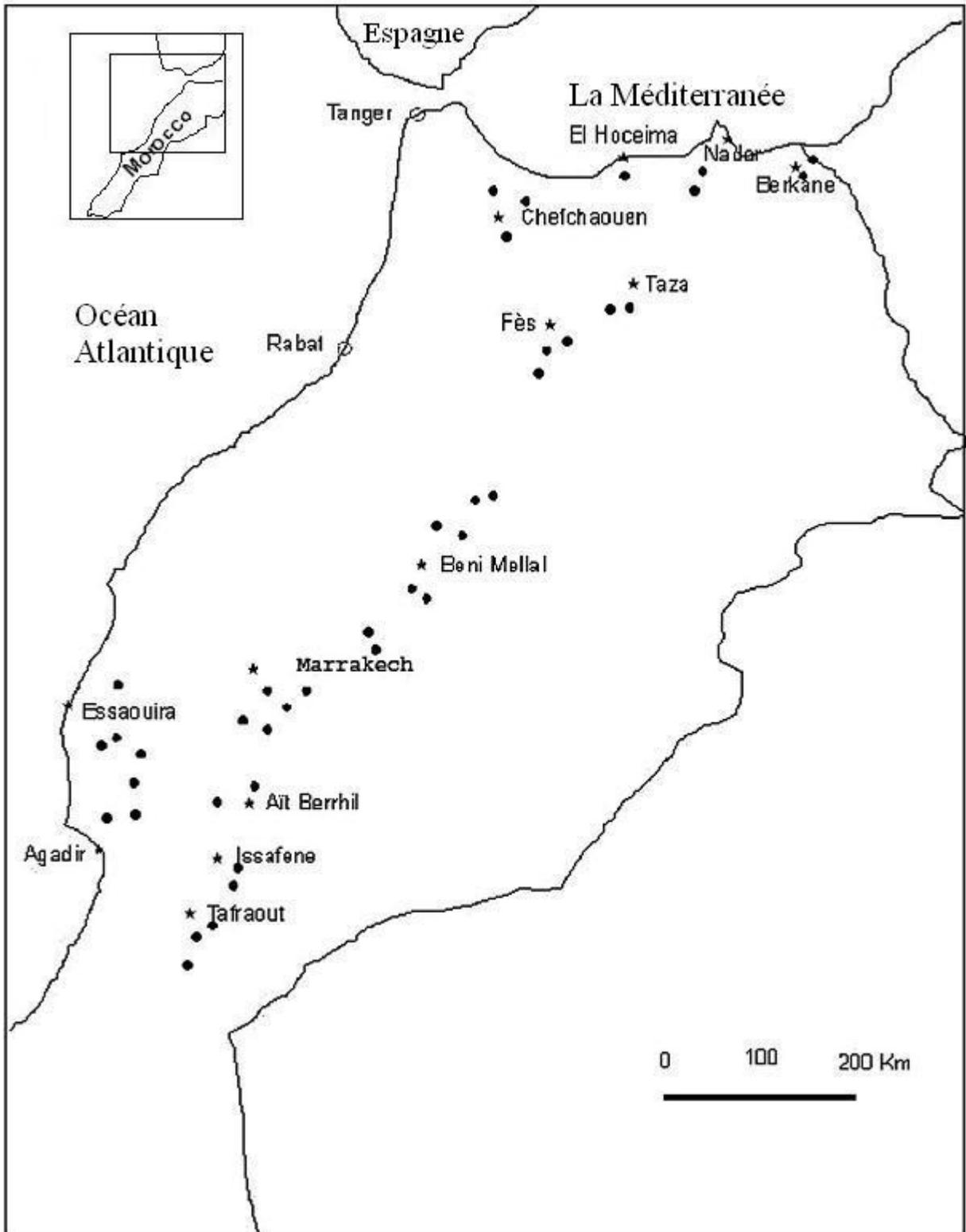


Figure 6 : Répartition géographique des populations de *Ceratonia siliqua* étudiées.

Tableau 3: Caractéristiques géographiques et écologiques des 13 populations marocaines de *C. siliqua* étudiées.

Région biogéographique	Population	Code	Latitude Nord	Longitude ouest	Altitude (m)	Pluviométrie annuelle (mm)
Haut Atlas (sud-ouest)	Ait Berrhil	P1	30°37'	8°20'	300	250
Anti Atlas (sud-ouest)	Issafene	P2	30°08'	8°52'	870	200
Anti Atlas (sud-ouest)	Tafraout	P3	29°42'	8°59'	1100	190
Côte Ouest	Agadir	P4	30°41'	9°33'	250	300
	Essaouira	P5	31°20'	9°40'	150	300
Haut Atlas (central)	Marrakech	P6	31°29'	7°43'	850	500
Moyen et Haut Atlas	Beni Mellal	P7	32°30'	6°03'	650	550
Moyen Atlas	Fès	P8	33°30'	4°56'	1200	600
	Taza	P9	34°08'	4°08'	550	700
Nord-Est	Berkane	P10	34°54'	2°15'	250	350
Côte Nord	El Hoceima	P11	35°11'	3°57'	150	327
	Nador	P12	35°09'	2°59'	150	350
Nord-Ouest	Chefchaouen	P13	35°12'	5°16'	450	700

2.1.1. Caractères relatifs aux gousses

Pour chaque arbres, les caractères mesurés chez les gousses sont la longueur, la largeur, l'épaisseur, le nombre de graines par gousse, le poids de la pulpe ainsi que la proportion pondérale des graines.

2.1.2. Caractères relatifs aux graines

Quant aux paramètres de la graine, nous avons mesuré la longueur, la largeur, l'épaisseur ainsi que le poids de 5 graines par gousse. Les paramètres mesurés avec leurs symboles sont rapportés dans le Tableau 4.

2.1.3. Étude statistique des caractères morphologiques

Le caractère étudié est considéré comme une variable dont la description peut être résumée par des paramètres statistiques comme l'analyse de variance et l'analyse en composante principale (ACP). Ces techniques sont d'emploi généralisé dans l'évaluation des ressources phytogénétiques. Les analyses statistiques ont été réalisées par le programme SPSS.

2.1.3.1. Étude des caractères pris séparément

Nous avons adopté dans l'interprétation de nos résultats le modèle d'analyse de variance à un seul critère de classification (modèle aléatoire avec effet population). L'analyse de variance, est décrite par plusieurs auteurs (Lebart et *al*, 1977 ; Benzekri, 1980 ; Dufren et al, 1991 ; Whitton et Bain, 1992), a pour but de comparer les moyennes des paramètres considérés pour plusieurs populations, supposées normales et de même variance à partir des échantillons aléatoires simples et indépendants.

2.1.3.2. Analyse conjointe de tous les caractères

Pour mieux apprécier la dissemblance entre les populations, nous avons soumis nos données, sur toutes les populations étudiées, à l'analyse multivariée dont les résultats sont fournis par la méthode de l'analyse en composantes principales.

2.1.3.2.1. Analyse en composantes principales (ACP)

Cette analyse a été décrite par plusieurs auteurs (Lebart et al., 1977; Ben Zecri, 1980 ; Dufren et al., 1991; Witton et Bain, 1992). L'ACP définit de nouvelles variables synthétiques ou axes à

partir des variables de départ (caractères étudiés). Les variables synthétiques, indépendantes, sont en corrélation avec les paramètres étudiés. Les axes représentent les composantes principales, définies par un ensemble de valeurs propres. Ils sont non corrélés et arrangés en variance décroissante pouvant décrire le maximum de la variabilité de départ.

Les proximités entre les variables sont exprimées en termes de corrélation. Ces nouveaux facteurs remplacent l'espace défini par les données originales par un espace de dimensions réduites fournissant ainsi une représentation graphique plus facilement interprétable. Chaque nouvelle variable ou axe de composantes principales est une combinaison linéaire d'un certain nombre de variables étudiées.

Les premiers axes de l'ACP montrent la disjonction maximale des groupes de populations dans le plan défini par ces composantes. Plus les points moyens représentant deux populations sont proches, plus la ressemblance entre elles est élevée.

Tableau 4 : Les caractères morphologiques mesurés chez *C. siliqua*

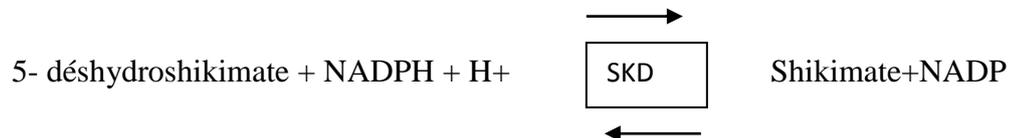
Code des caractères	Signification
Caractères de gousses	
LG	La longueur de gousse
IG	La largeur de gousse
EG	L'épaisseur de gousse
NGG	Le nombre de graines par gousse
PP	Le poids de la pulpe
PPG	La proportion pondérale des graines
Caractères de graines	
LGR	La longueur de graine
IGR	La largeur de graine
EGR	L'épaisseur de graine
PGG	Le poids de 5 graines par gousse.

2.2. Les systèmes enzymatiques étudiés

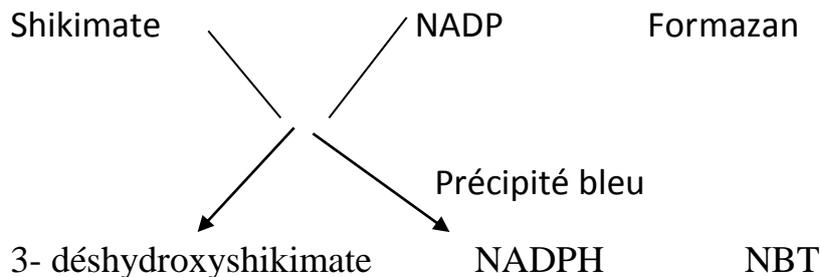
Plusieurs systèmes enzymatiques ont été testés dans les extraits de feuilles de caroubier. Les enzymes qui ne montrent pas des zymogrammes nets, ont été écartés. Nous avons retenu cinq systèmes enzymatiques appartiennent aux classes d'enzymes suivantes : les oxydoréductases, les transférases, les isomérases et les hydrolases.

2.2.1. Les oxydoréductases

De cette classe nous avons considéré la shikimate déshydrogénase SKD. C'est un métabolite précurseur des acides coumariques et caféiques, de lignine et des acides aminés aromatiques, qui, à leur tour, donnent naissance à des alcaloïdes impliqués de défense contre les pathogènes chez les plantes supérieures (Linhart et *al.*, 1981). Elle catalyse la réaction suivante :

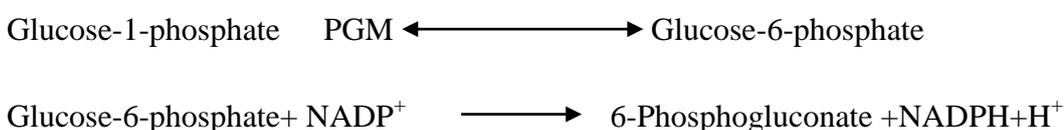


C'est une oxydoréductase spécifique des plantes supérieures, de la levure et des bactéries (Gennady, 1994). En 1994 Manchenko a illustré la réaction de catalyse et de révélation de cette enzyme selon le schéma suivant :



2.2.2. Les transférases

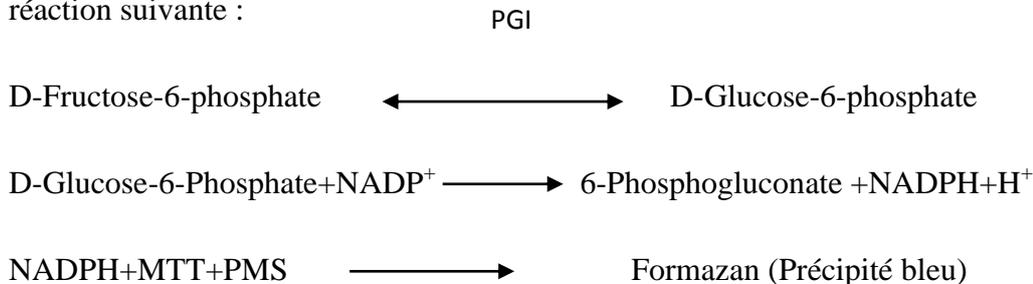
De cette classe nous avons retenu la Phosphoglucomutase. D'après (Pasteur et *al.*, 1987). Cette isomérase catalyse la réaction de transfert d'un groupement phosphate selon la réaction suivante :





2.2.3. Les isomérases

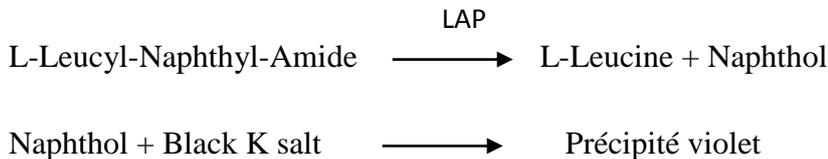
De cette classe nous avons considéré la Phosphoglucoisomérase. C'est une enzyme de la glycolyse et qui isomérisé le Fructose-6-phosphate en Glucose-6-phosphate ou inversement selon la réaction suivante :



2.2.4. Les hydrolases

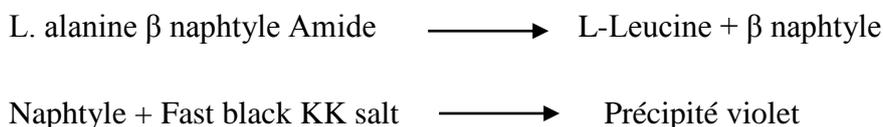
2.2.4.1. La leucine aminopeptidase LAP

Cette enzyme intervient dans le métabolisme des protéines au cours de leur différenciation (Brunel, 1982 ; Pasteur *et al.*, 1987 ; Zoro-Bi *et al.*, 1999). Elle hydrolyse les peptides ayant un radical libre en catalysant la réaction :



2.2.4.2. L'alanine aminopeptidase AAP

Elle intervient dans le métabolisme des protéine au cours de leur différenciation (Brunel, 1982 ; Pasteur *et al.*, 1987 ; Zoro-Bi *et al.*, 1999). Elle hydrolyse les peptides ayant un radical libre en catalysant la réaction :



2.3. Les méthodes d'extraction et de séparation des enzymes

La méthode utilisée pour la séparation des isoenzymes est une électrophorèse verticale sur gel de polyacrylamide. Cette technique nécessite plusieurs étapes dont :

- L'extraction des enzymes à partir des tissus végétaux.
- La séparation par électrophorèse.
- La révélation in situ des isoenzymes.
- L'interprétation des zymogrammes.

L'électrophorèse est une technique de séparation des protéines sur support poreux (acétate de cellulose, agarose, amidon, polyacrylamide) sous l'effet d'un champ électrique. La séparation des protéines s'effectue, dans un pH donné, selon leur charge électrique nette, leur taille et leur association à des produits chargés non protéiques.

2.4. EXTRACTION DES PROTEINES ENZYMATIQUES

Les graines préalablement prospectées de 10 populations sont germés dans notre laboratoire et leurs radicules sont utilisées dans l'extraction des enzymes. Sur chaque système enzymatique 20 individus par population ont été analysés.

Les radicules de graines germées sont broyées dans un mortier maintenu au froid en présence d'un tampon adéquat. Ces radicules fraîches sont broyées dans 0.4 ml de tampon d'extraction. L'homogénat est centrifugé à 2°C pendant 20 minutes à 20000 g afin d'éliminer les débris végétaux. Le surnageant contenant la fraction protéique est soit utilisé directement, soit conservé à - 20 °C jusqu'à son utilisation ultérieure.

L'extraction des enzymes a été effectuée moyennant une solution tampon qui a la composition suivante :

- 1.6% de Tris-HCL (0.1M ; pH 7,2)
- 0.04 d'ovalbumine bovine (BSA)
- 0.4 de Polyvinylpyrrolidone (PVP)
- 2% de Polyethylene glycerol (PEG)
- 0.05 de Dithiothreitol (DDT)
- 15% de Glycerol
- 1% de β -Mercaptoethanol

2.4.1.Électrophorèse des extraits enzymatiques.

Le support de migration, utilisé pour la séparation des isoenzymes, est un gel de polyacrylamide.

2.4.1.1. Préparation des gels de polyacrylamide

Le gel de polyacrylamide est un copolymère d'acrylamide et NN'-méthylène bis-acrylamide qui assure le pontage entre les chaînes polyacrylamide. En modifiant le taux de pontage, il est possible de modifier le diamètre des pores de réticulation, donc il se comporte comme un tamis moléculaire.

Les composés et les concentrations adoptés dans notre laboratoire pour la préparation de gel de bouchon, gel de migration et de concentration sont présentés dans le tableau 5.

Chaque gel préparé et coulé rapidement entre les lames de 0.8 mm d'épaisseur. Après une demi-heure de polymérisation les plaques des gels sont montées au système de l'appareil de l'électrophorèse en présence d'un tampon de migration. Nous avons testé plusieurs tampons de migrations mais le tampon qui a donné de bons résultats est à base de Tris-glycine (3.03-14.4%).

2.4.1.2. Migration

Des volumes de 50 µl d'extraits sont déposés séparément en plus de 10 µl d'une solution de bleu de bromophénol, dans chaque puits du gel de concentration. Cet indicateur coloré de visualiser le front de migration. La migration se déroule dans un tampon Tris-Glycine (pH 7,2) et dure 4 à 5 heures à voltage constant (220 volts). La température de la cuve de séparation est maintenue à 4 °C à l'aide d'un système de refroidissement.

2.4.1.3. Révélation des isoenzymes sur gels de polyacrylamide.

La révélation des enzymes s'effectue en utilisant les propriétés catalytiques de l'enzyme recherchée. La réaction consiste généralement à faire catalyser par l'enzyme, en lui fournissant un substrat naturel ou artificiel, l'apparition d'un produit terminal coloré. Il se forme alors une ou plusieurs bandes colorées correspondant à l'emplacement des enzymes sur le gel, qualifié de zymogramme. Tous les types moléculaires sont appelés isozymes (Buth, 1984). Les isozymes, correspondant aux allèles d'un même locus, sont des allozymes (Pasteur *et al.*, 1987 ; Miroslav, 2000).

Après la phase de migration, les enzymes séparées seront révélées sur gel de polyacrylamide en présence de leurs substrats respectifs. La visualisation de l'emplacement d'une enzyme sur le gel s'effectue par des procédés qui permettent d'obtenir un précipité coloré à l'endroit de migration de cette protéine, en utilisant ses propriétés catalytiques. Le gel en présence des solutions révélatrices est incubé en suite dans l'étuve à 37°C jusqu'à

Tableau 5 : Les solutions des composés du gel bouchon, gel de concentration et du gel de séparation.

Les composés	Gel bouchon	Gel de concentration 5% à V=13 ml	Gel de séparation 10% à V= 24.6 ml
Acrylamide et Bis-Acrylamide (30-0.8%)	183µl	1 ml	9.17 ml
Tris-HCL 3M (pH=8.8)	74µl	1 ml	3.7 ml
Persulfate d'ammonium 750%	32µl	0.4 ml	1.6 ml
Eau distillée	260µl	4 ml	18 ml
TEMED	20µl	5µl	20µl

l'apparition des bandes enzymatiques. La composition chimique des solutions de révélation de chaque système isoenzymatique est donnée par le tableau 1 dans l'annexe.

2.3.METHODES D'INTERPRETATIONS DES RESULTATS

A partir des données isoenzymatiques, de nombreux paramètres de variation peuvent être calculés. Ils permettent d'analyser la diversité aux niveaux intrapopulations et interpopulations. Les résultats sont interprétés sur deux échelles différentes. Le niveau phénotypique où les profils électrophorétiques sont considérés comme des phénotypes différents. Le niveau génotypique où les zymogrammes sont traduits en termes de génotypes et d'allèles.

2.3.1. Étude du polymorphisme isoenzymatique

2.3.1.1. Niveau phénotypique.

2.3.1.1.1. Variabilité intrapopulation

-Taux de polymorphisme phénotypique.

D'après Kahler et *al.* (1980) et Al Mouemar et Gasquez (1983), le polymorphisme phénotypique pour une population est défini par la formule suivante :

$$P_j = \sum_{i=1}^n P_i(1 - P_i) = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

P_i : fréquence relative du $i^{\text{ème}}$ phénotype de chaque enzyme.

n : nombre de phénotypes observés par enzyme.

Le taux moyen de polymorphisme phénotypique (P) pour l'ensemble des enzymes étudiées a pour formule :

$$P = \frac{\sum_{j=1}^k 1(P_j) / N_j}{\sum_{j=1}^k 1 / N_j}$$

N_j : Nombre total de phénotypes observés pour le $j^{\text{ème}}$ enzyme pour k enzyme.

2.3.1.1.2. Variabilité inter population

-Analyse factorielle des correspondances (AFC)

Cette analyse, décrite par de nombreux auteurs (Benzekri, 1980; Dufren *et al.*, 1991; Whitton et Bain, 1992), est basée sur des combinaisons de caractères quantitatifs. Le but de la méthode est d'extraire l'essentiel de l'information contenue dans le tableau des données et d'obtenir une représentation graphique facile à interpréter. La principale opération de l'analyse factorielle des correspondances est de déterminer les axes principaux (axes factoriels) d'inertie du nuage autour de son centre de gravité. Ces axes sont définis par des variables synthétiques indépendantes (déterminées par un ensemble de valeurs propres à partir des matrices de corrélation) constituée chacune par une combinaison linéaire des variables de départ. On peut monter graphiquement les degrés de ressemblance entre les populations dans les plans de projection de l'AFC. Plus les points représentant deux populations sont proches, plus ces populations sont semblables.

Les variables utilisées sont les fréquences des phénotypes enzymatiques, calculées sur l'ensemble des individus d'une population. Les analyses ont été réalisées à l'aide du programme XLSTAT.

2.3.1.2. Au niveau génotypique.

2.3.1.2.1. Variabilité intrapopulation

2.3.1.2.1.1. Les fréquences alléliques

Chez une population donnée, composée par N individus diploïdes, soit un locus A , à deux allèles A_1 et A_2 . La ségrégation au hasard de ces deux allèles donne lieu à trois génotypes : A_1A_1 (homozygote A_1), A_1A_2 (hétérozygote) et A_2A_2 (homozygote A_2). Soient n_1 le nombre d'individus homozygotes (A_1A_1), n_2 le nombre d'individus hétérozygotes (A_1A_2) et n_3 le nombre d'individus homozygotes A_2A_2 avec $n_1 + n_2 + n_3 = N$.

Les fréquences alléliques p et q respectivement pour les allèles A_1 et A_2 sont données par les formules :

$$p = \frac{2n_1 + n_2}{2N} \quad \text{et} \quad q = \frac{2n_3 + n_2}{2N} \quad \text{avec} \quad p + q = 1.$$

2.3.1.2.1.2. Le pourcentage des loci polymorphes (P%)

La proportion de polymorphisme (P) ou taux de loci polymorphes dans une population, a été calculé en divisant le nombre de loci polymorphes par le nombre total de loci étudiés. Elle rend compte de la proportion de protéines variables par rapport à l'ensemble des protéines étudiées. Une population est considérée polymorphe pour un locus donné, si la fréquence de l'allèle le plus fréquent est inférieure à 95%.

2.3.1.2.1.3. Le nombre moyen d'allèles par locus (A).

Ce paramètre qui rend compte de la richesse allélique est défini par la formule suivante :

$$A = 1/L \sum_{i=1}^L n_i$$

Où n_i = le nombre d'allèles recensés au locus i , L = nombre de locus considérés.

La richesse allélique qui tient compte du nombre d'allèles par locus, est particulièrement intéressante pour les stratégies de conservation. Il était souvent utilisé dans la gestion des collections et des banques de semences (Asins et Carbonell, 1987).

2.3.1.2.1.4. Le taux d'hétérozygotie.

L'hétérozygotie est calculée à partir de la fréquence mesurée des hétérozygotes (nombre d'individu hétérozygote divisé par le nombre total des individus de l'échantillon). Pour un locus donné à n allèles avec des fréquences $f_1, f_2, f_3, \dots, f_n$, la fréquence théorique des hétérozygotes est:

$$h = 1 - (f_1^2 + f_2^2 + f_3^2 + \dots + f_n^2)$$

$$h = 1 - \sum_{n=1}^n f_n^2$$

Si plusieurs loci sont considérés, le taux d'hétérozygotie moyen (H) d'une population est la moyenne arithmétique des hétérozygotes h enregistrées à chaque locus étudié.

2.3.1.2.2. Variabilité interpopulation

2.3.1.2.2.1. Équilibre de Hardy-weinberg

Tous les tests effectués pour vérifier s'il n'y a pas un écart significatif à la loi de Hardy - Weinberg sont les tests de conformité aux proportions théoriques que cette loi prévoit. Le paramètre statistique auquel on a recours est le test χ^2 . (Pasteur et al., 1987). C'est un test de conformité, des corrections des petits échantillons (Canings et Edwards, 1969 ; Elston et Forthofer, 1977) et des tests exacts de Levene (1949), Haldane (1954), Chapco (1976) et Rousset et Raymond (1995).

Le paramètre F_{IS} a été recensé pour concevoir l'écart à la panmixie par le test exact procuré par Haldane (1954). Cet indice mesure la fréquence des homozygotes proportionnelle aux approches de l'équilibre de Hardy -Weinberg à l'intérieur des populations.

Les valeurs positives et négatives évaluent le taux d'hétérozygotie, et elles indiquent respectivement le déficit et l'excès en hétérozygotie.

Le paramètre F_{IS} de Wright (Wright, 1978), dénommé aussi indice de fixation est calculé selon la formule :

$$F_{IS} = \frac{1 - H_0}{H}$$
 où H_0 et H sont respectivement l'hétérozygotie observée et l'hétérozygotie attendue (calculée à partir des fréquences alléliques dans l'hypothèse de Hardy-weinberg).

2.3.1.2.2.2. Paramètre de différenciation.

Selon Wright (1965-1978), l'indice F_{ST} (variance standardisée), définit l'hétérogénéité des fréquences alléliques entre subdivisions d'une population. Il représente la corrélation entre allèles à l'intérieur d'une sous-population par rapport à l'ensemble des sous-populations. Pour un ensemble T formé de S populations dont chacune est composée de I individus, la différenciation d'une population par rapport au total (F_{ST}) est calculée en fonction des paramètres F_{IS} (différenciation des individus à l'intérieur des populations) et F_{IT} (différenciation des individus par rapport au total).

$$F_{ST} = 1 - \frac{(1 - F_{IT})}{(1 - F_{IS})}$$

2.3.1.2.2.3. Distance génétique (D)

Les distances génétiques sont destinées à évaluer le degré de ressemblance (ou de dissemblance) entre les populations en se basant sur les fréquences alléliques. Plusieurs distances ont été proposées telles que : les distances "probabilistes", les distances "topologiques" et l'identité génétique de Nei (Salanoubat, 1983). La distance la plus utilisée est celle de Nei (1972 et 1978). Le principe de calcul de cette distance est le suivant :

Soient x_i et y_i les fréquences du $i^{\text{ème}}$ allèle d'un locus respectivement dans les populations X et Y. La probabilité d'identité des 2 allèles tirés au hasard au sein de la population X est : $P_x = \sum x_i^2$. De même pour la population Y, cette probabilité est $P_y = \sum y_i^2$. La probabilité d'identité des 2 allèles tirés au hasard, l'un dans X et l'autre dans Y est : $P_{xy} = \sum x_i y_i$. L'indice d'identité génétique de Nei entre les deux populations est défini par la formule suivante :

$I = P_{xy} / (P_x P_y)^{1/2}$. Si plusieurs loci sont considérés, la moyenne des probabilités sur l'ensemble des loci étudiés est calculée pour mesurer l'identité entre les 2 populations.

$I = 0$ dans le cas où il n'y aurait aucun allèle commun entre les populations.

$I = 1$ dans le cas où les allèles ont les mêmes fréquences à tous les loci dans les deux populations.

La distance génétique de Nei $D = -\log I$ indique le degré de dissemblance génétique entre les populations X et Y. D varie de 0 (aucune divergence) à l'infini.

Un dendrogramme peut être construit sur la base de ces distances génétiques, afin de mieux visualiser le regroupement des populations et de quantifier le degré de ressemblance de ces populations. Il a pour but d'extraire l'information contenue dans un tableau des données et de fournir une représentation schématique. Il représente donc une classification des populations, ce qui permet de montrer des groupes (classes) homogènes.

Tous les paramètres du polymorphisme génotypique ont été calculés d'après les fréquences alléliques en utilisant le programme PopGene (ver. 1.31).

RÉSULTATS

1- ÉTUDE MORPHOLOGIQUE

Dans les programmes de sélection des plantes, les caractères morphologiques sont les premiers à être observés. Ces caractères intéressent diverses parties de la plante, par exemple longueur des tiges, surface foliaire, initiation de la floraison (Cui *et al.* 2001; Gomez *et al.* 2004). Ces caractères sont utilisés de même pour estimer la variation intra et interpopulations. Ils sont généralement limités en nombre de caractères relevés et directement influencés par l'environnement. Néanmoins, ils fournissent des informations utiles pour décrire et identifier le matériel biologique (Andersson *et al.* 2006).

Dans le but d'évaluer la variabilité morphologique de populations de caroubier au Maroc. Nous avons jugé utile d'analyser les différents paramètres morphologiques tout en tenant compte séparément ou simultanément les populations étudiées. Nous espérons à travers cette étude d'analyser le polymorphisme recensé entre les populations entretenues ainsi que la variabilité au sein de la même population. Pour une meilleure précision de la structuration du polymorphisme observé, nous avons effectué des analyses statistiques en l'occurrence : une analyse des caractères pris séparément et une analyse conjointe de tous les caractères.

L'étude a été menée sur 13 populations représentatives de l'aire de répartition du caroubier au Maroc. La caractérisation des populations étudiées a porté sur la description morphologique de gousses et graines.

1.1. ÉTUDE DES CARACTERES PRIS SEPAREMENT

Pour examiner la variabilité phénotypique chez *Ceratonia siliqua* L., au cours de cette étude nous avons exploité les données morphologiques issues des mesures effectuées sur les caractères qui se rapportent aux différents organes de l'appareil reproducteur (gousses et graines).

Dans le tableau 6, nous reportons les résultats issus de l'analyse de variance dont l'examen montre un effet population hautement significatif pour l'ensemble de paramètres étudiés témoignant d'une hétérogénéité importante entre les populations étudiées. Ce résultat montre bien que les caractères utilisés se montrent très efficaces pour l'estimation de la variabilité génétique de cette espèce. Ce résultat témoigne de l'efficacité des paramètres choisis pour réaliser cette étude.

1.1.1. Les caractères relatifs aux gousses

1.1.1.1. Longueur de gousse

La longueur de gousses varie d'une population à l'autre. Elle varie de 10 cm pour la population Ait Berrhil (AB) à 14.36 cm pour la population Tafraout (TF). En général, les populations originaires du Nord du Maroc (Berkane, El Hoceima, Nador et Chefchaouen) se caractérisent par les valeurs moyennes les plus élevées (13.63 à 14.27 cm).

1.1.1.2. Largeur de gousse

La largeur des gousses varie de 1.50 cm dans le cas de la population Taza à 1.88 cm dans le cas de la population Nador. De même, se sont les populations du Nord (Berkane, El Hoceima, Nador et Chefchaouen) qui présentent les valeurs moyennes les plus élevées (1.76 à 1.88 cm).

1.1.1.3. Épaisseur de gousse

Quant à l'épaisseur des gousses, elle varie entre 0.47 cm pour la population d'Agadir et 0.70 cm pour la population Nador. Les valeurs moyennes les plus élevées (0.61 à 0.70 cm) caractérisent les populations du Nord (Berkane, El Hoceima, Nador et Chefchaouen).

Tableau 6 : La moyenne, l'écart-types et les valeurs de F de l'ANOVA des caractères morphologiques de gousses et graines de 13 populations de caroubier au Maroc.

Populations	Gousse						Graine			
	Longueur (cm)	Largeur (cm)	Épaisseur (cm)	Nombre de graine	Poids de pulpe (g)	Proportion pondérale des graines %	Longueur (cm)	Largeur (cm)	Épaisseur (cm)	Poids (g)
Ait Berrhil (AB)	10.09 ±2.03	1.56 ±0.37	0.52 ±0.15	7.97 ±2.72	4.03 ±2.08	23.04 ±7.56	0.79 ±0.08	0.61 ±0.07	0,42 ±0,08	0.15 ±0.05
Issafene (IS)	11.79 ±1.85	1.69 ±0.18	0.53 ±0.07	8.00 ±1.88	4.71 ±1.12	23.06 ±4.12	0.85 ±0.07	0.75 ±0.07	0,35 ±0,06	0.18 ±0.03
Tafraout (TF)	14.36 ±2.84	1.74 ±0.32	0.51 ±0.10	10.63 ±2.44	6.22 ±2.11	22.71 ±5.78	0.84 ±0.09	0.64 ±0.07	0,38 ±0,06	0.17 ±0.05
Agadir (AG)	12.49 ±2.32	1.67 ±0.25	0.47 ±0.07	9.84 ±2.16	4.89 ±1.39	23.33 ±6.75	0.89 ±0.10	0.63 ±0.06	0,37 ±0,06	0.15 ±0.03
Essaouira (ES)	13.15 ±2.82	1.64 ±0.30	0.53 ±0.11	9.94 ±2.50	6.42 ±3.88	21.49 ±7.72	0.77 ±0.09	0.58 ±0.06	0,31 ±0,07	0.16 ±0.03
Marrakech (MA)	13.69 ±2.72	1.64 ±0.24	0.53 ±0.12	11.61 ±2.37	5.81 ±2.70	26.13 ±8.08	0.69 ±0.09	0.66 ±0.06	0,41 ±0,05	0.17 ±0.03
Beni Mellal (BM)	11.99 ±2.33	1.54 ±0.22	0.53 ±0.10	10.81 ±2.49	4.89 ±1.73	25.06 ±6.55	0.83 ±0.08	0.63 ±0.06	0,41 ±0,05	0.15 ±0.03
Fes (FE)	11.63 ±2.33	1.53 ±0.25	0.48 ±0.11	9.93 ±2.84	4.48 ±2.06	25.18 ±7.68	0.84 ±0.09	0.63 ±0.08	0,40 ±0,06	0.16 ±0.05
Taza (TA)	11.25 ±2.06	1.50 ±0.19	0.51 ±0.09	10.19 ±2.45	4.05 ±1.19	29.44 ±5.60	0.84 ±0.09	0.63 ±0.08	0,40 ±0,06	0.16 ±0.05
Berkane (BE)	14.27 ±2.86	1.76 ±0.36	0.64 ±0.15	11.88 ±2.54	9.50 ±4.98	21.84 ±8.24	0.89 ±0.11	0.68 ±0.09	0,45 ±0,07	0.20 ±0.05
El Houceima (EL)	14.02 ±2.42	1.85 ±0.25	0.61 ±0.13	11.11 ±2.63	9.43 ±3.43	19.81 ±5.28	0.83 ±0.09	0.62 ±0.07	0,35 ±0,05	0.20 ±0.03
Nador (NA)	13.63 ±2.46	1.88 ±0.24	0.70 ±0.11	10.12 ±2.59	10.35 ±3.32	17.47 ±4.12	0.91 ±0.08	0.73 ±0.08	0,45 ±0,06	0.22 ±0.04
Chefchaouen (CH)	14.02 ±1.84	1.85 ±0.22	0.62 ±0.11	11.12 ±2.19	8.72 ±2.97	21.93 ±5.35	0.90 ±0.09	0.71 ±0.08	0,43 ±0,08	0.22 ±0.04
F	95.59**	20.32**	115.50**	70.82**	204.28**	62.24**	299.98**	652.89**	603.11**	452.65**

**Différences hautement significatives entre les populations à $P < 0.01$

1.1.1.4. Nombre de graine par gousse

On note que le nombre de graines par gousse varie entre 7.97 (population Ait Berrhil) et 11.88 (population Berkane). En général, les populations originaires du Nord du Maroc sont caractérisées par des valeurs moyennes élevées : 11.11 (population El Hoceima), 11.12 (population Chefchaouen) et 11.88 (population Berkane).

1.1.1.5. Poids de la pulpe

Pour le poids de la pulpe, il varie entre 4.03 g dans le cas de la population Ait Berrhil et 10.35 g dans le cas de la population Nador. De même, se sont les populations du Nord du Maroc (Berkane, El Hoceima, Nador et Chefchaouen) qui sont caractérisées par des valeurs moyennes élevées (8.72 à 10.35 g).

1.1.1.6. Proportions pondérales des graines

Quant aux proportions pondérales des graines, elles varient entre 17.47% dans le cas de la population de Nador et 29.44% dans le cas de la population de Taza. Contrairement aux autres caractères de la gousse, on note que pour les proportions pondérales des graines, les populations du Nord présentent les valeurs moyennes les plus faibles (17.47% à 21.93%). Alors que les populations originaires du Moyen et Haut Atlas (Taza, BeniMellal, Marrakech et Fès), montrent les valeurs moyennes les plus élevées (25.06% à 29.44%).

1.1.2. Caractères relatifs aux graines

1.1.2.1. Longueur de graine

Pour les caractères de la graine, on note que la longueur varie de 0.69 cm et 0.91 cm respectivement dans le cas des populations de Marrakech et Nador. On remarque se sont les populations du Nord du Maroc qui sont caractérisées par des valeurs moyennes élevées.

1.1.2.2. Largeur de graine

La largeur de graines varie de 0.58 cm (population Essaouira) et 0.75 cm (population Issafene). On note que la population du sud du Maroc (Issafene) et les deux populations du Nord (Nador et Chefchaouen) présentent les valeurs moyennes les plus élevées.

1.1.2.3.Épaisseur de graine

Concernant l'épaisseur de graine, elle varie de 0.31 cm (Population Essaouira) et 0.45 cm dans les deux populations du Nord (Berkane et Nador).

1.1.2.4. Poids de graine

Quant au poids de la graine, il varie de 0.15 g dans le cas des populations Ait Berrhil, Beni Mellal et Agadir et 0.22 g dans le cas des populations Chefchaouen et Nador.

De même, on note que les résultats obtenus pour les caractères de la graine varient en fonction de l'origine géographique de la population. On note que se sont surtout les populations des régions du Nord du Maroc (Berkane, Nador et Chefchaouen) qui présentent les graines les plus longues (0.89 à 0.91 cm), les plus larges (0.68 à 0.73 cm), les plus épaisses (0.43 à 0.45 cm) et les plus lourdes (0.20 à 0.22 g).

En conséquence la diversité morphologique s'avère importante pour la majorité des caractères considérés. Il serait donc intéressant d'étudier la structure de cette diversité en analysant conjointement l'ensemble des caractères.

1.1.2.ÉTUDE MULTIVARIEE DE LA DIVERSITE PHENOTYPIQUE.

Les différentes variations que nous venons d'obtenir en comparant pour chaque caractère, les moyennes des différentes populations, sont très variables. Il est donc nécessaire de réaliser une analyse conjointe de toutes les variables afin d'élucider la structure globale de cette variabilité morphologique.

Les données morphologiques obtenues ont été exploitées grâce à une analyse en composantes principales (ACP). Cette technique fournit une matrice de corrélation entre les caractères mesurés ainsi qu'une représentation graphique de la dispersion des populations dans un espace défini par les composantes principales. Nous présentons et discutons essentiellement la matrice des coefficients des corrélations entre les dix caractères étudiés, la signification et le pourcentage de la variabilité présentée par les premières composantes principales, puis la présentation graphique des populations dans les plans définis par les trois premières composantes principales, et la classification hiérarchique qui a été constituée en se basant sur la matrice de corrélation.

2.1.2.1. Matrice des corrélations

Dans le Tableau 7 nous avons rapporté les coefficients de corrélations entre les différents paramètres étudiés. L'analyse de cette matrice montre que des corrélations positives et négatives sont observées. De fortes corrélations positives ont été observées entre les paramètres mesurés :

Tableau 7 : Matrice des corrélations entre les caractères morphologiques mesurés chez les populations de caroubier et les paramètres géographiques.

Caractères	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Longueur de gousse (1)	1													
Largeur de gousse (2)	0.723**	1												
Épaisseur de gousse (3)	0.554*	0.723**	1											
Poids de pulpe (4)	0.790**	0.813**	0.919**	1										
Nombre de graine (5)	0.757**	0.257	0.371	0.552	1									
Proportion pondérale des graines (6)	-0.500	-0.812**	-0.700**	-0.770**	-0.012	1								
Longueur de graine (7)	0.157	0.409	0.418	0.406	-0.001	-0.392	1							
Largeur de graine (8)	0.247	0.504	0.537	0.382	-0.045	-0.296	0.466	1						
Poids de graine (9)	0.655*	0.844**	0.903**	0.895**	0.379	-0.644*	0.486	0.676*	1					
Épaisseur de graine (10)	0.052	0.058	0.480	0.296	0.297	-0.012	0.326	0.415	0.379	1				
Altitude (11)	-0.136	-0.353	-0.524	-0.506	-0.070	0.517	-0.232	0.122	-0.302	-0.019	1			
Latitude (12)	0.311	0.311	0.711**	0.667*	0.514	-0.238	0.430	0.233	0.689**	0.455	-0.383	1		
Longitude (13)	-0.259	-0.238	-0.690**	-0.608*	-0.490	0.175	-0.435	-0.294	-0.620*	-0.607*	-0.213	0.916**	1	
Précipitation (14)	-0.100	-0.258	0.002	-0.076	0.406	0.528	0.032	-0.006	0.074	0.381	0.165	0.570*	-0.445	1

*corrélation significative **corrélation hautement significative

- De fortes corrélations positives entre la longueur et la largeur de gousse. Ces derniers sont en corrélation avec l'épaisseur de gousse, le poids de pulpe (PP) et le poids de graine.
- La largeur de graines et le poids de pulpe sont fortement corrélés avec le poids de graines.

Le même examen de cette matrice montre encore une fois de fortes corrélations négatives entre les différents caractères retenus dans cette étude :

- Des corrélations négatives ont été observées entre la longueur de gousse et la proportion pondérale de graines.
- La proportion pondérale de graines est corrélée avec la largeur et l'épaisseur de la gousse, le poids de pulpe, le poids de pulpe et graines.
- La proportion pondérale de graines montre une corrélation négative avec tous les caractères relatifs aux gousses et aux graines.

Nous constatons également des corrélations positives et négatives entre les caractères morphologiques étudiés et les différents paramètres géographiques des sites des populations étudiées. En effet la latitude corrèle positivement avec l'épaisseur de la gousse, le nombre de graine par gousse et l'épaisseur de la graine respectivement 0.711, 0.667 et 0.689. Tandis que la longitude est corrélée négativement avec ces mêmes caractères : épaisseur de la gousse, le nombre de graine par gousse et l'épaisseur de la graine respectivement 0.690, 0.608 et 0.620. Par contre, la longitude est corrélée négativement avec le poids de graines par gousse. L'altitude est corrélée positivement avec la proportion pondérale des graines et négativement avec l'épaisseur de gousse et le nombre de graine par gousse respectivement 0.524 et 0.506. Pour la précipitation, elle est corrélée positivement avec la proportion pondérale des graines.

2.1.2.2. Absorption de la variabilité par les premiers axes de l'analyse en composantes principales

L'analyse en composantes principales est bien caractérisée par les trois premiers axes principaux du fait qu'ils ont absorbé à eux seuls 85,31% de la variabilité totale. L'axe 1 explique 57,06% de l'inertie totale, l'axe 2, représentant 15,7% de la variabilité totale et l'axe 3 absorbe 12,55% de la variabilité totale.

2.1.2.3. Projection des populations dans les plans 1, 2 et 3 de l'ACP

La projection des populations et des caractères morphologiques dans le plan défini par les trois premières composantes principales sont illustrées dans les figures 7 et 8. L'analyse de ces deux

figures montre que les populations et les paramètres morphologiques sont distribués selon l'axe 1. La Figure 7 montre la formation de deux groupes : Berkane (BE), Nador (NA), El Houceima (HO) et Chefchaouen (CH) qui sont caractérisées par des valeurs très élevées pour la largeur, la longueur et l'épaisseur de gousse et le poids de pulpe. Le second comprend toutes les autres populations provenant du Sud-ouest et du centre du Maroc : Tafraout, Essaoura, Ait Berrhil, Taza, Agadir, Marrakech, Beni Mellal, Fès et Issafene. Les populations de ce dernier groupe sont caractérisées par des valeurs plus élevées pour la proportion pondérale de graines, l'épaisseur de graine et le nombre de graine par gousse.

La figure 9 présente la classification hiérarchique des différentes populations étudiées. Deux classes principales peuvent être distinguées. La première est composé des populations du Nord (Chefchaouen (CH), El Houceima (HO), Nador (NA) et Berkane (BE)). Toutes les autres populations sont rassemblées dans la seconde classe. Cette deuxième classe est subdivisée en deux sous-groupes. Le premier est composé par les deux populations du sud du Maroc (Tafrouat et Essaouira). Toutes les autres populations sont rassemblées dans le deuxième sous-groupe. Ce résultat est en accord avec ceux que nous avons obtenus par l'analyse en composantes principales.

2.1.3.DISCUSSION ET CONCLUSION

Au cours de cette partie, notre travail a porté sur la mise à profit des paramètres morphologiques afin d'explorer la variabilité phénotypique chez quelques écotypes représentatifs du germoplasme marocain de caroubier. Pour ce faire, nous nous sommes basés sur les paramètres quantitatifs liés aux descripteurs du fruit et de graines. Les résultats qui en découlent montrent qu'une large variabilité génétique caractérise le caroubier marocain. En effet, une large variation phénotypique au niveau des différents paramètres mesurés a été enregistrée. A ce sujet, les résultats de l'analyse de variance montrent une différence hautement significative entre les populations étudiées et ce pour l'ensemble des caractères mesurés. Les variations importantes observées pour les différents paramètres témoignent d'un polymorphisme phénotypique important entre les populations.

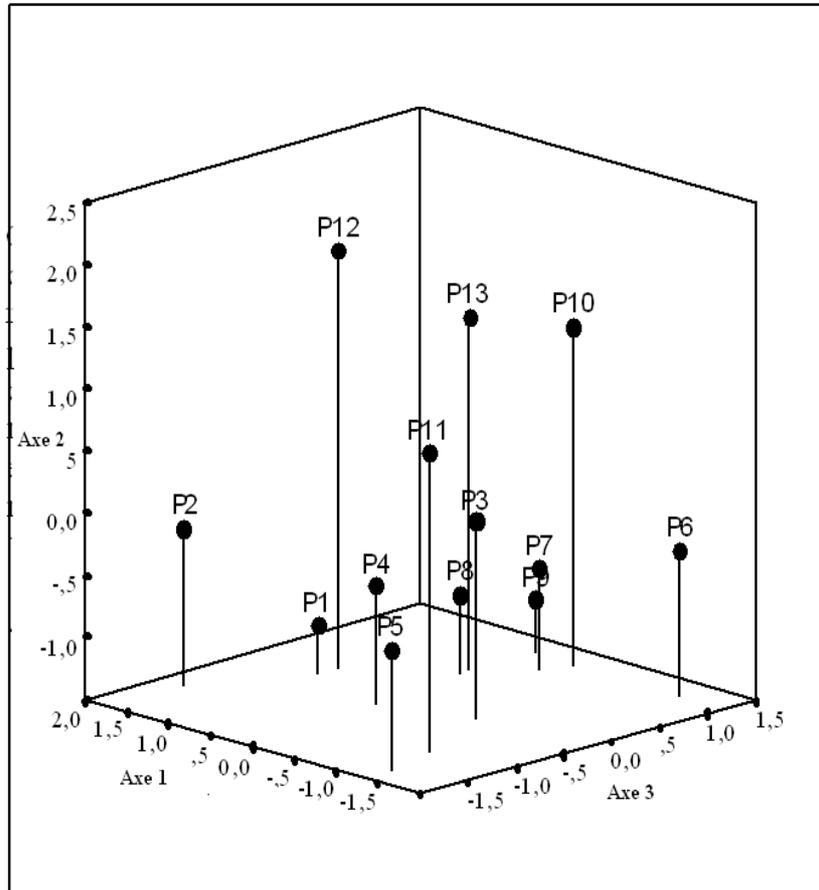


Figure 7 : Représentation graphique de la dispersion des populations étudiées dans le plan 1-2-3 de l'analyse en composantes principales (ACP).

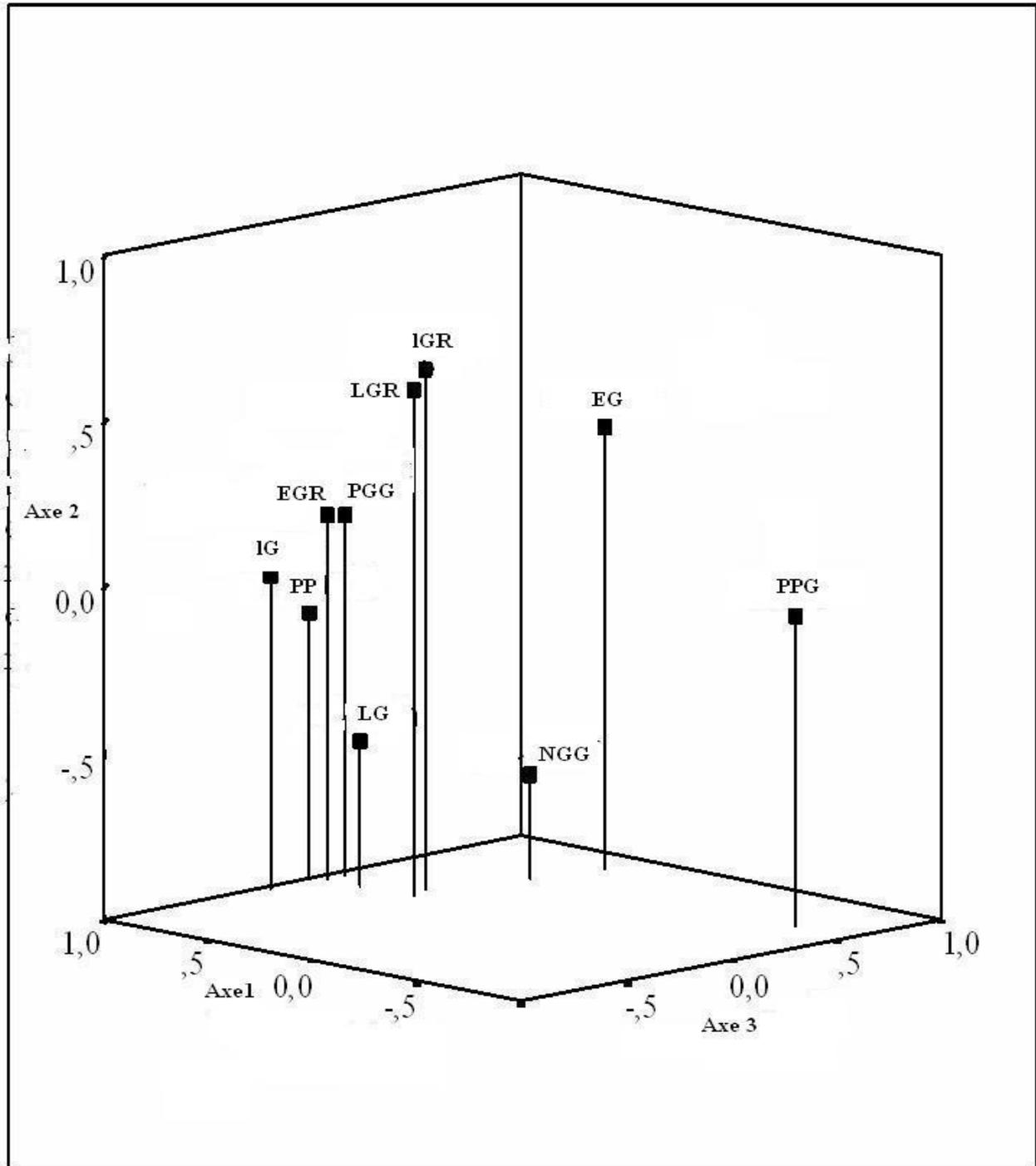


Figure 8 : Représentation de la dispersion des variables dans les trois premiers axes de l'analyse en composantes principales (ACP).

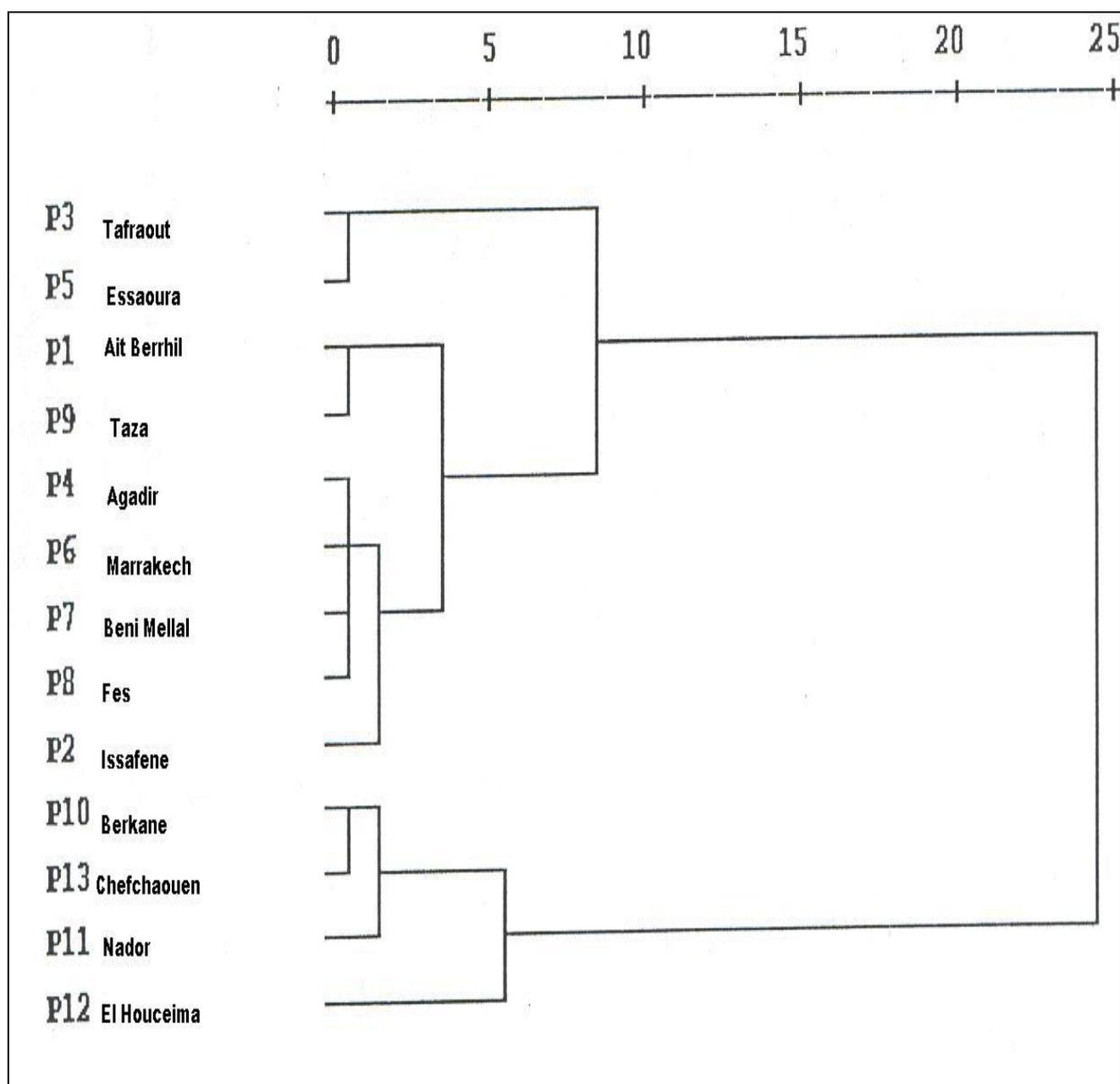


Figure 9 : Dendrogramme construit à partir des données morphologiques et représentant les relations entre 13 populations du caroubier.

On a pu noter que la longueur des gousses des populations étudiées varie entre 10.09 cm et 14.36 cm. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par Yousif et Alghazawi (2000) où ce caractère est de l'ordre de 12,34 cm pour des populations du caroubier en Jordanie. En général, les populations originaires du Nord du Maroc (Berkane, El Hoceima, Nador et Chefchaouen) se caractérisent par les valeurs moyennes les plus élevées (13.63 à 14.27 cm). Ces populations présentent des valeurs proches de celles citées par Naghmouchi *et al.*, (2009)

parvenant à des valeurs de l'ordre de 16.8 cm pour des fruits tunisiens et Albanell *et al.* (1991) trouvant des valeurs de l'ordre de 15,83 cm pour des cultivars Espagnols. La largeur des gousses varie de 1.50 cm à 1.88 cm. De même, ce sont les populations du Nord qui présentent les valeurs moyennes les plus élevées (1.76 à 1.88 cm). Ces valeurs sont proches de celles obtenues par Naghmouchi *et al.*, (2009) qui sont de l'ordre de 2.08 cm pour des fruits tunisiens et Albanell *et al.* (1991) leurs mesures sont de l'ordre de 2.11 cm pour des cultivars Espagnols et par Barracosa *et al.* (2007) parvenant à des moyennes de l'ordre de 1.61 à 2.33 cm pour des cultivars Portugais. Quant à l'épaisseur des gousses, elle varie entre 0.47 cm et 0.70 cm. Les valeurs moyennes les plus élevées caractérisent les populations du Nord (0.61 à 0.70 cm). Ces valeurs sont proches de celles citées par Naghmouchi *et al.*, (2009) qui sont de l'ordre de 0.83 cm pour des fruits tunisiens et Albanell *et al.* (1991) où les valeurs sont de l'ordre de 0.85 cm pour des cultivars Espagnols et par Barracosa *et al.* (2007) dont les moyennes sont de l'ordre de 0.72 à 1.19 cm pour des cultivars Portugais. Concernant le nombre de graines par gousse, on note qu'il varie entre 7.97 et 11.88. En général, les populations originaires du Nord sont caractérisées par des valeurs moyennes élevées (11.11 à 11.88). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Naghmouchi *et al.*, (2009) où les moyennes sont de l'ordre de 12.26 pour des fruits tunisiens Barracosa *et al.* (2007) obtenant des valeurs variant de 10.12 à 13.69 chez des cultivars Portugais. Pour le poids de la pulpe, on a noté également que ce sont les populations du Nord du Maroc qui sont caractérisées par des valeurs moyennes élevées (9.43 à 10.35 g). Quant aux proportions pondérales des graines, elles varient entre 17.47% et 29.44%. Contrairement aux autres caractères de la gousse, on note que les populations du Nord présentent les valeurs moyennes les plus faibles (17.47% à 21.93%). Alors que les populations originaires du Moyen et Haut Atlas, montrent les valeurs moyennes les plus élevées (25.06% à 29.44%).

Pour les caractères de la graine, on note que la longueur varie de 0.69 cm et 0.91 et la largeur de varie de 0.58 cm et 0.75 cm. Concernant l'épaisseur, elle varie de 0.31 cm et 0.45 cm. Quant au poids de la graine, il varie de 0.15 g et 0.22 g. Nous constatons que ce sont surtout les populations des régions du Nord du Maroc (Berkane, Nador et Chefchaouen) qui présentent les graines les plus longues (0.89 à 0.91 cm), les plus larges (0.68 à 0.73 cm), les plus épaisses (0.43 à 0.45 cm) et les plus lourdes (0.20 à 0.22 g). Ces résultats sont également comparables à ceux obtenus par Naghmouchi *et al.*, (2009) pour les cultivars tunisiens (la longueur de graine (0.91 cm), largeur de graine (0.69 cm), l'épaisseur de graine (0.41 cm) et le poids de graine (0,2 g) et

Barracosa *et al.* (2007) pour des cultivars Portugais (longueur: 0.90 à 1.02 cm ; largeur: 0.64 à 0.77 cm ; épaisseur : 0.38 à 0.4 cm et poids : 0.17 à 0.22 g).

L'analyse en composantes principales (ACP) a permis de mettre en évidence une diversité assez importante entre les populations. On note la formation de deux groupes distincts, le premier est composé par les populations du Nord du Maroc (Berkane, Chfchaouen, Nador et EL Houceima) et le deuxième groupe est formé par le reste des populations.

Les résultats, obtenus sur le polymorphisme des caractères morphologiques, révèlent une grande diversité entre les populations du caroubier au Maroc. Cette diversité semble s'opérer en fonction de l'origine géographique de la population. A l'issue de ces résultats, il apparaît clairement que les populations du Nord marocain sont caractérisées par des gousses et des graines qui sont les plus longues, les plus larges et les plus épaisses. Ces populations présentent une grande similarité avec les cultivars espagnols et portugais. D'autre part, on note que ce sont les populations originaires du Moyen et Haut Atlas, qui présentent les proportions pondérales des graines les plus élevées.

Les résultats obtenus relèvent également que les paramètres relatifs aux fruits et aux graines se montrent comme étant de bons critères permettant de discriminer les populations et pourraient être pris en considération pour l'établissement d'un catalogue d'identification des populations de caroubier au Maroc.

3-ETUDE DU POLYMORPHISME ISOENZYMATIQUE

L'identification génétique de certaines espèces animales ou végétales est fiable soit en focalisant des travaux effectués directement sur les gènes par différentes méthodes ciblant l'ADN comme PCR, RAPD, ISSR, SSR, etc....soit en travaillant sur les produits de ces gènes c'est-à-dire les protéines.

Les marqueurs biochimiques ont été utilisés pour caractériser la diversité génétique de plusieurs plantes. Ils ont un contrôle génétique simple, un nombre **piteux** de gènes qui contrôlent la synthèse de ces enzymes généralement un à deux gènes. Selon Brown et Weir, (1983), les allèles des gènes codant sont généralement codominants et à expression indifférente aux effets de l'épistasie. Par opposition à l'étude morphologique, l'analyse isoenzymatique n'est pas influencée par les fluctuations du milieu de développement de la plante. En effet les marqueurs enzymatiques sont les plus indifférents à l'influence des facteurs de l'environnement (Ladizinsky

et Hymowitz, 1979) et constituent des outils utiles, particulièrement chez des espèces menacées d'érosions génétique, pour les analyses de la diversité génétique et de la structuration des populations (Hamrick et Godt, 1989 ; Soltis *et al.*, 1992 ; Chang *et al.*, 2004)..

3.1.INTERPRETATION GENETIQUE DES ZYMOGRAMMES

L'interprétation du polymorphisme enzymatique des populations analysées au niveau génotypique et allélique doit passer au préalable par l'établissement d'un déterminisme génétique des isoenzymes analysés et leur interprétation en termes de loci et d'allèles. Les hypothèses que nous proposons pour expliquer le déterminisme génétique et la structure de ces enzymes sont déduites des observations des zymogrammes obtenus chez toutes les populations analysées (Sidina *et al.*, 2011). Pour chaque système enzymatique nous avons présumé un déterminisme génétique en retenant l'hypothèse explicative la plus simple, en tenant compte de la structure mono ou dimérique de l'enzyme et du nombre et du niveau de migration des bandes sur les zymogrammes.

La nomenclature des locus est faite selon la mobilité de leur produit vers l'anode. Le locus dont les produits sont les plus rapide et de ce fait sont les plus éloignés des puits, est codé par la lettre A.

Si dans un zymogramme on trouve plusieurs zones de migration, la zone à migration rapide prend l'indice 1, les autres zones prennent les indices 2 à n de la plus rapide vers la plus lente.

Pour un gel donné et selon la structure de l'enzyme (monomérique, dimérique...), les individus homozygotes présentent une seule bande. Les individus hétérozygotes sont caractérisés par la présence de deux bandes si l'enzyme est monomérique c'est-à-dire formée par une seule chaîne protéique, ou de trois bandes si l'enzyme est dimérique étant donné que la bande intermédiaire dans ce cas correspond à l'interaction entre les deux sous unité constituant l'enzyme.

3.1.1. La phosphoglucomutase (PGM)

Les profils de migration de cet enzyme sont présentés dans la figure 10. Les zymogrammes obtenus montrent une seule zone de migration avec une ou deux bandes qui correspondent à un gène à deux allèles (a et b) qui code pour une enzyme monomérique. La

structure monomérique de la PGM a été observée, aussi chez d'autres plantes par exemple chez le mil (Tostain, 1985), le maïs (Stuber *et al.*, 1977), les espèces du genre *Medicago* (Biborchi, 1996, Haddioui, 1996, Salhi-Hanachi, 1996), le pin (O'Malley *et al.*, 1979), la vigne (Chaparro *et al.*, 1989), le pêcher (Parfitt *et al.*, 1985) et le palmier dattier (Ould Mohamed Salem, 2001). De même, le déterminisme monogénique de cette enzyme a été signalé par Baatout *et al.*, (1990) chez *Hedysarum* et Abdelkefi *et al.*, (2001) chez *Medicago*.

3.1.2. La phosphoglucoisomérase (PGI)

Les zymogrammes observés pour cet enzyme montrent la présence de deux zones d'activité enzymatique qui correspondent à deux loci : Pgi-1 et Pgi-2 (Figure 11). Le locus Pgi-1 avec deux allèles et le locus Pgi-2 avec trois allèles. L'existence d'interaction intra-locus (individus hybrides à 3 bandes) confirme l'hypothèse d'une structure dimérique de l'enzyme. La structure dimérique de cet enzyme a été avancé chez d'autres espèces végétales : (le fraisier : Arulsekhar *et al.*, 1985 ; le riz : Second, 1982 et le mil : Leblanc et Pernès, 1983). Le contrôle digénique de cette enzyme, a été également rapporté par Tous, (1992) chez le caroubier, Chograni *et al.*, (2008) chez *Lavandula stoechas* L. et *Lavandula multifida* L. et Ould Mohamed Salem *et al.*, (2001) chez le palmier dattier.

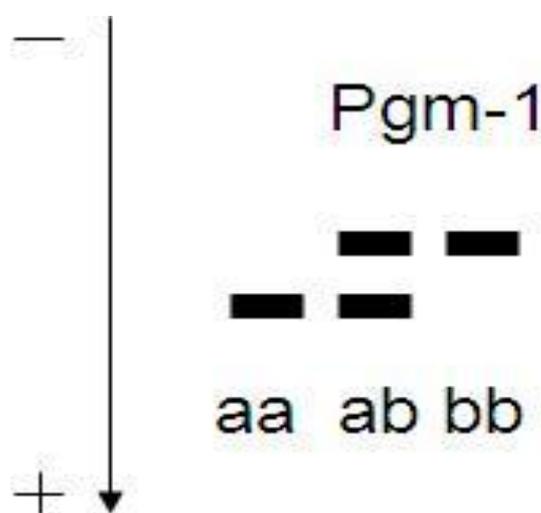


Figure 10 : Schéma des profils types de la PGM révélés chez toutes les populations analysées.

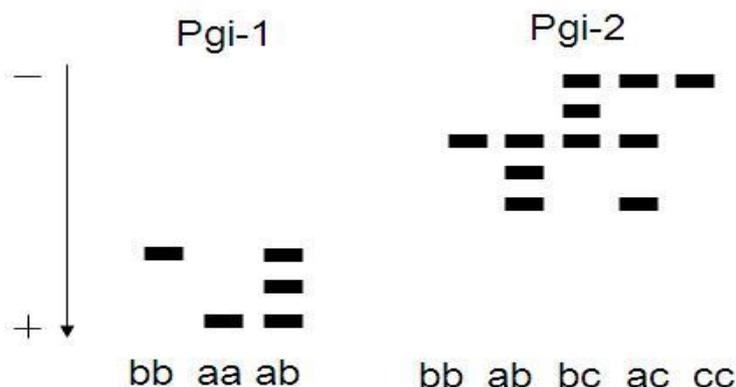


Figure 11 : Schéma des profils types de la PGI révélés chez toutes les populations analysées.

3.1.3. Shikimate déshydrogénase (SKD)

L'analyse de tous les zymogrammes obtenus révèle la présence d'une seule zone d'activité qui montre des phénotypes à une ou deux bandes (Figure 12). Ce résultat peut être interprété génétiquement en impliquant un seul gène *Skd-1* avec trois allèles (a, b et c). Les individus hybrides sont à deux bandes. Ce résultat semble être en faveur de l'hypothèse d'une structure monomérique de cette enzyme. La structure monomérique du SKD a été signalée chez plusieurs espèces végétales tels que le pin (Linhart *et al.*, 1981), le peuplier (Rajora, 1990), le coton (Perey et Wendel, 1990) l'orge (Brown *et al.*, 1983) et le blé (Jaaska, 1983). Le contrôle monogénique des SKD a été signalé chez plusieurs espèces végétales : caroubier (Tous, 1992), pin d'Alep (Wahid *et al.*, 2010) et le palmier dattier (Ould Mohamed Salem *et al.*, 2001).

3.1.4. La leucine aminopeptidase (LAP)

Le système LAP montre deux zones d'activités Z1 et Z2 qui correspondent à deux loci *Lap-1* et *Lap-2* avec deux allèles a et b (Figure 13). Ces résultats semblent être en faveur de l'hypothèse d'une structure monomérique de l'enzyme. La structure monomérique et le contrôle digénique de la LAP ont été signalés chez plusieurs espèces végétales (Brunel, 1982 ; Demarval, 1983 ; Pasteur *et al.* 1987 ; Wendel et Weeden, 1989).

3.1.5. L'alanine aminopeptidase (AAP)

Les bandes détectées pour cet enzyme sont réparties en trois zones (Figure 14). La zone 1 à migration rapide montre des profils d'une à deux bandes ce qui plaiderait en faveur d'un gène (*Aap-1*) à deux allèles (a et b). La deuxième et troisième zone montrent des profils d'une bande à trois bandes qui correspondent à deux gènes avec trois allèles (a, b et c). Pour les trois loci, les individus hybrides sont à deux bandes. Ce résultat est en faveur de l'hypothèse d'une structure monomérique. L'hypothèse d'une structure monomérique et le contrôle multigénique de l'AAP

ont été signalé chez d'autres espèces végétales : (Huang *et al.*, 1994 ; El mousadik 1997 ; Abbad *et al.*, 2004 ; Wahid *et al.*, 2010).

Figure 12 : Schéma des profils types de la SKD révélés chez toutes les populations analysées.

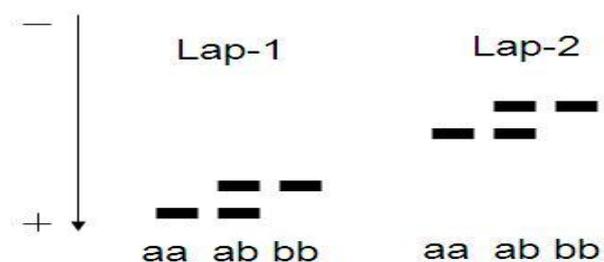


Figure 13 : Schéma des profils types de la LAP révélés chez toutes les populations analysées.

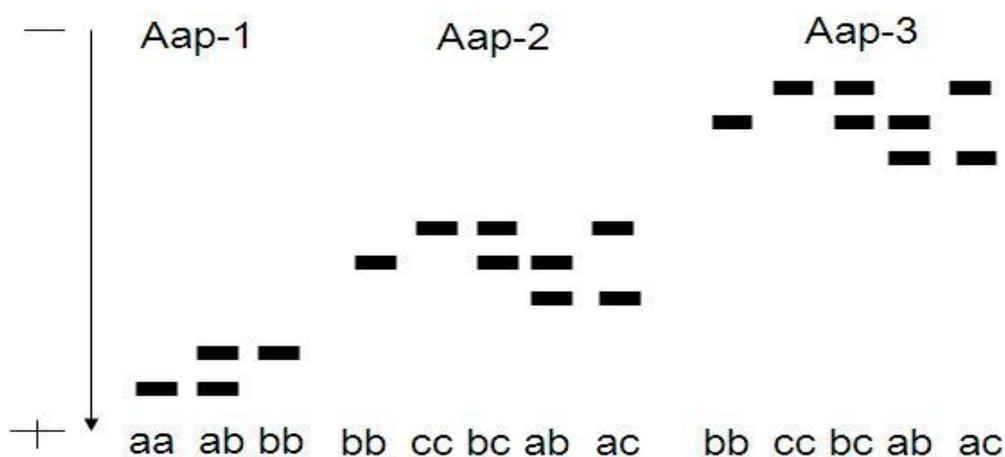


Figure 14 : Schéma des profils types de l'AAP révélés chez toutes les populations analysées.

3.2.ÉVALUATION DU POLYMORPHISME ISOENZYMATIQUE CHEZ *CERATONIA SILIQUA* L.

3.2.1. Niveau phénotypique.

3.2.1.1 Variabilité intrapopulation

Les 10 populations étudiées montrent un grand polymorphisme isoenzymatique. Les 5 systèmes enzymatiques (SKD, PGM, LAP, PGI et AAP) révèlent 55 phénotypes.

Avec 25 phénotypes isoenzymatiques différents, le système Alanine aminopeptidase (AAP) apparaît très polymorphe (Tableau 8). Les populations Fès (FE) et Tafraout (TF), qui montrent 7 à 8 phénotypes isoenzymatiques, semblent être les plus polymorphes pour ce système. Certains phénotypes isoenzymatiques semblent être une caractéristique pour certaines populations. Ainsi des phénotypes définis sont présents uniquement dans une population. C'est le cas des phénotypes A9, A10 et A11 dans la population Berkane (BE), les phénotypes A14 et A15 dans la population Fès (FE), les phénotypes A18 et A19 dans la population Marrakech (MA), les phénotypes A22 et A23 dans la population Tafraout (TF), les phénotypes 24 et 25 dans la population Chefchaouen (CH).

Quant à la leucine aminopeptidase (LAP), elle montre 10 phénotypes isoenzymatiques (Tableau 9). Les phénotypes L1 et L8 sont les plus fréquents pour l'ensemble des populations analysées. La population Agadir (AG) est la moins polymorphe pour ce système enzymatique, elle ne présente que 2 phénotypes isoenzymatiques.

Chez les populations étudiées 11 phénotypes isoenzymatiques sont observés pour la phosphoglucoisomérase (PGI). Les phénotypes P1, P2, P3 et P7 sont plus abondants chez la majorité des populations (Tableau 10). La population Berkane (BE) avec 5 phénotypes, apparaît comme étant la population la plus polymorphe pour ce système et la population Beni Mellal (BM) avec 2 phénotypes est la moins polymorphe.

Concernant la phosphoglucomutase (PGM), elle ne montre que 3 phénotypes isoenzymatiques (Tableau 11). Les deux premiers phénotypes G1 et G2 sont présents dans l'ensemble des populations analysées.

Le système shikimate déshydrogénase (SKD), montre 6 phénotypes isoenzymatiques (Tableau 12). Les phénotypes S1 et S2 apparaissent comme étant les plus fréquents pour l'ensemble des populations étudiées. Les populations Berkane (BE), Essaouira (ES) et Taza (TA) avec 4 phénotypes, apparaissent comme étant les populations les plus polymorphes pour ce système.

Les taux de polymorphismes des différentes populations calculés à partir des fréquences des phénotypes isoenzymatiques sont présentés dans le Tableau 13. Elles varient selon les systèmes enzymatiques et les populations. Ainsi, le système enzymatique AAP révèle un polymorphisme assez élevé pour toutes les populations étudiées sauf pour la population Taza (TA). Le taux de polymorphisme varie de 0.61 (population Beni Mellal (BM)) à 0.85 (population Tafraout (TF)). Les autres enzymes (SKD, PGI, PGM et LAP), accusent une variabilité plus ou moins importante selon les populations ; le taux de polymorphisme varie de 0.32 à 0.60 pour la SKD, de 0.37 à 0.63 pour la PGM, de 0.41 à 0.73 pour la LAP et de 0.25 à 0.73 pour la PGI. En considérant les taux de polymorphisme totaux, pour les enzymes étudiés, on peut classer les populations dans un ordre décroissant, selon leur degré de polymorphisme : Population BM > Population FE > Population MA > Population BE > Population NA= Population TF= Population ES > Population TA= Population CH > Population AG.

3.2.1.2. Variabilité interpopulation

L'application de l'analyse factorielle des correspondances (AFC) aux données enzymatiques constitue une approche pour l'étude de la variabilité interpopulations. La description phénotypique basée sur la fréquence des profils électrophorétiques permet d'apprécier la structuration de la variabilité et de la décrire par des variables enzymatiques.

L'analyse factorielle des correspondances, réalisée sur la base des fréquences phénotypiques, montre que 51,81% de la variabilité totale est absorbée par les trois premiers axes (Tableau 14), répartie en 19,40% pour le premier, 17,79% pour le deuxième et 14,61% pour le troisième. Le premier axe qui absorbe 19,40% de l'inertie totale, est défini positivement par les profils phénotypiques : A9, A10, A11, P4 et P5. Le second axe (17,79% de la variabilité), est défini positivement par les profils phénotypiques : L3 et P1, négativement par les profils phénotypiques : A8, L10 et P6. Le troisième axe (14,61%) est défini surtout positivement par les profils phénotypiques : A8, L7, P11, P9 et négativement par L10 et P10.

La projection des populations dans le plan 1-2 de l'analyse factorielle des correspondances (Figure 15), montre que les populations étudiées sont plus ou moins dispersées dans ce plan. L'analyse de cette figure montre qu'à l'exception de la population de Berkane (BE), toutes les autres populations se regroupent en trois groupes, le premier se compose des populations Beni Mellal (BM), Marrakech (MA) et Essaouira (ES).

Tableau 13 : Le taux du polymorphisme phénotypique de systèmes enzymatiques (SKD, PGM, LAP, PGI et AAP) calculé dans chaque population de *Ceratonia siliqua* L.

	AG	BM	BE	ES	FE	MA	NA	TF	TA	CH
P_{SKD}	0.52	0.32	0.47	0.55	0.49	0.60	0.53	0.50	0.41	0.39
P_{PGM}	0.37	0.50	0.60	0.40	0.63	0.51	0.45	0.37	0.44	0.41
P_{LAP}	0.42	0.64	0.59	0.59	0.67	0.73	0.41	0.67	0.54	0.64
P_{PGI}	0.41	0.25	0.59	0.48	0.71	0.73	0.53	0.60	0.69	0.47
P_{AAP}	0.75	0.61	0.65	0.75	0.81	0.76	0.70	0.85	0.18	0.80
P_T	0.43	0.73	0.57	0.48	0.62	0.60	0.48	0.48	0.46	0.46

Tableau 14 : Absorption de la variabilité par les trois premiers axes de l'analyse factorielle des correspondances et leur signification par apport aux variables pour les populations étudiées.

Axes	1		2		3	
Valeur propre	0,456		0,419		0,344	
Inertie (%)	19,401		17,797		14,613	
% cumulé	19,401		37,198		51,811	
Définition des axes	Variable	Contribution	Variable	Contribution	Variable	Contribution
	A9	+0.38	L3	+0.23	A8	+0.44
	A10	+0.23	P1	+0.22	L7	+0.20
	A11	+0.38	A8	-0.27	P11	+0.25
	L9	+0.42	L10	-0.29	P9	+0.31
	P4	+0.23	P6	-0.28	L10	-0.31
	P5	+0.46			P10	-0.31

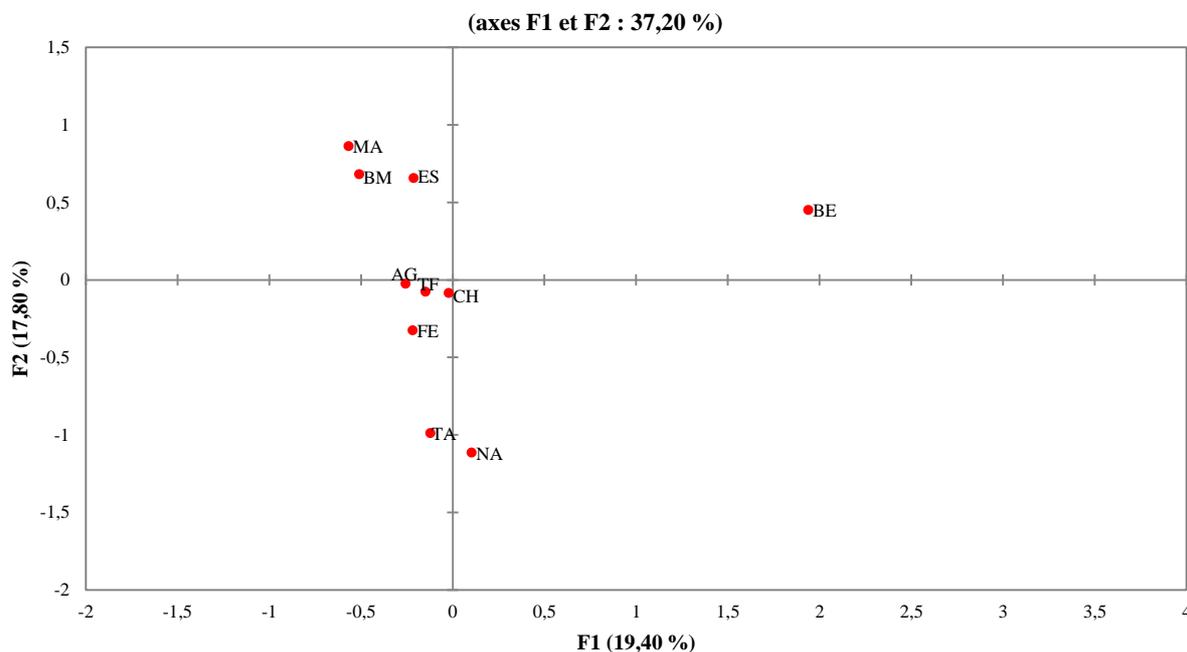


Figure 15 : Représentation graphique des populations étudiées dans le plan 1-2 de l'analyse factorielle des correspondances appliquée aux fréquences des phénotypes isoenzymatiques.

composé par les populations Agadir (AG), Tafraouet (TF), Fès (FE) et Chefchaouen (CH). Les deux populations Taza (TA) et Nador (NA) constitue le troisième groupe. Ce détachement de la population de Berkane (BE) est dû, en particulier, aux phénotypes isoenzymatiques S2, I5 et L9 plus fréquent dans la population du Nord du Maroc (Berkane).

Par ailleurs, notons que la dispersion des populations dans les plans définis par les axes 1 et 2, aboutit à des résultats similaires à ceux obtenus dans le dendrogramme établi à partir des distances génétiques de Nei, en ce qui concerne le regroupement de ces populations.

3.2.2. Niveau génotypique.

3.2.2.1. Structure génétique et génotypique intrapopulation

a-Niveau génique

a.1. Les fréquences alléliques

22 allèles ont été utilisés pour évaluer la diversité génétique des populations étudiées. Leurs fréquences sont différentes d'une population à l'autre (Tableau 15). Ainsi le locus Pgm-1, est présent chez toutes les populations et caractérisé par des fréquences élevées pour l'allèle b (0.825 et 0.875) chez les populations (Nador, Essaouira, Agadir et Tfraout). Quant à le locus Pgm-1,

l'allèle b est plus fréquent chez les populations (BeniMellel, Marrakech, Essaouira, Agadir et Nador) par rapport à l'allèle a qui est relativement plus fréquent chez les populations (Chefchaouen, Taza et Fès). Pour le locus Pgm-2, est caractérisé par des fréquences élevées pour l'allèle b, cependant les deux autres allèles a et c montrent des fréquences qui varient en fonction des populations. En ce qui concerne le locus Skd-1, est caractérisé par des fréquences élevées pour l'allèle b (0.424 et 0.900) chez toutes les populations, cependant l'allèle c montre des fréquences faibles (0-0.1). Ce dernier peut être considéré comme allèle rare (Marshall et Brown, 1983). Quant au locus Lap-1, est caractérisé par des fréquences élevées pour l'allèle b (0.424 et 0.900) chez toutes les populations, cependant l'autre allèle a montre des fréquences faibles qui varient d'une population à l'autre. Pour le locus Lap-2, l'allèle b présente, des fréquences élevées chez la quasi-totalité des populations, sauf les populations (Nador, Chefchaouen et Tafraouet) qui montrent des fréquences faible pour cet allèle.

Tableau 15 : Fréquences alléliques déterminées pour 9 loci enzymatiques.

Population Loci	BE	NA	CH	TA	FE	BM	MA	ES	AG	TF
Pgm-1a	0.325	0.175	0.450	0.600	0.425	0.775	0.725	0.175	0.125	0.125
Pgm-1b	0.675	0.825	0.550	0.400	0.575	0.225	0.275	0.825	0.875	0.875
Pgi-1a	0.475	0.000	0.700	0.725	0.800	0.150	0.250	0.100	0.150	0.500
Pgi-1b	0.525	1.000	0.300	0.275	0.200	0.850	0.750	0.900	0.850	0.500
Pgi-2a	0.350	0.000	0.100	0.075	0.175	0.000	0.250	0.100	0.050	0.075
Pgi-2b	0.125	0.250	0.525	0.300	0.700	0.925	0.550	0.800	0.850	0.675
Pgi-2c	0.525	0.750	0.375	0.625	0.125	0.075	0.200	0.100	0.100	0.250
Skd-1a	0.375	0.200	0.425	0.425	0.225	0.100	0.575	0.375	0.300	0.300
Skd-1b	0.550	0.800	0.575	0.525	0.775	0.900	0.425	0.450	0.700	0.600
Skd-1c	0.075	0.000	0.000	0.050	0.000	0.000	0.000	0.175	0.000	0.100
Lap-1a	0.175	0.125	0.525	0.075	0.250	0.450	0.475	0.175	0.150	0.275
Lap-1b	0.825	0.875	0.475	0.925	0.750	0.450	0.525	0.825	0.850	0.725
Lap-2a	0.075	0.850	0.650	0.250	0.125	0.050	0.000	0.075	0.000	0.825
Lap-2b	0.925	0.150	0.350	0.750	0.875	0.950	1.000	0.925	1.000	0.175
Aap-1a	0.525	0.625	0.350	0.025	0.325	0.450	0.425	0.075	0.275	0.375
Aap-1b	0.475	0.375	0.650	0.975	0.675	0.550	0.575	0.925	0.725	0.625
Aap-2a	0.000	0.125	0.000	0.000	0.075	0.000	0.000	0.000	0.075	0.125
Aap-2b	0.675	0.875	0.725	0.950	0.550	0.050	0.350	0.500	0.650	0.525
Aap-2c	0.325	0.000	0.275	0.050	0.375	0.950	0.650	0.500	0.275	0.350
Aap-3a	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.175	0.000	0.000	0.225
Aap-3b	0.000	0.950	0.900	0.975	0.625	0.300	0.375	0.425	0.500	0.475
Aap-3c	1.000	0.050	0.100	0.025	0.375	0.700	0.450	0.575	0.500	0.300

L'allèle b du locus Aap-1, est généralement plus fréquent chez toutes les populations. Alors que l'allèle a caractérisé par des fréquences faibles. Quant au locus Aap-2, il est caractérisé par des fréquences élevées pour l'allèle b (0.50 et 0.950), cependant l'allèle a montre des fréquences faibles (0-0.12). Ce dernier peut être considéré comme allèle rare. Les populations (Beni Mellal, Marrakech et Essaouira) sont caractérisées par les fréquences les plus élevées pour l'allèle c. Ainsi le locus Aap-3, l'allèle a est généralement plus faibles chez toutes les populations il peut être considéré comme un l'allèle rare. Les populations (Nador, Chefchaouen et Taza) présentent les fréquences les plus élevées pour l'allèle b, cependant l'allèle c montre des fréquences qui varient selon les populations.

Les allèles Pgm-1, Lap-1 et Aap-1 étaient présents dans toutes les populations. Les loci Skd-1, Lap-1 et Aap-1 ont été caractérisés par une fréquence élevée des allèles b dans toutes les populations (de 42,5 à 90%, de 45 à 92,5% et de 37,5 à 97,5%, respectivement). Ainsi le locus Skd-1 est caractérisé par des fréquences différentes d'une population à l'autre.

a-2. Le nombre moyen d'allèles par locus polymorphe (Ap)

Le nombre moyen d'allèles par locus polymorphe (Ap) varie de 1.37 chez la population du Nord du Maroc (Nador) à 1.94 chez la population du Sud (Tafraout) avec une moyenne de 1.66 (Tableau 16).

a-3 Le pourcentage de loci polymorphes (P)

Le pourcentage de loci polymorphes (P) varie de 88,8% chez les populations de Berkane, Nador, Marrakech et Agadir à 100% pour le reste des populations. Sa valeur moyenne pour l'ensemble de populations est de 95.5% (Tableau 16). Nous remarquons que l'indice P est élevé chez les populations marocaines du caroubier.

b-Niveau génotypique

Sur l'ensemble des populations étudiées du caroubier l'hétérozygotie H_e varie de 0.255 (population Nador) à 0.468 (population Tafraout). Leur valeur moyenne pour toutes les populations ($H_e = 0.366$) est inférieure à celle attendue sous l'équilibre de Hardy-Weinberg ($H_e = 0.368$) (tableau 16). Toutefois, la moyenne de H_e dans les populations de caroubier au Maroc est supérieure à celle rapportée par Hamrick *et al.* (1992) chez les arbres forestiers ($H_e=0.148$).

La diversité génétique la plus élevée se rencontre dans les populations Taфраout (TF), Chefchaouen (CH), Marrakech (MA) et Fès (FE). Les deux populations Nador (NA) et Beni Mellel (BM) présentent une diversité génétique relativement réduite.

Tableau 16 : Diversité génétique de 10 populations marocaines de *Ceratonia siliqua* (Ap: nombre moyen d'allèles par locus; P: pourcentage de loci polymorphes; Ho: hétérozygotie observée et He: hétérozygotie attendue).

Population	Ap	P (%)	Ho	He
BE	1.75	88.8	0.455	0.392
NA	1.37	88.8	0.255	0.255
CH	1.83	100	0.494	0.451
TA	1.53	100	0.305	0.300
FE	1.73	100	0.350	0.418
BM	1.46	100	0.188	0.287
MA	1.90	88.8	0.394	0.447
ES	1.61	100	0.344	0.340
AG	1.52	88.8	0.394	0.320
TF	1.94	100	0.483	0.468
Moyenne	1.66	95.5	0.366	0.368

3.2.2.2 Structure génétique inter populations

3.2.2.2.1. Les F statistiques de Wright

L'évaluation de la répartition de la variation génétique à l'intérieur et entre les populations et l'estimation de leur flux génétique sont évaluées par les indices de fixation de Wright (1978) Les valeurs de ces indices décrivant la structure génétique interpopulation sont résumées dans le tableau 17.

Les valeurs des indices décrivant la structure génétique interpopulation sont résumées dans le Tableau 3. La différenciation entre les populations est plus marquée pour les loci Lap-2, Aap-3 et Pgi-1.

Les loci Skd Lap-1, Pgi-2 et Aap-3 ayant des valeurs de Fis respectivement de -0.265, -0.229, -0.282 et -0.372, n'ont pas montré une déviation par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg ($P < 0.01$).

Pour l'ensemble des populations, nous avons observé une différenciation par rapport au total ($F_{st} = 0.249$). Les valeurs de F_{st} (paramètre de subdivision de Wright mesurant la différenciation entre les populations) pour chaque loci, varient de 0.085 pour SKD à 0.522 pour Lap-2 (Tableau3).

L'indice de fixation à l'intérieur des populations ($F_{is} = -0.021$) est faible par rapport à l'indice de fixation de la population totale ($F_{it} = 0.233$) ; cette différence reflète l'ampleur de la différenciation génétique, sur la base des loci, entre les populations analysées $F_{st} = 0.25$. Ceci montre bien que seulement 25% de la diversité génétique est due à la différenciation interpopulations, alors que 75% provient de la diversité intrapopulations.

3.2.2.2.2. Les distances génétiques de Nei (1978)

Le dendrogramme établi sur la base de la distance génétique de Nei (1978) calculée à partir des fréquences alléliques, révèle trois groupes de populations (Figure 16). Le premier groupe comprend deux populations du Sud du Maroc (Agadir (AG) et Essaouira (ES)), deux populations du centre du pays (Marrakech (MA) et BeniMellel (BM)) et une population du Nord (Berkane (BE)) et le second groupe est formé par trois populations du Nord du Maroc (Chefchaouen (CH), Taza (TA) et Fès (FE)) et une population du sud Tfraout (TF). Ce deux groupes souvent donc très hétérogène puisqu'il correspond à des populations provenant de différentes régions. La population originaire du Nord Nador (NA) situé au Nord du Maroc

Tableau 17 : F-statistiques de Wright : Indice de fixation des individus à l'intérieur des populations (F_{IS}), indice de fixation des individus par apport au total (F_{IT}) et différenciation des populations par apport au total (F_{ST}), calculé pour les 9 loci étudiés chez 10 populations marocaines de *Ceratonia siliqua* L.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Pgm-1	0.017	0.243	0.229
Pgi-1	0.687	0.788	0.323
Pgi-2	-0.282	0.015	0.232
Skd-1	-0.265	-0.157	0.085
Lap-1	-0.229	-0.084	0.118
Lap-2	0.338	0.684	0.522
Aap-1	0.128	0.247	0.137
Aap-2	0.100	0.330	0.256
Aap-3	-0.372	0.098	0.343
Moyenne	-0.021	0.233	0.249

F_{IS} : Indice de fixation des individus à l'intérieur des populations.

F_{IT} : indice de fixation des individus par rapport au total.

F_{ST} : différenciation des populations par rapport au total.

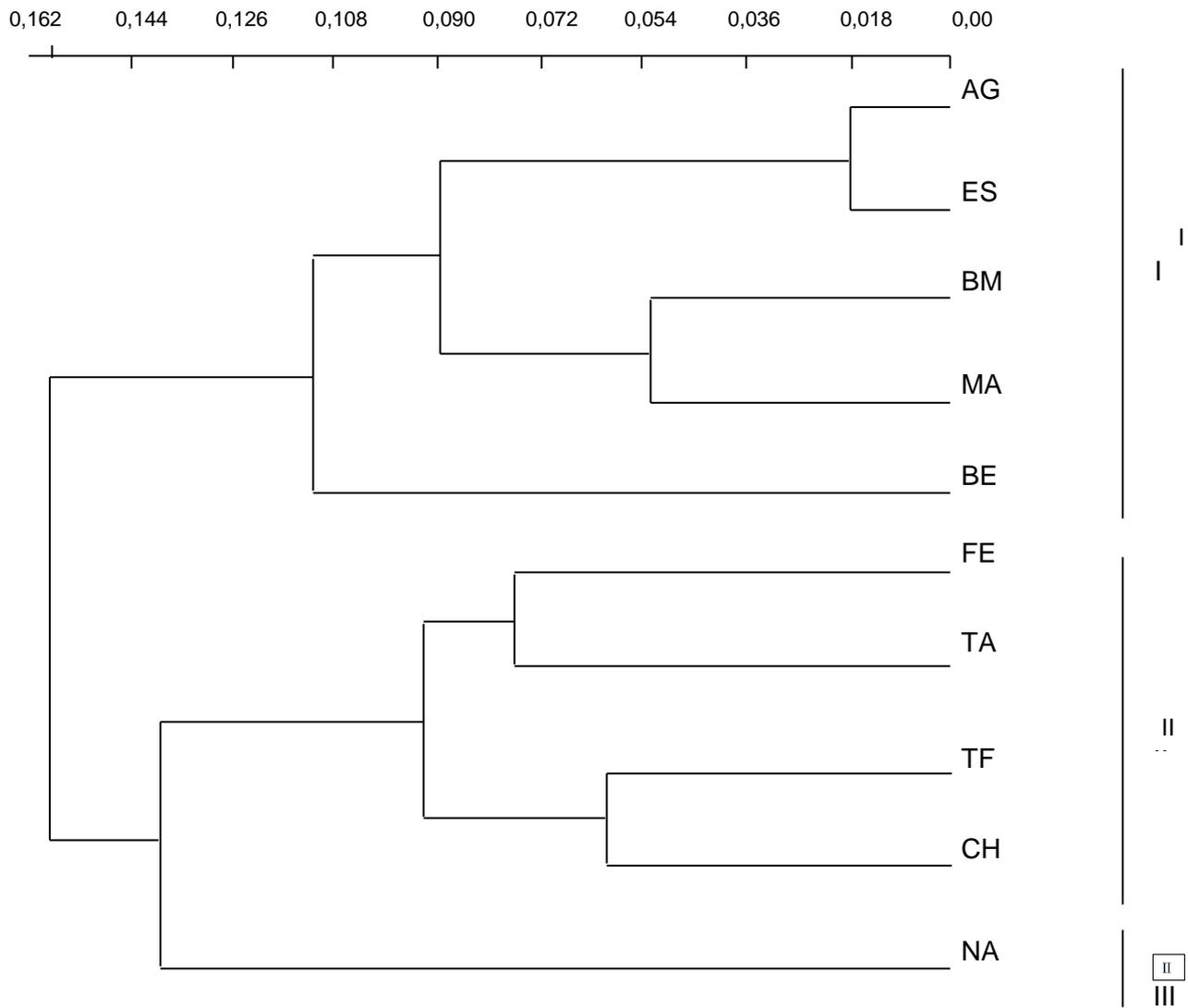


Figure 16 : Dendrogramme des populations établi à partir des distances génétique de Nei (1978).

(Groupe III) est bien individualisée. Elle réjouit l'ensemble des autres populations à une distance génétique relativement importante (0.14).

3.3.DISCUSSION ET CONCLUSION

L'interprétation des zymogrammes des cinq systèmes enzymatiques analysés (Phosphoglucoisomérase, la Phosphoglucomutase, la Leucine aminopeptidase, l'Alanine aminopeptidase et la Shikimate déshydrogénase), nous a permis d'émettre des hypothèses relatives à leur déterminisme génétique. Neuf loci polymorphes seraient impliqués dans le contrôle de ces enzymes. Nous avons préconisé un contrôle génétique pour chacun des systèmes étudiés. Nos résultats corroborent avec ceux rapportés par de nombreux auteurs sur d'autres espèces végétales diploïdes (Wendel et Weeden, 1989 ; Williamson et Werth, 1999 ; Hannan et Orick, 2000). Toutefois, ces interprétations génétiques doivent être confirmées par des analyses mendéliennes (autofécondations, croisements et étude des ségrégations). La mise en évidence chez le caroubier de 22 allozymes variables correspondant aux cinq enzymes étudiées a permis de développer plusieurs études sur la biodiversité et la génétique de la plante.

L'interprétation des résultats au niveau phénotypique révèle un polymorphisme isoenzymatique au sein de *Ceratonia siliqua*. Pour un effectif de 200 échantillons analysés, 55 phénotypes enzymatiques ont été obtenus. Ce polymorphisme varie selon les systèmes enzymatiques. Ainsi, le système Aap avec 25 phénotypes différents et un taux de polymorphisme qui varie de 0.18 (population Taza (TA)) à 0,85 (population Tafraout (TF)); est le système le plus polymorphe. La grande hétérogénéité de ce système enzymatique a été également observée chez d'autres espèces végétales : *Atriplex halimus* (Abbad *et al.*, 2004), le pin maritime (*Pinus pinaster*), (Wahid *et al.*, 2004), le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. (Ould Mohamed Salem *et al.*, 2001). L'analyse factorielle des correspondances, réalisée sur la base des fréquences phénotypiques, montre l'isolement de la population provenant du Nord du Maroc (Berkane) d'une part et le regroupement du reste des populations en trois groupes différents. Le premier est constitué par les populations BeniMellal (BM), Marrakech (MA) et Essaouira (ES), le deuxième est composé par les populations Agadir (AG), Tafraout (TF), Fès (FE) et Chefchaouen (CH). Les deux populations Taza (TA) et Nador (NA) constitue le troisième et dernier groupe.

L'analyse des résultats au niveau génotypique a montré que la majeure partie du polymorphisme réside à l'intérieur des populations. Les valeurs des indices décrivant la structure

génétique des populations révèlent que 75.1% de la diversité génétique est due à la variabilité intrapopulation, alors que 24.9% uniquement correspond à la différenciation interpopulations.

La variabilité intrapopulation ; estimée par le nombre d'allèles par locus, le taux de loci polymorphe et le taux d'hétérozygotie, est très importante au sien des populations étudiées. Les résultats obtenus ($P=95.5\%$, $A_p 1.66$, $H_e=0.36$) sont comparables à celle révélée chez plusieurs espèces méditerranéenne (Quilichini *et al.*, 2001 ; Bonnin *et al.*, 2002 ; Jacquemyn *et al.*, 2003) associés ou non au caroubier tels que les chênes (Zanetto *et al.*, 1994 ; Kremer et Petit, 1993 ; Toumi et Lumaret, 2001), le cyprès (Bechir *et al.*, 2004), le pin (Wahid *et al.*, 2006) et l'*Atriplex halimus* (Haddioui *et al.*, 2001). Cette variabilité intrapopulation très élevée montre bien l'existence d'échange génique entre individus de la même population. Ce résultat est en faveur d'un système de reproduction de type allogame de cette espèce. En effet, l'allogamie favorise l'hétérogénéité génétique intrapopulation et pas entre les populations. Plusieurs auteurs ont rapporté que les espèces allogames, contrairement aux autogames, manifestent généralement un polymorphisme intrapopulation, élevé, supérieur à celui interpopulations. (Brown *et al.*, 1989 ; Hamrick *et al.*, 1997 ; Ranker 2000 et Evans *et al.*, 2000).

Cette diversité génétique intrapopulation plus élevée peut être également expliquée par la distribution géographique très large d'*Atriplex halimus* au Maroc. Hamrick *et al.* (1992), ont fait une étude synthétique portant sur la comparaison de la diversité génétique intra et interpopulations de 322 espèces ligneuses. Il s'est avéré que les espèces à large distribution géographique présentent un pourcentage de loci polymorphes et une diversité génétique intrapopulation plus élevée.

Le dendrogramme établi à partir des distances génétiques de Nei, révèle l'existence de certaines corrélations entre ces distances génétiques et la répartition géographique de cette espèce. Le dendrogramme montre que le regroupement des populations s'effectue, dans la plupart des cas, selon la proximité géographique. Les populations de côte west (Agadir et Essaouira), le moyen et le haut atlas de montagne (Beni Mellal et Marrakech) et du moyen atlas (Fès et Taza) sont regroupés. Par contre certaines populations sont regroupées indépendamment de leur origine géographique. C'est le cas de des populations Berkane et Tfraouet qui sont groupées avec des populations qui sont géographiquement loin de leur origine géographique. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Konaté *et al.*, 2007 dans l'étude des traits phénotypiques des populations de caroubier marocains en indiquant qu'il n'y a aucune

corrélation entre le regroupement des populations et leur origine géographique. La présence d'une base génétique commune entre les populations marocaines du caroubier pourrait expliquer ces résultats.

En conclusion, les marqueurs enzymatiques utilisés dans cette étude ont montré un niveau élevé de la diversité génétique dans le matériel génétique local et un niveau modéré de la structure géographique des populations de caroubier au Maroc.

Dans l'ensemble, cette étude fournit des informations utiles qui pourraient aider à préserver la diversité génétique de l'espèce et d'identifier des cultivars marocains.

La variabilité interpopulations limitée à 24,9% est en faveur d'une stratégie de conservation *ex-situ*, exigeant moins d'effort pour l'échantillonnage. La conservation des ressources génétiques du caroubier, ne doit nécessiter qu'un échantillonnage constitué d'un petit nombre de populations. Ceci reste suffisant pour atteindre une fraction hautement significative de la diversité de l'espèce. La conservation doit intéresser les populations ayant montré une diversité génétique importante et des allèles à faibles fréquences. Les populations tels que Tafraouet, Marrakech et Chefchaouen nécessite une meilleur protection vu leur polymorphisme isoenzymatique important. Chacune d'entre elles pourrait jouer le rôle d'un réservoir génotypique pour les populations avoisinantes. Les stratégies de conservation appropriées devraient être appliquées en tenant compte des conditions écologiques de chaque région.

Les informations rapportées sur les stratégies de conservation de l'espèce pourraient être améliorées par d'autres études, impliquant des marqueurs moléculaires (à savoir d'autres marqueurs moléculaires RAPD, AFLP, SSR...).

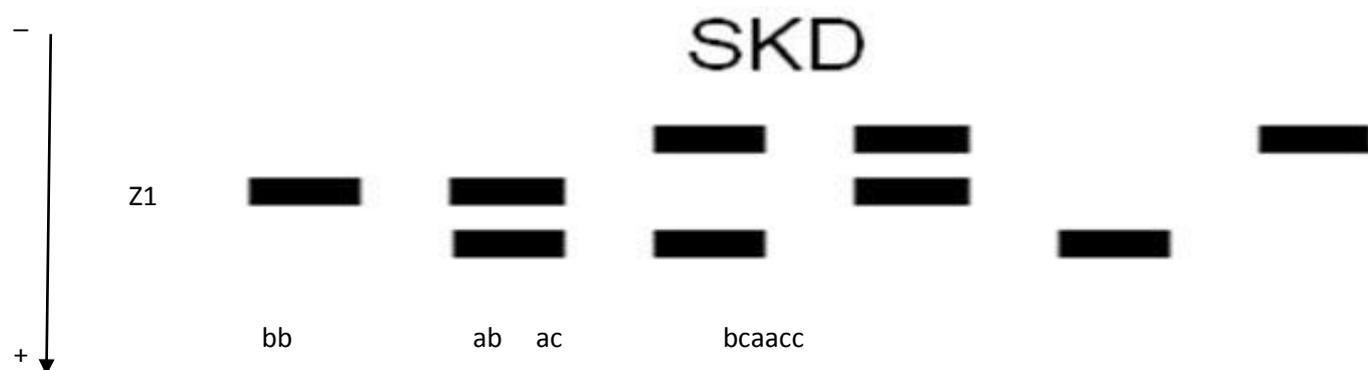
ANNEXES

Tableau 1 : Composition des solutions et conditions de révélation des systèmes enzymatiques étudiés.

Systèmes enzymatiques et solution de révélation	Condition de révélation
LAP - Leucine- β -naphtylamide 60mg - Méthanol 10mg - Fast Black-k- Salt 30mg - Tris maléate (0.1M, pH 5.4) 25ml - NaCl ₂ 6% 1ml - MgCl ₂ , 6H ₂ O (20%) 1ml - Eau distillée Q.S.P 50ml	Incubation à 37°C à l'obscurité jusqu'à l'apparition des bandes.
PGM -Glucose 1-Phosphate 250 mg - β NADP 5mg - MTT 10mg - PMS 1mg - MgCl ₂ , 6H ₂ O (20%) 0.5ml - G-6PD 13.3 U - Tris-HCL (0.1M, pH 8.5) 50ml	Incubation à 37°C à l'obscurité pendant 30 minutes
PGI - Fructose 50mg - β NADP 5mg - MTT 10mg - PMS 1mg - MgCl ₂ , 6H ₂ O (20%) 0.5ml - G-6PD 13.3 U - Tris-HCL (0.1M, pH 8.5) 50ml	Incubation à 37°C à l'obscurité pendant 30 minutes
AAP - L. alanine β naphtyle amide 40 mg - Fast black KK salt. 20 mg - Tampon maleate à pH=5.4 40 ml - MgCL ₂ (10 %) 0.5 ml -NaCL (0.1 M) 0.5 ml	Incubation à 37°C à l'obscurité jusqu'à l'apparition des bandes.
SKD - Shikimique acide 40 mg - MgCL ₂ (10 %) 0.5 ml - Tris-HCL (0.1M) pH =8 40 ml - -NADP 10 mg - MTT 10 mg -PMS 5 mg	Incubation à 37°C à l'obscurité jusqu'à l'apparition des bandes.

Tableau 2 : Structure génétiques des systèmes isoenzymatiques étudiés

Enzymes	Structure	Espèces	Auteurs
La phosphoglucoisomérase (PGI)	Dimérique	Caroubier <i>Lavandula stoechas</i> L. et <i>Lavandula multifida</i> L. Palmier dattier	Tous, 1992 Chograni <i>et al.</i> , (2008) Ould Mohamed Salem <i>et al.</i> , 2001
La shikimate déshydrogénase (SKD)	Monomérique	Pin d'Alep Palmier dattier Caroubier	Wahid <i>et al.</i> , 2010 Ould Mohamed Salem <i>et al.</i> , 2001 Tous, 1992
La phosphoglucomutase (PGM)	Monomérique	<i>Hedysarum</i> Medicago.	Baatout <i>et al.</i> , (1990) Abdelkefi <i>et al.</i> , (2001)
La leucine aminopeptidase (LAP)	Monomérique	<i>Medicago sativa</i> L. <i>Medicago polymorpha</i> <i>Hemerocallis</i> (Lilaceae).	Brunel, 1982 ; Salhi Hannachi, 1996 Kang et Chung, 2000
L'alanine aminopeptidase (AAP)	Monomérique	chestnut species Arganier <i>Atriplex halimus</i> Pin d'Alep	Huang <i>et al.</i> , 1994 El mousadik 1997 Abbad <i>et al.</i> , 2004 Wahid <i>et al.</i> , 2010

**Figure 1** : Schéma des profils types de la SKD révélés chez toutes les populations analysées.

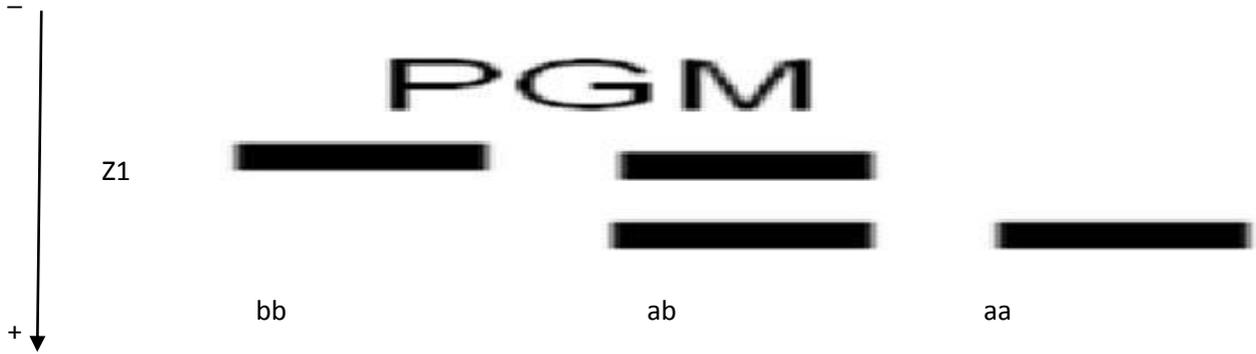


Figure 2 : Schéma des profils types de la PGM révélés chez toutes les populations analysées.

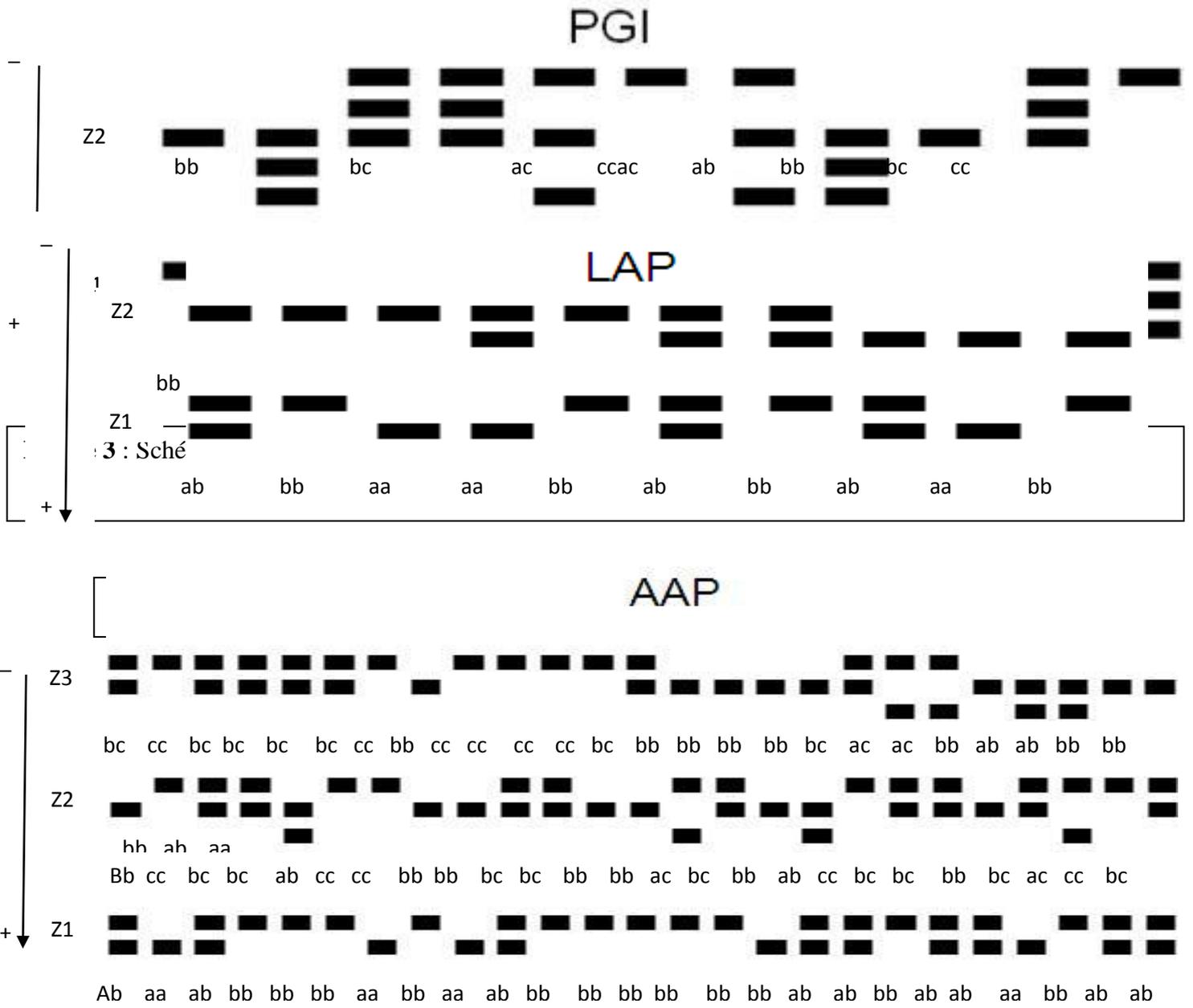


Figure 5: Schéma des profils types de l'AAP révélés chez toutes les populations analysées.

PARTIE II

Figuier de Barbarie

1. Origine et diffusion

Le genre *Opuntia* est originaire des zones tropicales du continent Nord-américain, en particulier du Mexique, où l'on a retrouvé des graines fossiles datant du septième millénaire av. J.-C. et indiquant l'utilisation alimentaire de l'espèce à l'époque préhistorique (Barbera et Inglese, 1993). A l'époque précolombienne, cette espèce et d'autres *Cactaceae* avaient une importance remarquable pour la survie des populations qui se trouvaient dans les régions comprises entre le Sud des Etats-Unis d'Amérique et le Mexique (Pimienta Barrios, 1990).

L'introduction de l'*Opuntia ficus-indica* en Europe date de la première moitié du XVI^e siècle et fut l'œuvre, comme pour beaucoup d'autres espèces végétales et animales, des colons espagnols (Prescott, 1843). Par la suite, la *Cactacea* s'est répandue sur tous les Continents, présentant des régions au climat chaud et aride; actuellement, elle est présente en formes spontanées ou cultivées plus ou moins importantes dans de nombreux Pays. En Australie et en Afrique du Sud, par exemple, elle est généralement considérée comme une mauvaise herbe en raison de la facilité avec laquelle elle se propage et des dégâts qu'elle provoque chez le bétail ovin; tandis qu'au Brésil, en Tunisie et en Italie l'espèce est largement utilisée dans l'agriculture .

En milieu méditerranéen, le Figuier de Barbarie fait depuis plusieurs siècles partie intégrante du paysage des régions côtières et insulaires, comme en témoigne la facilité avec laquelle il s'est adapté à nos conditions climatiques.

2. Encadrement et caractéristiques botaniques de l'*Opuntia ficus-indica*

A partir des premières classifications morphologiques élaborées par les populations indigènes du Mexique, essentiellement basées sur l'attribution de dénominations différenciées mais avec une racine étymologique commune à différents types d'*Opuntiae* (Pimienta Barrios, 1990), de nombreux Auteurs ont élaboré des classifications du Genre *Opuntia*. La classification considérée comme la plus valable à ce jour est sans doute celle que reportent Britton et Rose (1963). Le genre *Opuntia* y est intégré à la famille des *Cactaceae*, ordre *Caryophyllales*, sous-classe *Caryophyllidae*. Aux *Cactaceae* appartiennent des espèces succulentes caulinaires subdivisées dans les tribus des *Pereskieae*, *Opuntieae* et *Cereae*.

La tribu des *Opuntieae* comprend le genre *Opuntia*, subdivisé à son tour en quatre sous-genres: *Platyopuntia*, *Cylindropuntia*, *Tephrocactus* et *Brasiliopuntia*. Le sous-genre *Platyopuntia* comprend de 150 à 300 espèces décrites, dont la série des *Ficus-indicae* qui comprend l'*Opuntia ficus-indica* Mill.

L'*Opuntia ficus-indica* est, parmi les cactées, celle qui a la plus grande importance agronomique, tant pour les fruits comestibles que pour les raquettes qui peuvent être utilisées comme fourrage ou comme légumes (Scheinvar, 1995).

La domestication d'*O. ficus-indica* a commencé il y a environ 8.000 ans (Bravo, 1991; Pimienta-Barrios et Muñoz-Urias, 1995). Il en existe une forme épineuse et une forme inerme. De la forme sylvestre ou épineuse (*Opuntia megacantha* Salm-Dick) dérive la forme sans épines (*O. ficus-indica* f. *ficus-indica*). De nombreux autres noms spécifiques, comme *Strepthacanthae* et *Ficus-indicae* (Britton et Rose, 1919), correspondent à de simples variations morphologiques d'*O. megacantha*. De nombreux Auteurs considèrent *O. megacantha* comme un synonyme d'*O. ficus-indica*, toujours considérée comme la forme inerme (Benson, 1982; Gibson et Nobel, 1986). La démonstration la plus évidente qu'*O. ficus-indica* est une forme d'*O. megacantha*, est que, sporadiquement et en particulier dans des conditions de stress, certaines raquettes de la forme inerme peuvent commencer à développer des épines (Griffith, 1914; Le Houérou, 1996). Par ailleurs, les plantes obtenues à partir des graines d'espèces sans épines, peuvent générer des formes épineuses, caractérisées par une grande variabilité.

Dans la famille des *Cactaceae*, le nombre chromosomique de base est $x = 11$, tandis que le nombre de chromosomes somatiques est principalement égal à 22. Pour ce qui concerne *O. ficus-indica*, de nombreuses sources indiquent que, tant la forme épineuse que la forme inerme ont $2n=88$, c'est à dire qu'elles sont toutes deux octoploïdes. D'autres Auteurs considèrent en revanche cette espèce comme une diploïde, $2n=22$ (Spencer, 1955; Weedin et Powell, 1978) même si probablement il s'agit d'erreurs d'identification.

Le Figuier de Barbarie est une espèce permanente ligneuse, dont les plantes atteignent une hauteur variable de 1 à 5 m. Du point de vue morphologique, la caractéristique principale est le fait que les branches sont transformées en organes aplatis de forme elliptique ou ovoïdale, carnées et de couleur verte, appelées raquettes. Les feuilles sont rudimentaires, de forme conique et ont un caractère éphémère, tandis qu'à la surface des raquettes on trouve des aréoles qui se sont différenciées de l'aisselle des feuilles et accompagnées d'épines de dimensions variables.

Les fleurs sont hermaphrodites avec une corolle de couleur jaune ou orange et le fruit est une baie de couleur blanche, jaune ou rouge à la maturation, normalement doté de nombreuses graines. Les racines sont généralement superficielles et facilitent ainsi l'absorption des eaux météoriques de faible consistance, mais en même temps, elles sont robustes et capables de coloniser de façon efficace les milieux difficiles. La capacité de colonisation des milieux de faible fertilité pédologique est améliorée par la possibilité d'accueillir dans les racines des micro-organismes fixateurs d'azote symbiontes.

3. Rôle économique et écologique des *Opuntiae*

L'importance du Figuier de Barbarie est liée aux nombreuses utilisations économiques de l'espèce tant comme culture extensive qu'à l'état spontané (Barbera, 1987b; Barbera *et al.*, 1988; Pimienta Barrios, 1994). La plante a des exigences culturales réduites; en effet, elle n'exige que des travaux peu profonds et une taille peu importante; elle n'a pas besoin d'apports importants en eau ni de traitements antiparasitaires et, par conséquent, elle présente de faibles coûts énergétiques pour la culture en implantations spécialisées (Baldini *et al.*, 1982; Barbera, 1991a; 1995).

Sans aucun doute, l'utilisation principale est la consommation à l'état frais des fruits qui se vendent dans différentes parties du monde. Ce n'est pas par hasard qu'on essaie actuellement d'améliorer les qualités organoleptiques des fruits, d'éliminer les glochides gênantes, de réduire le nombre des graines et de perfectionner les techniques de conservation frigorifique.

La pulpe du fruit permet d'obtenir de nombreux sous-produits.

Les graines du fruit donnent une huile comestible qui présente un haut degré d'insaturation, avec un taux important d'acide linoléique et un faible taux d'acide linoléique. Grâce à ces caractéristiques et à d'autres caractéristiques chimiques et physiques, l'huile appartient à la même catégorie que les huiles de graines de soja, de maïs et de tournesol (Sepúlveda et Sáenz, 1988).

Pour leur subsistance, les populations indigènes du Mexique recourraient non seulement aux fruits, mais aussi aux jeunes raquettes de 10-15 cm de longueur qu'ils utilisaient comme des légumes; actuellement elles sont communément utilisées dans la cuisine mexicaine pour la préparation de nombreux plats (Hoffmann, 1995).

La culture suscite également un grand intérêt dans le domaine zootechnique. En effet, on connaît l'utilisation du Figuier de Barbarie comme aliment pour les ovins, les caprins, les bovins et les porcins (Monjauze et Le Houérou, 1965). On a réalisé de nombreuses expériences dans différents pays comme le Mexique (Ponce, 1995), le Brésil, le Chili et l'Afrique du Sud concernant l'utilisation de l'espèce comme fourrage dans les zones arides et semi-arides. Les raquettes sont en effet très riches en eau, au point qu'en certaines périodes de l'année, elles contribuent à satisfaire les besoins en eau des animaux (Crosta et Vecchio, 1979). Il faut néanmoins préciser que la ration alimentaire composée uniquement de raquettes d'*Opuntia* est déséquilibrée, faiblement nutritive, surtout pour ce qui concerne les protéines, même si elles sont riches en hydrates de carbone digestibles, en lipides et en vitamines (Santana, 1992). C'est la raison pour laquelle les tiges coupées en morceaux sont intégrées à d'autres aliments: le foin et le concentré ou le pâturage naturel (Monjauze et Le Houérou, 1965).

L'espèce est utilisée comme brise-vent ainsi que pour clôturer les champs, comme on peut le voir en Sardaigne où elles sont désormais une caractéristique du paysage naturel.

Jadis, les colons espagnols furent attirés par la présence sur cette plante d'une cochenille (*Dactilopius coccus*) d'où l'on pouvait extraire, après un traitement de séchage et de broyage du corps de l'insecte, une poudre qu'on utilisait comme un colorant pour les tissus, comme une solution aqueuse colorante pour l'industrie alimentaire et pharmaceutique, comme une laque pour la production de couleurs pour les artistes; on pouvait également extraire environ 10% d'acide carminique utilisé comme indicateur et réactif en histologie et en bactériologie (Barbera, 1991b).

Les jeunes raquettes consommées dans les différentes préparations traditionnelles ou d'herboristerie, en raison du contenu important en fibres et en mucilages, ont une action hypoglycémique, due à l'adsorption du glucose des aliments et par conséquent à l'économie d'insuline, ainsi qu'une action hypocholestérolémique, par adsorption des sels biliaires qui stimule la sécrétion biliaire et l'utilisation du cholestérol présent dans le sang (Mulas, 1992). On pense que les organes végétatifs ont une fonction antipyrétique, anti-inflammatoire, analgésique et antispasmodique, tandis que les fleurs séchées sont utilisées pour la préparation de tisanes diurétiques (Barbera, 1991b; Mulas, 1992).

On a déjà souligné que les espèces du genre *Opuntia* présentent des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques leur permettant de végéter dans les milieux difficiles, caractérisés par une faible pluviosité et fertilité du sol (Martinez et Villa, 1995).

Du point de vue pédologique, le Figuier de Barbarie s'adapte aux terrains sableux ou à l'empâtage moyen, pauvres en substance organiques et superficielles (Barbera *et al.*, 1993). Les capacités d'adaptation de l'espèce lui permettent de coloniser les sols stériles des pentes de l'Etna, déterminant la formation d'une terreau indiqué pour des cultures plus rentables (Bonifacio, 1961; Barbera *et al.*, 1993). Il en va de même dans les zones subtropicales et cela a mené par la suite à l'évolution positive des sols pour la transformation des racines et des raquettes en substance organique et par conséquent à une plus grande disponibilité d'éléments nutritifs, à une augmentation des micro-organismes, à une amélioration de la structure et du bilan hydrique (Monjauze et Le Houërou, 1965). En partie, les *Opuntiae* exercent également une action d'ombre sur le terrain et on a par conséquent une baisse de la température, de l'intensité lumineuse et de la vitesse de décomposition de la substance organique ainsi que de la transpiration et de l'évaporation. Sur les terrains fortement sableux, la plante, en raison de la diffusion et de la superficialité des racines entrave le déplacement du sable, c'est-à-dire qu'elle limite l'érosion éolienne (Crosta et Vecchio, 1979).

Enfin, on a étudié, la capacité du Figuier de Barbarie de vivre en symbiose avec les bactéries qui fixent l'azote, ce qui rend l'espèce encore plus intéressante du point de vue écologique (Llovera *et al.*, 1995).

4. Aspects biologiques liés à la multiplication de l'espèce et technique de propagation

L'*Opuntia ficus-indica* se propage par multiplication asexuée ou à travers les graines. La multiplication asexuée est effectuée par bouturage. Dans la pratique culturale, le bouture du Figuier de Barbarie est formé par une raquette de deux ans avec deux ou trois raquettes d'un an (Barbera, 1991a). Cette technique de multiplication présente plusieurs avantages: elle est simple, rapide et économique, elle permet d'obtenir des plantes uniformes et identiques à la plante mère; cela est particulièrement utile quand on souhaite maintenir les caractères favorables (Pimienta Barrios, 1990).

Dans les conditions naturelles où le Figuier de Barbarie est spontané, la multiplication se produit facilement suite à la chute des raquettes ou à partir de celles-ci par abscission naturelle ou grâce à l'intervention des animaux.

En cas de carence de matériel végétatif à multiplier, on peut recourir à la micro- multiplication en utilisant les bourgeons axillaires comme explants qui seront traités avec une solution de benzyladénine. Cela permet, en partant d'une seule raquette, d'obtenir jusqu'à 25.000 plantes (Escobar *et al.*, 1986).

La multiplication est également possible en utilisant des rejets de racine ou les fleurs écloses. En effet, chez ces dernières, les aréoles du réceptacle, qui est un thalle modifié, ont la capacité de différencier les racines et les pousses végétatifs (Pimienta Barrios, 1990).

On pratique peu la greffe et elle a surtout un objectif ornemental pour obtenir des formes curieuses ou décoratives (Portolano, 1970).

La multiplication par les graines de l'*Opuntia ficus-indica* est moins courante par rapport à d'autres espèces arborescentes. Les graines sont revêtues d'une tête recouverte d'une couche très dure qui constitue le faux arille dû au fait que le funicule enveloppe l'ovule et lignifie quand la maturation de la graine est terminée. Autour de l'hile, on reconnaît le cordon du funicule, le raphé où naît le strophiole, un tissu constitué par des cellules non lignifiées (Gallo et Quagliotti, 1989). Il ne présente pas d'endosperme, les cotylédons sont foliacés et carnés, tandis que l'hypocotyle n'est pas succulent.

La germination se fait par degrés, d'un minimum de 4-5 jours à 4-5 mois, et elle est influencée par la température et la lumière. En particulier, Gallo et Quagliotti (1989)

ont noté l'importance de la présence de lumière et d'une température considérée comme optimale autour de 25-30 °C.

La multiplication à travers les graines présente plusieurs inconvénients: la germination est lente car on traverse d'abord une phase de latence; les plantules ne sont pas uniformes du point de vue génétique et phénotypique; et elles traversent une phase juvénile très longue (Escobar *et al.*, 1986; Pimienta Barrios, 1990). La latence qui a été observée durant la phase de germination, semble être due à la protection du funicule qui ralentit l'imbibition. On peut obtenir une augmentation de la rapidité de germination et du pourcentage de graines qui ont germé à travers la scarification, qui peut être mécanique ou chimique. La première agit sur la protection du funicule et a donné des résultats positifs, tandis que la scarification chimique avec une solution de HCl à 20% pendant 24 heures s'est révélée compromettante pour la germination (Beltran et Rogelio, 1981).

Un phénomène qu'on peut relever lors de la multiplication par les graines est la polyembryonie, c'est à dire la formation de plusieurs embryons. L'un d'eux est en général d'origine sexuelle et dérive de la fécondation du sac embryonnaire, les autres qui sont appelés apomictiques, dérivent de cellules du même sac embryonnaire ou des tissus de la nucelle (Pimienta Barrios, 1990).

Mulas *et al.* (1992a) ont apporté des approfondissements supplémentaires sur la technique de multiplication asexuée, en essayant d'utiliser de jeunes pousses, et en réalisant différentes expériences au cours desquelles, dans les conditions ambiantes de la Sardaigne Centrale et Occidentale, on a comparé le comportement de boutures plantées en trois périodes de l'année: automne, hiver et printemps (Mulas *et al.*, 1992b). L'expérience, d'une durée de deux ans, a vérifié les conditions optimales pour le développement des racines en examinant différents paramètres comme le nombre de boutures mortes, la variation en poids des boutures, le poids des racines par bouture, le nombre de pousses et de fruits par plante. On a également relevé les données météorologiques relatives à la période du test. Tous les paramètres examinés sont influencé par l'époque d'implantation; en particulier les boutures plantées en automne présentent un pourcentage inférieur d'échecs, des racines plus nombreuses et plus lourdes par bouture tandis que les valeurs les plus basses ont été relevées quand l'implantation avait lieu en hiver. Le nombre de pousses par bouture est supérieur pour l'implantation qui a lieu au printemps tandis qu'on a obtenu un nombre supérieur de fruits avec l'implantation hivernale. On a également noté l'importance des conditions météorologiques, en particulier de la pluviosité qui a une influence positive sur l'hydratation des boutures. Cela détermine un nombre supérieur de racines par bouture

suite à l'implantation d'automne.

En tenant compte des températures et de la pluviosité des différentes périodes de l'année, l'automne est indiqué comme la saison la plus favorable pour l'implantation, pour le moins dans les conditions méditerranéennes.

On a déjà expérimenté que les boutures peuvent être préparées en partant de portions de raquettes et cela détermine une économie de matériel de propagation. On peut en effet planter des boutures de différentes dimensions et avec un nombre différent d'aréoles présentes à la surface de la raquette. En particulier, Barbera *et al.* (1993) ont comparé à deux époques différentes d'implantation, l'automne et le printemps, différents types de bouture qui présentaient de 1 à 3 aréoles et aux dimensions variables qui atteignent jusqu'à 1/4 de raquette.

Au cours de cette expérience, on a relevé le pourcentage d'enracinement, l'époque d'émission des racines, les dimensions de chaque raquette émise et le nombre de raquettes produites. Si on souhaite réduire les temps du séjour en pépinière, il semble donc nécessaire d'utiliser les boutures de 1/4 de raquette implantées au printemps. En revanche les boutures très petites qui présentent elles aussi un pourcentage important d'enracinement, permettent de maximaliser la productivité de la méthode, en termes de nombre de plantes, même si pour obtenir des boutures de racine prêtes, il faut des temps plus longs.

Mondragòn et Pimienta-Barrios (1995) ont proposé une large révision des possibilités de multiplication par graines et par bouturage du Figuier de Barbarie, alors que la technique de propagation par culture des tissus est elle aussi largement pratiquée (Villalobos, 1995).

5. Ecophysiologie du genre *Opuntia*

5.1. Adaptations structurales aux milieux arides

L'*Opuntia* est une dicotylédone vivace, munie de raquettes, qui représentent des tiges modifiées. La plante est dépourvue de feuilles, car elles sont de nature éphémère et tombent hâtivement. Les raquettes sont recouvertes d'un épiderme épais recouvert de cires, structurées de manière à limiter les pertes d'eau par transpiration. Les stomates sont enfoncés en profondeur et en cas de températures élevées et de forte insolation, ils peuvent rester fermés une grande partie de la journée.

Le Figuier de Barbarie est caractérisé par des racines superficielles et charnues, en expansion horizontale. Dans les milieux fortement arides, à partir des racines principales, se développent des racines secondaires charnues en mesure d'atteindre les couches de sol plus profondes, où elles

trouvent plus d'humidité (Nefzaoui et Ben Salem, 2002). Malgré cela, dans tous les types de sol, la masse volumineuse des racines absorbantes se retrouve dans les couches les plus superficielles à une profondeur maximum de 30 cm et avec un rayon de développement horizontal qui peut atteindre 8 m (Sudzuki Hills, 1995). Les racines des *Cactaceae* diffèrent de celles des autres plantes par ses caractéristiques xéromorphes, qui leur permettent de survivre dans les milieux de forte sécheresse. En effet, le mince appareil pileux des racines, peut être recouvert d'un mince film imperméable ou être rapidement éliminé pour éviter les pertes d'eau.

Il existe trois mécanismes principaux qui permettent aux *Cactaceae* de tolérer la sécheresse (Sudzuki Hills, 1995):

- en réduisant la surface des racines et la perméabilité à l'eau;
- en absorbant rapidement la faible quantité d'eau tombée lors de pluies éphémères, grâce à la capacité de produire en très peu de temps des racines qui disparaissent une fois que le sol s'assèche;
- en négativisant davantage le potentiel hydrique. Dans ce cas, on peut parler de mécanismes de *drought-resistance*.

Pour ce qui concerne les *Cactaceae*, une fois qu'elles ont absorbé l'eau à travers les racines, elles la lient immédiatement à un composé hydrophile mucilagineux qui ralentit beaucoup les pertes par transpiration. Cette composé hydrophile se trouve emmagasiné dans les cellules du mésophyle charnu des raquettes (De Kock, 1983).

La paroi des cellules de l'épiderme est imprégnée d'une épaisse couche de substances cireuses. Cette couche de cutine exerce différentes fonctions; en effet, les cires qui la composent ont la fonction d'empêcher la transpiration et de réfléchir une partie des radiations solaires. Par ailleurs, les substances qui composent la cuticule ne sont pas décomposables par les micro-organismes qui ne peuvent pas pénétrer à l'intérieur du tissu du derme (Gibson et Nobel, 1986). Les raquettes peuvent perdre plus du 60% de leur contenu en eau avant que les cellules ne meurent (De Kock, 1983). Même si on ne connaît pas encore très bien la fonction précise du mucigel qui constitue le parenchyme cellulaire, on sait qu'il contribue à la résistance à la transpiration et donc à la thésaurisation de l'eau (Gibson et Nobel, 1986).

Tant les épines que les poils ont différentes fonctions; en effet, on pense que les épines défendent la plante contre les agressions des animaux et favorisent la réduction des pertes en eau (Levitt, 1980). Quoi qu'il en soit, la principale fonction est de favoriser la condensation de l'eau à proximité de la surface foliaire (Buxbaum, 1950). Par ailleurs, les épines contribuent à

baisser la température journalière des tissus végétaux et leur présence réduit l'interception de la lumière de la part des raquettes (Nobel et Hartsock, 1983).

On peut enfin affirmer que l'*Opuntia* présente des caractéristiques exceptionnelles qui lui permettent d'emmagasiner, dans les organes succulents, de grandes quantités d'eau. De courtes précipitations de quelques mm de pluie seulement peuvent être efficacement utilisées par cette plante grâce aux racines superficielles, mais très étendues, qui sont en mesure d'absorber l'eau dans sol quand les niveaux d'humidité sont bas au point d'empêcher la vie de la plupart des espèces cultivées.

5.2. Mécanismes d'arido-résistance

Du point de vue écologique, l'*Opuntia ficus-indica*, même si on la trouve dans les zones au climat tempéré, est typiquement une espèce des zones arides et désertiques et présente, par conséquent, une série d'adaptations morphologiques et physiologiques aux caractéristiques du milieu d'origine.

En l'absence de feuilles permanentes, en effet, le processus photosynthétique se réalise dans les raquettes vertes (Benson, 1963; Pimienta Barrios, 1990). Celles-ci contiennent également un parenchyme aquifère qui peut emmagasiner et conserver l'eau de façon efficace. L'efficacité dans la limitation des pertes en eau par transpiration cuticulaire est améliorée grâce à la présence d'un épais revêtement cireux épicuticulaire et intracuticulaire. La morphologie stomatique contribue elle aussi à limiter les pertes par transpiration, tout comme l'ensemble du processus photosynthétique. En effet, cela peut avoir lieu suivant le cycle CAM qui, comme on le sait, permet l'ouverture nocturne des stomates pour les échanges gazeux, réduisant par conséquent les pertes par transpiration.

Les plantes CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*) ont un métabolisme destiné à économiser l'eau durant la sécheresse, tout en maintenant une assimilation photosynthétique nette positive. Grâce à la haute concentration tissulaire de CO₂ la photorespiration et la photoinhibition sont négligeables, favorisant un métabolisme lent, mais sans gaspillages.

Les principales caractéristiques du métabolisme type CAM sont: 1) stomates fermés de jour et ouverts la nuit; 2) carboxylation nocturne, à partir de la démolition de l'amidon avec la production d'acide malique, accumulé dans la vacuole, qui détermine une augmentation du pH pendant la nuit; 3) décarboxylation du malate et fixation du CO₂, de la part de la Rubisco, durant le jour (stomates fermés), avec la synthèse d'amidon et d'autres glucanes.

Le processus photosynthétique CAM est caractérisé par un balayage temporel rigoureux. De

nuit, le CO₂, absorbé à travers les stomates ouverts, est transformé en acide malique. Les grandes quantités d'acide malique produites font augmenter l'acidité des cellules qui atteint son maximum peu avant l'aube. Au cours des premières heures du matin, les stomates ont tendance à se fermer, l'acide malique est extrait par la vacuole et décarboxylé grâce à l'enzyme malique-NAD dépendante. Le CO₂ ainsi libéré, vu qu'il ne peut pas sortir de la plante, forme un pool très concentré qui supprime toute photorespiration. Il entre dans un cycle C₃ normal qui mène à la synthèse de l'amidon.

Les espèces appartenant au genre *Opuntia* font partie des plantes appelées CAM obligées, car, même si elles sont soumises à des interventions d'irrigation, leur métabolisme photosynthétique ne change pas (Osmond, 1978).

Si le déficit hydrique est extrêmement sévère, le métabolisme CAM subit des modifications particulières. En effet, étant donné que les stomates restent fermés aussi bien durant le jour que durant la nuit, empêchant l'assimilation nocturne du CO₂, on a une utilisation de l'anhydride carbonique produite par la respiration, de manière à ce que, malgré tout, une faible photosynthèse puisse avoir lieu durant le jour (Ting, 1983). On a également observé sur des raquettes de deux semaines et sur les bourgeons de fleurs, l'ouverture des stomates durant le jour; dans ce cas, la photosynthèse suit le cycle normal de Calvin (Acevedo *et al.*, 1983).

Les jeunes raquettes, étant donné qu'elles ont un métabolisme photosynthétique de type C₃, maintiennent les stomates ouverts le jour et rappellent l'eau dont elles ont besoin à travers les raquettes situées en dessous, constituant une source remarquable de pertes d'eau pour toute la plante (Nobel *et al.*, 1994; Wang *et al.*, 1997). C'est la raison pour laquelle, durant les périodes de grande sécheresse, la plante interrompt la formation de nouvelles raquettes, en mettant au point un important mécanisme pour éviter le stress, en mesure de prévenir les pertes d'eau importantes.

La symbiose avec mycorhize contribue à l'optimisation de la recherche d'eau de la part des racines et à sa conservation dans les tissus de réserve (Pimenta Barrios *et al.*, 2002). Malgré le fait que les travaux existants sur cet argument sont peu nombreux, il semblerait clair que la symbiose à travers les champignons micorrizogènes améliore les performances des plantes hôtes, en garantissant une plus grande capacité dans l'absorption de l'eau, dont la faiblesse est la principale cause de limitation de la productivité (Allen, 1991; Titus et Del Moral, 1998). Par ailleurs, un nombre réduit de racines dû au stress hydrique important, garantit à la plante une économie d'énergie. Pour la plante, il est probablement moins coûteux d'instaurer une symbiose avec mycorhize, que de supporter des racines imposantes.

Le métabolisme CAM est plus efficace dans des conditions climatiques caractérisées par des journées chaudes et des nuits froides. C'est la raison pour laquelle le développement des implantations de Figuier de Barbarie est plus efficace dans les milieux présentant ces caractéristiques (Nobel et Hartsock, 1984).

Au-delà du fait qu'elles sont extraordinairement résistantes au déficit hydrique, les espèces du genre *Opuntia*, présentent une grande tolérance aux températures extrêmes. A l'inverse de la plupart des organismes végétaux, dont les températures foliaires sont proches de celles de l'environnement dans lequel elles se trouvent, les organes photosynthétiques des Figuiers de Barbarie peuvent atteindre des températures jusqu'à 15 °C supérieures à la température ambiante (Gates *et al.*, 1968). Sanwal et Krishnan (1961) ont démontré que chez *Nopalea dejecta* les enzymes phosphatases et aldolases atteignent leur vitesse maximum à 60 °C. Aussi, même en présence de températures désertiques élevées, les systèmes enzymatiques de ces espèces sont en mesure d'opérer normalement.

Généralement, les plantes CAM présentent un niveau optimal pour l'assimilation du CO₂, quand les températures nocturnes gravitent autour de 10-15 °C.

Nobel et Hartsock (1984) ont effectué des essais pour évaluer l'effet de différentes combinaisons de températures sur le taux net d'assimilation du CO₂ chez *Opuntia*. Ils obtinrent les meilleurs résultats avec la combinaison de 25 °C durant le jour et 15 °C de nuit. En réduisant les températures à 10 °C le jour et 0 °C la nuit, on a enregistré des taux d'assimilation inférieurs à 67%. En augmentant la température le jour et la nuit (35 °C et 25 °C), la réduction dans l'assimilation du CO₂ était de 35%, pour devenir nulle à des températures égales à 45 °C le jour et 35 °C la nuit.

La réduction de la photosynthèse à des températures élevées tant le jour que la nuit, est attribuable à la fermeture des stomates durant la nuit (températures très élevées) et à l'augmentation de la respiration. Il semble, en effet, qu'une fraction élevée de CO₂ se lie aux acides organiques produits au cours de la transpiration même.

Le succès écologique et agronomique des *Cactaceae*, comme les *Opuntiae*, dépend de leurs différentes capacités d'adaptation, comme l'habilité à conserver l'eau dans le parenchyme aquifère des raquettes et à assimiler l'anhydride carbonique durant les heures nocturnes (Nobel, 1988; 1995). Les *Opuntiae* sont en mesure de tolérer de longues périodes de déficit hydrique, garantissant l'activité photosynthétique à travers le maintien de la turgescence dans le tissu actif du point de vue photosynthétique (Nilsen *et al.*, 1990; Nobel, 1995). En effet, grâce à la capacité photosynthétique des raquettes.

O. ficus-indica est en mesure de stocker le Carbone jusqu'à trois mois après que la capacité hydrique du sol est descendue en dessous de 5%; c'est la raison pour laquelle les plantes sont en mesure d'emmagasiner les énergies qui les supporteront dans leur croissance, jusqu'à la disponibilité de nouvelles ressources hydriques.

6. Techniques culturales pour le genre *Opuntia*

6.1. Choix de l'espèce et du cultivar

Le choix de la variété prend une certaine importance au cas où l'implantation serait destinée à la production de fruits pour la consommation directe. Dans cette circonstance, il est de la plus grande importance de connaître l'évolution du marché et d'évaluer le type de fruit préféré par les consommateurs qui sera donc plus facile à commercialiser.

Mais si le but de l'implantation est l'utilisation fourragère, la production des fruits et le choix de la variété passent au second plan. Normalement, vu que l'*Opuntia* est répandue depuis des siècles, on cultive dans les zones arides et semi-arides les biotypes déjà acclimatés et se développant bien dans ces milieux. En général, il est toutefois opportun de choisir les variétés inermes, de manière à éviter l'opération d'élimination des épines avant la consommation de la part du bétail, si les conditions de gestion permettent d'en réglementer l'utilisation (Fig. 11).

Il existe cependant des facteurs importants qu'il est opportun de considérer au moment du choix de la variété:

- productivité élevée et bonne qualité;
- adaptabilité au climat et au sol;
- grande rusticité
- résistance à l'agression des parasites et des insectes.

7. Implantation

Les implantations peuvent être réalisées suivant la nature et l'inclinaison du terrain; si l'objectif principal est la défense contre la dégradation et l'érosion du sol, les méthodes les plus utilisées sont décrites ci-après:



Figure 11 Variété d'*Opuntia ficus-indica* épineuse (ci-dessus) et inermis (ci-dessous).

- sans un ordre préétabli, en plantant les boutures dans les endroits les moins sujets au lessivage et principalement dans les dépressions où l'eau de pluie est recueillie en transportant des détritrus; l'implantation, dans ce cas, doit être réalisée en creusant des trous;
- en rangs ou en bandes, le long des courbes de niveau plus ou moins rapprochées suivant la pente; les boutures seront disposées dans des tranchées de 30 cm de profondeur; les rangs ou les bandes de deux ou trois rangs seront espacés en moyenne de 6 à 8 mètres.

Le Figuier de Barbarie se reproduit également à travers les graines, mais on préfère recourir aux boutures, car la croissance des plantes est beaucoup plus rapide. En cas de rangs, les tiges doivent être orientées transversalement par rapport à la ligne directrice du creusement, de manière à permettre aux branches de se développer librement vers l'extérieur. En général, l'enracinement est très important, 80 et 95%, en particulier si on utilise deux raquettes par poquet. Les échecs sont en général dus à des maladies et à des agressions parasitaires.

Avant l'implantation, on taille les raquettes de façon nette au point d'insertion, en les prélevant sur des plantes adultes, après les avoir exposées à l'air pendant quelques semaines, pour que la blessure se cicatrise; on les ensevelit à moitié ou aux trois quarts et un peu en oblique pour offrir moins de résistance au vent.

Les branches à utiliser pour l'implantation doivent avoir deux ou trois ans et on recommande d'utiliser des branches de trois ou plusieurs raquettes. La meilleure époque pour l'implantation doit être loin de la saison des pluies, de manière à éviter tout risque de maladie des tiges. Au cours des premières années, il faudra défendre les implantations contre le broutage, pour éviter la destruction des jeunes plantes, car elles sont très appréciées par le bétail (Inglese, 1995).

Si le but de la plantation est la production de fourrage, on recommande d'intensifier la densité d'implantation. En effet, une grande compétitivité entre les plantes réduit l'activité reproductive, en prolongeant la phase juvénile et la génération des nouvelles raquettes, principal objectif dans la production de fourrage. Le concept de fond sur lequel se base la haute densité d'implantation consiste à maximaliser la production de biomasse et à laisser à chaque plante un minimum quantitatif de terre à exploiter.

La limite la plus importante du système à haute densité est l'ombre qui se crée entre les plantes durant les différents stades de croissance. En effet, le faible éclairage rend les raquettes plus minces et l'architecture de la plante moins apte à capturer les radiations solaires actives du point de vue photosynthétique.

Au Mexique, l'implantation typique conçue pour la production de fourrage est constituée par des rangs compacts d'une hauteur non supérieure à 1,50 m, avec une densité d'environ 40.000 plantes/ha (80 x 40 cm). Au Brésil, on utilise une méthode semblable à la précédente, la densité par hectare est toujours de 40.000 plantes, mais l'ordre est de 100 x 25 cm; une implantation plus intensive de la méthode la plus courante prévoit 2 m entre les rangs et 1 m sur le rang. Deux ans après l'implantation, on obtient dans le premier cas, des productions de 246 t/ha, et dans le second, avec une densité inférieure, la production tourne autour de 100 t/ha. Vu les résultats, il semblerait qu'au Brésil aussi l'ordre le plus intensif offre les meilleurs résultats.

8. Fertilisation du sol

En général l'*Opuntia* présente une productivité assez basse, souvent en raison des conditions ambiantes fortement limitantes dans lesquelles elle se développe normalement. On retrouve communément le Figuier de Barbarie spontané sur des sols pauvres, au faible taux de substances organiques, et dans des régions où la saison végétative est très courte, il existe des facteurs qui ne permettent pas à cette espèce d'exprimer pleinement ses potentialités.

Différents essais sur la fertilisation, réalisés dans différentes parties du Monde, montrent que la fertilisation détermine une remarquable augmentation de la production tant des fruits que des raquettes. Des applications importantes d'azote, jusqu'à 160 kg/ha, favorisent l'augmentation du nombre de nouvelles raquettes chez *O. engelmannii*.

En accord avec Gonzales (1989), la fertilisation porte non seulement à une augmentation de la production, mais aussi à une augmentation du pourcentage de protéines. En effet, les essais de fertilisation azotée réalisés sur *O. lindheimeri* montrent que des niveaux croissants d'azote, de 67, 124 et 135 kg N/ha, déterminent respectivement une augmentation du niveau protéique de 3,1, 4,2 et 4,4 points de pourcentage.

9. Valeur nutritionnelle et utilisation zootechnique

L'utilisation de l'*Opuntia* spp. comme fourrage présente de nombreux avantages, car elle est largement répandue; elle se développe rapidement, c'est une culture économique, assez appétible et elle peut également supporter de longues périodes de sécheresse (Shoop *et al.*, 1977). Ces caractéristiques en font un fourrage important dans l'intégration de l'alimentation animale, en particulier durant la saison sèche ou quand les autres aliments sont peu disponibles. Tant les raquettes que les fruits peuvent être utilisés comme fourrage, à l'état frais ou conservés sous forme d'ensilés (Castra *et al.*, 1977).

Contrairement à ce qu'on pourrait penser, l'utilisation du Figuier de Barbarie comme plante fourragère n'est pas récente. Les premiers documents à ce propos, indiquent les Etats-Unis comme zone d'utilisation maximum et datent d'avant la Guerre Civile (1861-1865) (Griffith, 1905). Par la suite, les raquettes furent intensément transportées du Texas vers beaucoup d'autres Régions, comme Brownsville, Indianola, San Antonio et Eagle Pass.

Les *Opuntia*, cultivées ou spontanées, ont pris, dans différentes parties du monde, une importance de plus en plus grande en tant que plantes fourragères. Elles sont cultivées en Afrique, en Argentine, en Bolivie, au Brésil, au Chili, en Colombie, en Palestine, en Italie, au Mexique, au Pérou, en Espagne et aux Etats-Unis (Curtis, 1979; Le Houèrou, 1979; Brutsh, 1984; Russel et Felker, 1987; Clovis de Andrade, 1990; Barbera *et al.*, 1992; Flores Valdez et Aguirre Rivera, 1992; Felker, 1995).

Il existe depuis longtemps de vastes zones de culture d'*Opuntia* en Algérie, au Maroc, au Mexique et surtout en Brésil et en Tunisie, où elle est utilisée en tant que fourrage de réserve, durant les périodes de sécheresse prolongée. Dans de nombreuses régions caractérisées par un climat aride ou semi-aride (Tunisie, Mexique, Sud du Texas et Afrique du Sud), les éleveurs utilisent largement l'*Opuntia* comme fourrage d'urgence, en livrant au broutage tant les plantes cultivées que les plantes spontanées, de manière à contraster les périodes de sécheresse fréquentes, qui pourraient avoir des conséquences désastreuses (Le Houèrou, 1992b; Nefzaoui *et al.*, 2000a) et à limiter la pression sur la végétation naturelle.

L'*Opuntia* est un aliment pour le bétail incomplet et mal équilibré, mais d'autre part, il représente une source précieuse d'énergie et d'eau. Les raquettes ont un faible taux en protéines brutes, en fibres, en phosphore et en sodium (Le Houèrou, 1992b; Nefzaoui, 2000), mais si cette plante est associée à d'autres fourrages, en mesure de compenser ces carences, on peut obtenir des régimes bien équilibrés.

Le contenu en eau par rapport au poids frais est en moyenne autour de 90% (Tab. 11). Le contenu en cendres est proche de 20% du poids sec.

Les protéines brutes prennent souvent des valeurs inférieures à 5%, mais dans certains cas, on peut atteindre des valeurs de 10% sur le poids sec. Le contenu en fibres est toujours bas, autour de 10% du poids sec. L'extrait non azoté, qui comprend les sucres monomériques et polymériques, est proche de 20% du poids sec. Le faible contenu en phosphore (0,03%) et en sodium (0,01%) exige que les raquettes soient intégrées à d'autres aliments, contenant ces éléments en grande quantité, avant d'être administrées au bétail.

Comme le montre le Tableau 11, le contenu des raquettes en protéines est très bas, mais il tend à augmenter après la fertilisation avec des fertilisants azotés. En effet, on a vu que les fumures à base d'azote et de phosphore peuvent augmenter le contenu en protéines brutes des raquettes d'*Opuntia* de 45 à 10% du poids sec (Gonzales, 1989). Gregory et Felker (1992) ont trouvé des clones d'*Opuntia* en provenance du Brésil, dont le contenu en protéines brutes, dépassait 11% du poids sec. La possibilité de déterminer, à travers la sélection et l'hybridation, un cultivar contenant plus de protéines, pourrait favoriser les Régions dans lesquelles l'utilisation de fertilisants est excessivement dispendieuse. L'insuffisance en protéines peut être résolue à travers des ajouts ou des intégrations appropriées avec d'autres fourrages (Ben Salem *et al.*, 2002).

Les animaux parviennent à ingérer de grandes quantités de raquettes. Dans le cas des bovins de la race Jersey, alimentés avec du fourrage d'*Opuntia* intégré avec 1 kg/jour de concentrés, ils peuvent consommer 51 kg/jour de raquettes à l'état frais (Woodward *et al.*, 1951).

Tableau 11 Composition chimique moyenne de raquettes d'*Opuntia* utilisées comme fourrage. (Adaptée de Nefzaoui et Ben Salem, 2002).

Espèces	Cendres		Fibre s crues	Produits d'extraction non brutes	Ca	Mg	P	K	
	Protéines								Na
Eau	(% pf)				azotés				
			(% du poids sec)						
<i>O. ficus-indica</i> 89	17	4,8	10,9	65					
<i>O. ficus-indica</i> Californie 90		10,4		64	6,3	1,4	0,033	1,2 0,033	
Chili 89		8,9			3,9	1,3	0,012	2,0 0,003	
<i>O. ficus-indica</i> 87	27	38	8,6	58	8,7		0,04	1,1 0,05	

Dans d'autres cas, des bovins élevés exclusivement avec des raquettes peuvent ingérer 60 kg/j de cet aliment (Metral, 1965).

Viana (1965) cite des ingestions de 77 kg/j pour des élevages bovins, tandis que Monjauze et Le Houérou (1965) citent des niveaux d'ingestion qui vont de 2,5 à 9 kg/jour de raquettes, dans le cas des moutons.

Des recherches réalisées par Flores Valdez et Aguirre Rivera (1992) soulignent que l'ingestion de la part du bétail est supérieure quand on leur administre du fourrage d'*Opuntia ficus-indica* (11 kg/jour) plutôt que d'*O. robusta* (6,5 kg/jour). Quoiqu'il en soit, l'ingestion d'*Opuntia* est directement liée à la quantité d'eau contenue dans les raquettes, c'est à dire que plus le contenu en eau est important, plus elle est appétible.

L'utilisation de raquettes dans l'alimentation des moutons a des effets laxatifs, causés par le passage trop rapide dans l'intestin.

Ces effets sont plus évidents quand la quantité de raquettes présentes dans le régime représente plus de 60% du total, mais peuvent être réduits, lorsqu'on enrichit la ration alimentaire, avec de la paille et du foin, qui apportent de grandes quantités de fibres.

Les moutons élevés avec de la paille peuvent ingérer plus de 600 g (poids sec) de raquettes sans manifester aucun problème de digestion (Nefzaoui *et al.*, 1993). On a vu qu'en mélangeant le son de céréales, un aliment pauvre, et de la mélasse, l'appétibilité des aliments augmente (Preston et Leng, 1987). Il est probable qu'on obtienne le même effet avec les raquettes, puisque leur grand contenu en hydrates de carbone exerce la même fonction que la mélasse. Le contenu énergétique des raquettes varie de 3.500 à 4.000 kcal/kg sur le poids sec et la moitié seulement de cette énergie, principalement fournie par les hydrates de carbone, est utilisée par les animaux (De Kock, 1983; Ben Thlija, 1987). En Afrique du Nord, une région caractérisée par un climat aride ou semi-aride, généralement les résidus des céréales et le pâturage naturel ne suffisent pas pour satisfaire les exigences alimentaires des petits ruminants élevés pour la production de viande. Intégrer l'alimentation avec les raquettes peut être une solution valable, durable du point de vue économique. En effet, quand le régime des moutons est enrichi avec des raquettes, le poids corporel peut augmenter jusqu'à 145 g/jour (Tien *et al.*, 1993). Dans le cas d'élevages de chèvres alimentées avec du foin de luzerne et des Figuiers de Barbarie, la production de lait peut augmenter de 436 g/jour (Azocar *et al.*, 1991). Quand les raquettes sont associées à d'autres fourrages riches en protéines, elles peuvent remplacer de façon valable les grains de céréales (Ben Salem *et al.*, 1998) ou l'ensilage de maïs (Metral, 1965), sans aucune incidence négative sur l'augmentation du poids journalier des ovins adultes et des agneaux.

Si les moutons sont nourris suivant des régimes contenant des quantités toujours supérieures d'*Opuntia*, on a observé que leur appétibilité ainsi que la quantité ingérée de fourrage qui y est associé augmentent (Tab. 12).

Les raquettes du Figuier de Barbarie sont facilement digestibles. On a observé que leur digestibilité, dans le cas des élevages ovins, est semblable à celle des fourrages les plus communs. Le passage rapide des raquettes à travers l'intestin laisse la possibilité aux animaux d'ingérer plus de nourriture et n'empêche pas d'utiliser les autres composés de la ration alimentaire. Ce fait a une importance fondamentale dans les zones arides où le bétail est principalement élevé avec de la paille ou des chaumes de céréales, des aliments pauvres et de mauvaise qualité, qui ne garantissent pas à eux seuls une augmentation adéquate du poids corporel journalier.

Quoi qu'il en soit, la combinaison d'*O. ficus-indica* avec des pailles de céréales, représente une solution valable pour garantir l'élevage de petits ruminants dans les

zones caractérisées par des climats arides ou semi-arides (Ben Salem *et al.*, 1996). Au contraire, l'ajout à la ration alimentaire de raquettes, peut améliorer la valeur nutritive et stimuler l'ingestion d'aliments peu appétibles comme le son de céréales (Tab. 12 et 13).

10. Gestion de la ressource

Il existe différentes méthodes d'utilisation de l'*Opuntia* comme fourrage alternatif. En général, le broutage direct est le plus simple et économique, mais ce n'est pas la méthode la plus efficace et sûre; en effet, on peut courir le risque du surbroutage. Dans le cas des cultures d'*Opuntia*, il est opportun de couper les raquettes en petits morceaux ou en minces lanières et de les administrer directement au bétail dans les mangeoires ou dans un endroit éloigné de la culture, de manière à limiter le pâturage direct (Fig. 12). Les raquettes peuvent également être coupées en petites portions et mélangées à de la paille ou du foin de luzerne de mauvaise qualité et ensilés.

Tableau 12. Effets de l'intégration alimentaire avec le Figuier de Barbarie inerme (*Opuntia ficus-indica f. inermis*) sur l'ingestion, digestibilité totale du régime à base de paille et consommation d'eau de la part de moutons. (Adaptée de Ben Salem *et al.*, 1996).

Quantité de Figuier de Barbarie inerme (g ms/jour)						
	0	150	300	450	600	
Ingestion de ms (g/jour)						
Paille		550 ^c	574 ^{bc}	523 ^c	643 ^{ab}	716 ^a
Figuier de Barbarie + paille		550 ^e	724 ^d	823 ^c	109	1278 ^{a 3b}
Ingestion de ms (g/kg M ^{0,75} jour)						
Paille		43,6 ^b	42,2 ^{bc}	37,7 ^c	44,8 ^b	54,7 ^a
Figuier de Barbarie + paille		43,6 ^e	53,3 ^d	97,6 ^a	59,6 ^c	76,3 ^b
Digestibilité totale de la ration						
Matière sèche		0,433 ^b	0,466 ^{ab}	0,491 ^{ab}	0,514 ^a	0,534 ^a
Matière organique		0,453 ^b	0,504 ^{ab}	0,543 ^a	0,577 ^a	0,587 ^a
Protéines brutes		0,495 ^c	0,550 ^{bc}	0,537 ^{bc}	0,585 ^{ab}	0,643 ^a
Fibres brutes		0,525	0,508	0,534	0,523	0,468
Fibres au détergent neutre		0,504	0,495	0,483	0,523	0,506
Fibres au détergent acide		0,524	0,473	0,473	0,522	0,484
Ingestion de substance organique et protéines brutes (% par rapport aux besoins pour le maintien)						
Matière organique		93	123	158	193	212
Protéines brutes		52	52	64	93	111
Eau consommée (L/jour)		2,42 ^a	1,49 ^b	0,14 ^c	0,11 ^c	0,00 ^c

a,b,c,d,e les moyennes à la même ligne avec des lettres différentes sont statistiquement différentes ($P \leq 0,05$).

Tableau 13. Intégration de paille au Figuier de Barbarie inerme. (Adaptée de Nefzaoui *et al.*, 1993).

Niveau de paille	300			600		
	g/jour			g/jour		
	US*	ATS*	UTS*	US*	ATS*	UTS*
Ingestion ms (g)						
Opuntia	445	447	425	432	462	439
Paille	254	242	249	494	466	486
Digestibilité des rations (%)						
Matière organique	67,9	64,0	63,3	66,5	69,8	72,6
Protéines brutes	41,1	48,0	43,3	45,9	61,0	77,1
Fibres brutes	37,5	30,5	29,2	46,5	49,2	52,7
<u>Azote assimilé</u>	<u>-02</u>	<u>-0,2</u>	<u>-0,6</u>	<u>0,8</u>	<u>2,8</u>	<u>3,9</u>

*US: paille non traitée; ATS: paille traitée avec de l'ammoniaque; UTS: paille traitée avec de l'urée.



Normalement on ajoute aussi au mélange les fruits du Figuier de Barbarie, mais si l'on n'en dispose pas, on les remplace par de la mélasse.

Le Figuier de Barbarie, lorsqu'il est utilisé comme fourrage, peut garantir la survie des animaux pendant une longue période, lorsqu'on les élève dans les régions caractérisées par des climats arides ou semi-arides.

Comme on l'a déjà dit, les raquettes sont pauvres en protéines; ainsi, pour combler cette lacune, on l'administre avec du foin de luzerne ou des pailles de céréales. Souvent la ration est complétée avec de petites quantités de farine d'os, du sel et de la chaux, qui apportent du phosphore et du sodium (De Kock, 1983).

Après la récolte, les raquettes, peuvent être séchées et conservées de manière à être utilisés durant les périodes de grande sécheresse, quand le pâturage naturel est absent.

La meilleure façon d'obtenir un ensilage de qualité, consiste à couper les raquettes en petits morceaux et à les unir à de la paille d'avoine et à une petite quantité (rapport de 84 à 16 par rapport aux raquettes) de foin de luzerne et de mélasse (2%).

La technique la plus économique et facile pour utiliser le Figuier de Barbarie, est le broutage direct. Mais il ne faut pas oublier que cette méthode peut comporter des risques de surbroutage.

En particulier, les jeunes plantes, sont sensibles au broutage et peuvent être détruites par les animaux. Les plantes adultes aussi peuvent subir de graves dégâts en cas de broutage excessif; les rejets sont de moins en moins importants, ce qui entraîne une baisse de la production totale. La méthode la plus rationnelle pour l'utilisation d'une plantation d'*Opuntia*, consiste à la diviser en petits champs clôturés; chacun d'eux est utilisé intensément pendant quelques mois seulement par an puis laissé au repos pendant 3 ans environ. Le pâturage direct suppose un contrôle continu et attentif, tant parce que les déchets peuvent représenter 50% de la production totale, souvent les raquettes sont consommées partiellement puis abandonnée, que parce que l'implantation même peut être détruite par une utilisation excessive (Monjauze et Le Houérou, 1965; De Kock, 1980). Dans tous les cas, ce type de gestion est le plus économique et, de plus, elle présente l'avantage que les animaux au pâturage peuvent se nourrir de l'herbe qui pousse entre les arbustes cultivés.

Un type de gestion opposé à la précédente est représenté par le fait d'éviter totalement le pâturage direct et de couper les raquettes et de les distribuer aux animaux dans des mangeoires spécifiques. Dans ce cas, la perte de produit est pratiquement inexistante et le risque d'utilisation excessive est extrêmement réduite à moins que l'on ne récolte prématurément les raquettes produites par les plantes encore trop jeunes. La distribution dans les mangeoires suppose un travail intensif, mais souvent, pour certaines zones de l'Afrique du Nord, elle représente le seul moyen de gestion de la culture en raison du manque d'habitude des éleveurs à régler le pâturage (Nefzaoui et Ben Salem, 2002).

Pour faciliter les opérations d'administration du fourrage d'*Opuntia*, on recommande d'utiliser des implantations d'*O. ficus-indica* var. *inermis*, c'est à dire la variété dépourvue d'épines. En effet, si on utilise la variété épineuse, on est obligé d'enlever préalablement les épines, la méthode normalement la plus utilisée consiste à brûler les raquettes en utilisant des brûleurs à propane (Shoop *et al.*, 1977).

Au Texas et au Mexique, on brûle généralement les plantes encore sur pied, tandis qu'en Afrique du Nord, on brûle les raquettes déjà détachées de la plante puis on les coupe en morceaux, à la main ou à l'aide de machines spéciales.

Comme on l'a dit précédemment, les raquettes peuvent être efficacement utilisées comme supplément aux régimes principalement constitués par des aliments pauvres, comme le son de céréales. De plus, l'ajout du Figuier de Barbarie aux rations alimentaires principalement composées de paille, stimule remarquablement l'augmentation de l'ingestion de cette dernière (Nefzaoui *et al.*, 1993; Ben Salem *et al.*, 1996). Les raquettes représentent surtout un supplément valable aux pailles enrichies avec de l'ammoniaque ou de l'urée, puisqu'elles apportent une bonne quantité d'hydrates de carbone solubles qui facilitent l'utilisation, de la part du rumen, des sources d'azote non protéiques (Nefzaoui *et al.*, 1993). Pour les ovins de la race Barbarine, on a observé que l'ingestion volontaire de raquettes d'*Opuntia* (*ad libitum*) était plutôt élevée (450 g ms/jour) si elles sont administrées simultanément à 480 g/jour de paille traitée avec de l'ammoniaque (Nefzaoui *et al.*, 1993). Le traitement avec de l'urée ou de l'ammoniaque auquel est soumis la paille est nécessaire pour pourvoir remédier au déficit d'azote. A la place de la paille ainsi traitée, on peut ajouter au régime, en plus des raquettes, du foin d'*Atriplex nummularia* (environ 300 g ms/jour).

L'*Atriplex* représente une source de protéines valable et de plus l'azote apporté facilite la digestion, par les moutons, de la substance organique (Nefzaoui *et al.*, 1996). Des agneaux de 4 mois, élevés avec des raquettes d'*Opuntia*, à la place des grains de blé plus coûteux, ingèrent environ 10-15% de substance organique en plus et l'augmentation de poids journalière peut être supérieure de 15% par rapport à la normale (Tab. 14).

Les chèvres nourries au pâturage naturel auquel on ajoute un mélange de raquettes en morceaux (100 g ms/jour) et *Atriplex nummularia* (100 g ms/jour), ont montré une augmentation remarquable du poids corporel journalier (de 25 à 60 g/jour).

Souvent, l'*Acacia cyanophylla* Lindl. (syn. *Acacia saligna*), une espèce arbustive communément répandue dans les milieux à climat aride, est utilisée comme fourrage associé à l'*Opuntia*; en effet, l'acacia est riche en protéines brutes (environ 13% sur la ms). Des essais réalisés sur des moutons de la race Barbarine auxquels on administrait quatre types de régimes différents (Tab. 15) ont montré que l'ingestion d'acacia était basse (250 g ms/jour). Ce phénomène est probablement dû au taux élevé de tanins de l'acacia (4-7% ms) (Ben Salem *et al.*, 1998).

Etant donné que le taux de tanins limite l'ingestion d'acacia, il faut ajouter des sources d'azote supplémentaires. Le régime peut donc être enrichi avec de la paille traitée avec de l'urée ou de l'ammoniaque ou bien, comme il arrive plus souvent, avec *Atriplex nummularia*. Les régimes à base d'acacia, ajouté à *Atriplex nummularia* et aux raquettes d'*Opuntia*, à la place des grains de blé plus coûteux, ont donné d'excellents résultats (Ben Salem *et al.*, 2002).

Il est évident que des espèces fourragères non conventionnelles, peuvent représenter un avantage économique pour les Pays caractérisés par un climat aride ou semi-aride.

11. L'utilisation de l'*Opuntia* comme source d'eau pour les animaux

Le manque d'eau peut déterminer une baisse dans l'ingestion de la ration alimentaire de la part des animaux et donc provoquer une baisse dans l'augmentation du poids corporel.

Tableau 14. Effet de l'intégration avec des aliments riches en azote de rations à base de Figuier de Barbarie administrées à des moutons d'un an. (Adaptée de Nefzaoui *et al.*, 2000b).

Ration ^a	D1	D2	D3	D4
Ingestion (g ms/jour):				
<i>Opuntia</i>	241	252	241	228
<i>Atriplex halimus</i>	0	224,2	0	0
<i>Atriplex nummularia</i>	0	0	225,8	0
Farine de soja	0	0	0	57,6
Orge	308,8	243,6	243,6	243,6
Foin	149,0	142,9	147,5	150,6
Urée	8	0	0	0
Ingestion totale	706,8	862,7	857,9	679,8
Augmentation moyenne journalière (g/jour)				
	55	58	74	70

^aLes rations étaient: D1 = cactus *ad libitum* + foin 170 g + orge 355 g + urée 8g; D2 = cactus *ad libitum* + foin 170 g + orge 280 g + *Atriplex halimus* 740g; D3 = cactus *ad libitum* + foin 170 g + orge 280 g + *Atriplex nummularia* 740g; D4 = cactus *ad libitum* + foin 170 g + orge 280 g + farine de soja 65g.

Tableau 15. Valeur nutritionnelle des rations à base de raquettes de Figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*) et acacia (*Acacia cyanophylla*) pour les moutons. (Adaptée de Nefazoui *et al.*, 1996).

Ration ^a	R00	R21	R22	R23
Ingestion, g ms/jour				
<i>Opuntia</i>	0	167	246	267
<i>Acacia</i>	241	373	211	177
Digestibilité ration (%)				
Matière organique	67,7	76,5	73,9	74,6
Protéines brutes	45,8	49,4	34,8	16,9
Fibres brutes	62,8	80,5	77,4	79,9
Azote assimilé (g/jour)	2,77	2,73	0,46	-1,07
Valeur nutritionnelle ^b				
Énergie	147	151	131	116
Azote	75	67	35	10

^aDans toutes les rations, une limitée quantité de foin a été distribuée.

^bLa valeur nutritionnelle est exprimée en pourcentage des besoins pour le maintien du mouton en énergie(ingestion de substance organique digestible) et en azote (ingestion de protéines brutes digestibles).

Malheureusement, le fait de fournir au bétail la bonne quantité d'eau, dans les périodes de grande sécheresse, représente un énorme problème dans les zones arides. Les animaux consomment beaucoup d'énergies pour atteindre les points d'abreuvement et de plus, la dégradation du terrain, autour de ces points d'eau, est en train de devenir une question très sérieuse. L'alimentation du bétail avec *Opuntia* peut combler en partie le manque d'eau; en effet, comme on vient de le voir, le contenu en eau des raquettes tourne autour de 85% du poids frais. Dans le cas d'agneaux élevés avec d'abondantes quantités d'*Opuntia*, les besoins en eau sont pratiquement nuls (Cottier, 1934; Woodward *et al.*, 1951). Les moutons élevés pendant de longues périodes (de 400 à 500 jours) avec une quantité abondante de raquettes, cessent de boire. Dans le cas des ovins alimentés avec de l'acacia et de l'orge, ils ont besoin de 1,2 L d'eau par jour, mais si on ajoute des raquettes au régime, les besoins en eau descendent à 0,6 L par jour.

**MATERIEL
ET
METHODES**

Ce travail d'évaluation de la croissance de quatre origine, cultivars ou variétés a été mené dans une parcelle expérimentale dans la commune rurale de Ouelad Hassoun Hamri Provinciale d'Agriculture de Kalaa Sraghna. Il s'inscrit dans l'ouverture de université sur son environnement et il a consisté à évaluer la production en biomasse d'une manière non destructive.

Cette parcelle expérimentale (pilote) rentre dans le cadre de la promotion de la culture du cactus dans cette région à climat sec tout en protégeant les sols contre l'érosion. Ce projet est dirigé par la DPA Kalaa Sraghna.

Dans la présente étude nous nous sommes limité à la comparaison de la croissance quatre variétés d'*Opuntia ficus indica*, (Hassaouia, Aissa, Moussa et Skhour) implantées en 2000 dans cette parcelle dotée d'une superficie de 2 ha et d'une densité de plantation de 1.000 pieds/ha, réparties entre les quatre cultivars.

L'échantillonnage a consisté à dénombré le nombre de raquettes produit chaque année ainsi que leurs dimension, la longueur, la largeur et l'épaisseur.

Le choix des pieds à évaluer a été systématique en échantillonnant un pied et en sautant le suivant. Un total de 81 pieds a été retenu par variété.

L'ensemble des données ont été approchées par des analyses descriptives pour chacun des paramètres mesurés (longueur, largeur et épaisseur) et par variété.

De même, des approches statistiques approfondies telle la comparaison des moyennes par l'analyse de variance ont été effectuées. Le logiciel utilisé est l'SPSS.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les tableaux 1,2 et 3 présentent la description statistiques des dimensions des raquettes, longueur, largeur et épaisseur des quatre cultivars de Figuier de barbarie respectivement pour la première, la deuxième et la troisième année.

La longueur des raquettes de la première année varient entre 24.69 et 27.12 cm quant à la largeur et l'épaisseur des raquettes, elles varient respectivement de 14.52 à 16.09 cm et de 1.22 à 1.47 cm.

CULTIVARS	N°	NB	MOYENNE	ECART-TYPE	MINIMUM	MAXIMUM
<i>La longueur des raquettes</i>						
Issa	1,00	180	25,5278	7,2844	3,50	41,70
Haddaouia	2,00	218	24,6972	7,5388	2,20	41,00
Moussa	3,00	198	27,1237	6,6679	3,50	42,50
Skhor	4,00	280	26,6543	6,6050	4,00	46,40
<i>La largeur des raquettes</i>						
Issa	1,00	180	15,2444	3,9897	3,10	25,10
Haddaouia	2,00	218	14,5257	4,5616	3,00	25,40
Moussa	3,00	198	16,0960	3,8440	2,00	31,80
Skhor	4,00	280	15,5266	4,2034	1,15	23,30
<i>L'épaisseur des raquettes</i>						
Issa	1,00	180	1,4726	,4879	,50	3,72
Haddaouia	2,00	218	1,2855	,3865	,40	2,80
Moussa	3,00	189	1,2293	,4645	,31	4,52
Skhor	4,00	280	1,2786	,4451	,25	3,24

Tableau 1. Description statistique de la 1^{ère} génération de raquettes des quatre cultivars de figuier de barbarie

Au cours de la deuxième année les raquettes présentent grossièrement des dimensions semblables à celles de la première année à l'acceptation de l'épaisseur qui paraît faible (tableau 2). Le nombre de raquettes produites pendant cette deuxième année est plus élevé par rapport à la première année excepté pour le cultivar Skhor où la production a resté plus ou moins stable.

		N	MOYENNE	ECART-TYPE	MINIMUM	MAXIMUM
<u>La longueur des raquettes</u>						
Issa	1,00	347	26,7009	6,6174	4,00	43,00
Haddaouia	2,00	273	25,1260	6,3382	3,20	41,00
Moussa	3,00	340	26,8050	6,3081	2,50	41,70
Skhor	4,00	260	26,7304	5,4776	8,40	45,50
<u>La largeur des raquettes</u>						
Issa	1,00	347	15,4435	3,4109	4,50	24,00
Haddaouia	2,00	273	14,3275	3,4902	2,20	21,80
Moussa	3,00	340	15,7674	3,1027	5,00	23,30
Skhor	4,00	260	15,3616	3,2818	1,02	31,40
<u>L'épaisseur des raquettes</u>						
Issa	1,00	347	1,0894	,2571	,30	1,85
Haddaouia	2,00	273	,9809	,2603	,39	1,90
Moussa	3,00	340	,9194	,2280	,24	1,94
Skhor	4,00	260	,9017	,2373	,48	1,89

Tableau 2. Description statistique de la 2^{ème} génération de raquettes des quatre cultivars de figuier de barbarie.

La troisième génération de raquettes (tableau 3.) paraît de petite taille par rapport aux premières. La longueur, la largeur et l'épaisseur atteignent des maximums respectivement de 23.40, 11.94 et 0.66 cm. Il faut cependant noter que les mesures ont été effectuées au cours de l'été où les raquettes sont encore en pleine croissance.

CULTIVARS	N°	NB	MOYENNE	ECART-TYPE	MINIMUM	MAXIMUM
<u>La longueur des raquettes</u>						
Issa	1	368	23,40	7,08	2	44
Haddaouia	2	395	22,67	6,22	4	42
Moussa	3	605	23,12	6,20	3	41
Skhor	4	491	21,71	6,34	2	39
<u>La largeur des raquettes</u>						
Issa	1	368	11,949	3,240	1,5	20,7
Haddaouia	2	395	11,429	2,960	2,2	19,4
Moussa	3	605	11,754	3,881	,4	40,1
Skhor	4	491	11,097	3,017	,9	21,5
<u>L'épaisseur des raquettes</u>						
Issa	1	368	,6331	,1926	,10	1.75
Haddaouia	2	395	,6641	,1720	,24	1.60
Moussa	3	605	,5758	,1444	,22	1.68
Skhor	4	491	,6444	,1641	,08	1.72

Tableau 3. Description statistique de la 3^{ème} génération de raquettes des quatre cultivars de figuier de barbarie

En terme de production où de biomasse nous constatons que le nombre de raquettes produites par an augmente d'une année à une autre. La figure 1. Ci-dessous montre que les trois cultivars Haddaouia, Moussa et Skhor, ont produit un nombre élevé de raquettes au cours de la troisième année. Sachant que le nombre d'individu de Figuier examiné par cultivars est de 81, la moyenne de production par individu est de 3.30, 4.87, 7.47 et 6.06 respectivement pour Issa, Haddaouia, Moussa et Skhor.

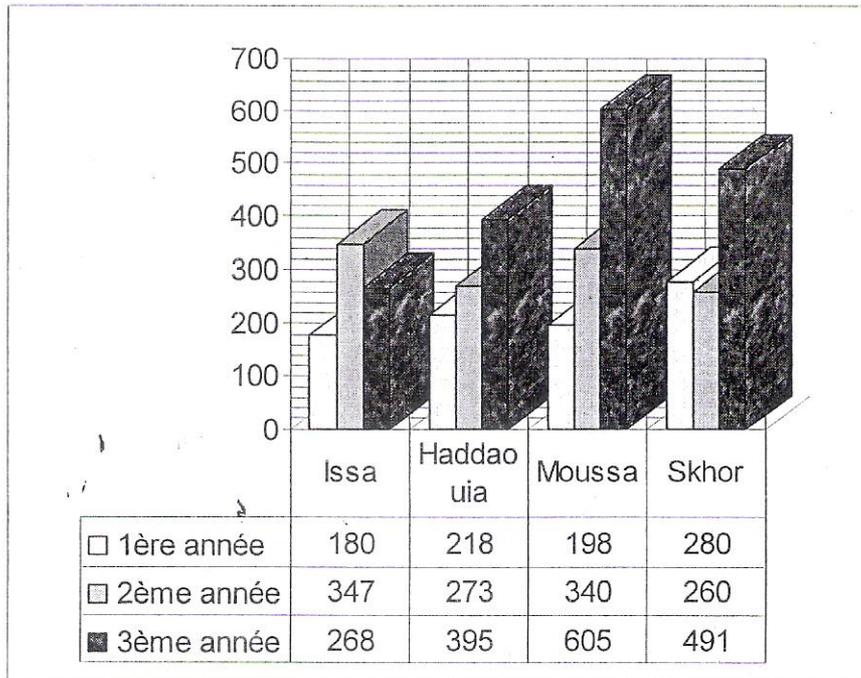


Figure 1. Evolution du nombre de raquettes produites au cours des trois générations par les trois cultivars de Figuier de barbarie.

L'ensemble de ces résultats fournissent une idée sur les quatre cultivars vis-à-vis des dimensions des raquettes et du nombre de raquettes produites.

Toutefois, ces valeurs restent moyennes et ne permettent pas de donner une idée sur les variations au sein de chacun des cultivars. Les figures 2, 3, 4, 5 et 6 ci-dessous permettent d'examiner visuellement la variation intra et entre cultivars.

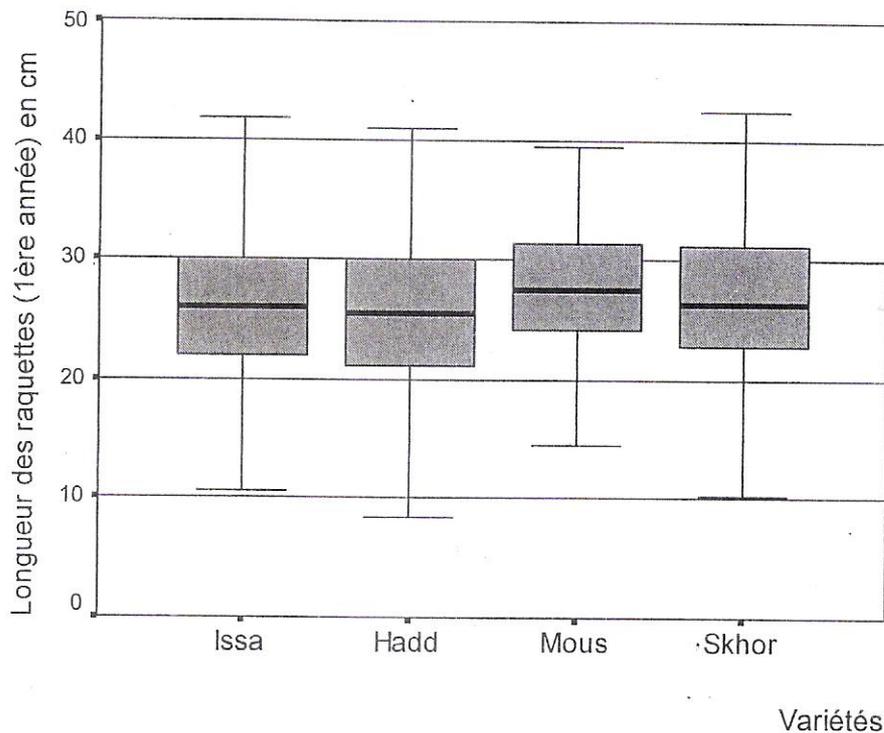


Figure 2. Variation inter et intra cultivars de la longueur des raquettes de la première génération.

Entre cultivars ou variétés vis-à-vis de la longueur des raquettes de la première année (Figure 2.) on constate qu'il y a une certaine différence de moyennes. Toutefois, la longueur des raquettes du cultivar Moussa paraît plus homogène et d'une moyenne élevée que les autres.

La figure 3. Présente les variations de la longueur des raquettes de la deuxième année. Elle nous permet de constater qu'il y a une légère différence entre les moyennes des cultivars et que le cultivar le plus homogène est Skhor.

Les longueurs des raquettes de la troisième génération (Figure 4.) paraissent visuellement très semblables de point de vue comparaison des moyennes et homogénéité intra-cultivars.



Figure 3. Variation inter et intra cultivars de la longueur des raquettes de la deuxième génération.

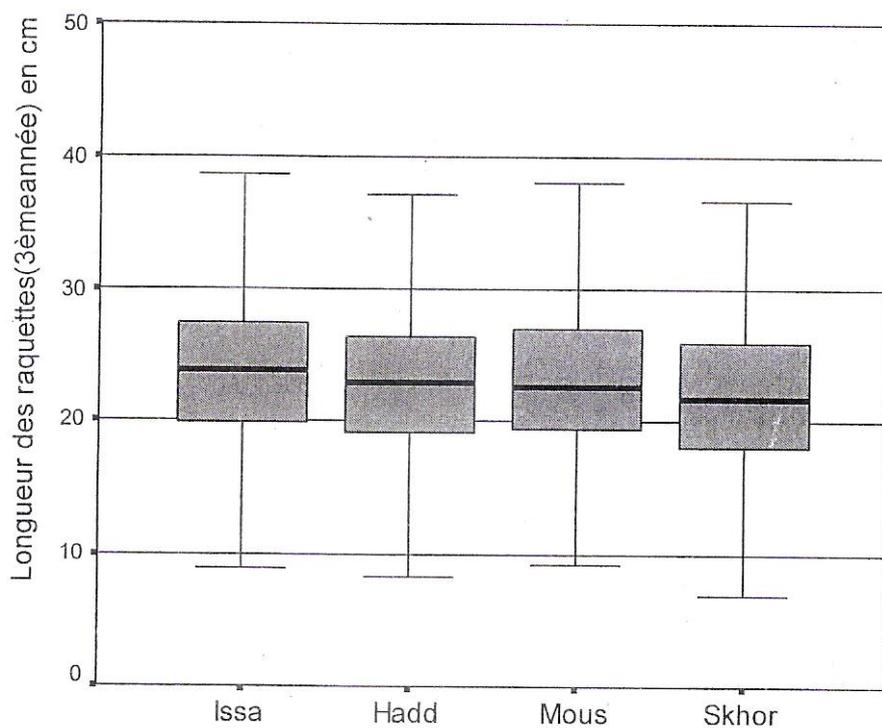


Figure 4. Variation inter et intra cultivars de la longueur des raquettes de la troisième génération.

La largeur des raquettes de la première génération (Figure 5) se présente grossièrement comme la longueur de la même génération. En effet, la variété Moussa est assez homogène et présente une moyenne assez élevée par rapport aux autres. Les raquettes de cette variété sont donc assez longues et assez larges.

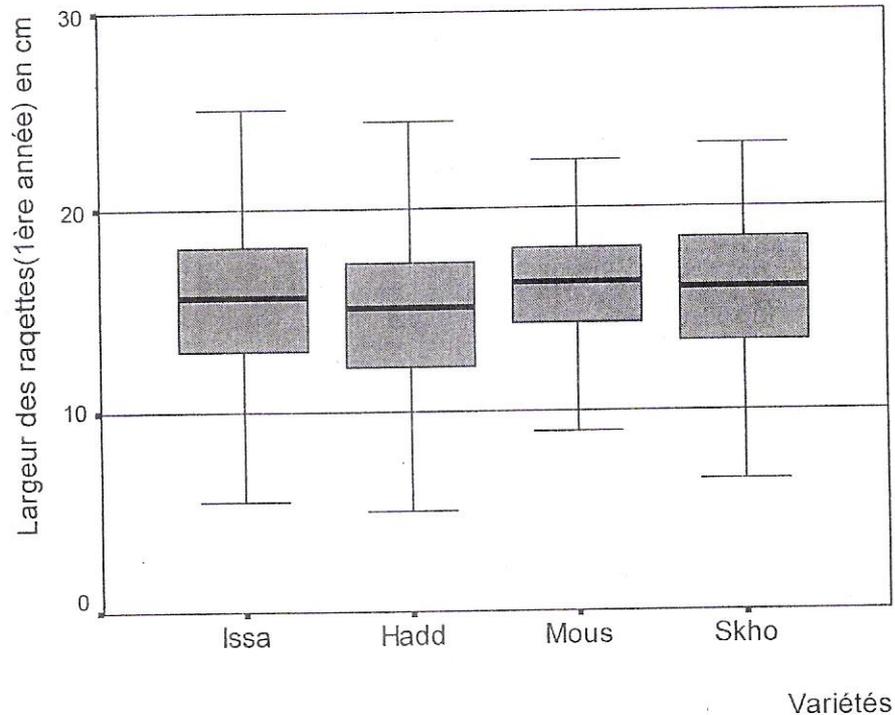


Figure 5. Variation inter et intra cultivars de la largeur des raquettes de la première génération.

Les variations de la deuxième et la troisième génération sont présentés dans les figures 6 et 7 respectivement. Elles montrent que la variété Moussa conserve sa grande moyenne au cours de la deuxième génération ce qui n'est pas bien visible au cours de la troisième génération alors que de point de vu homogénéité, il y a une certaine ressemblance entre les quatre variétés.

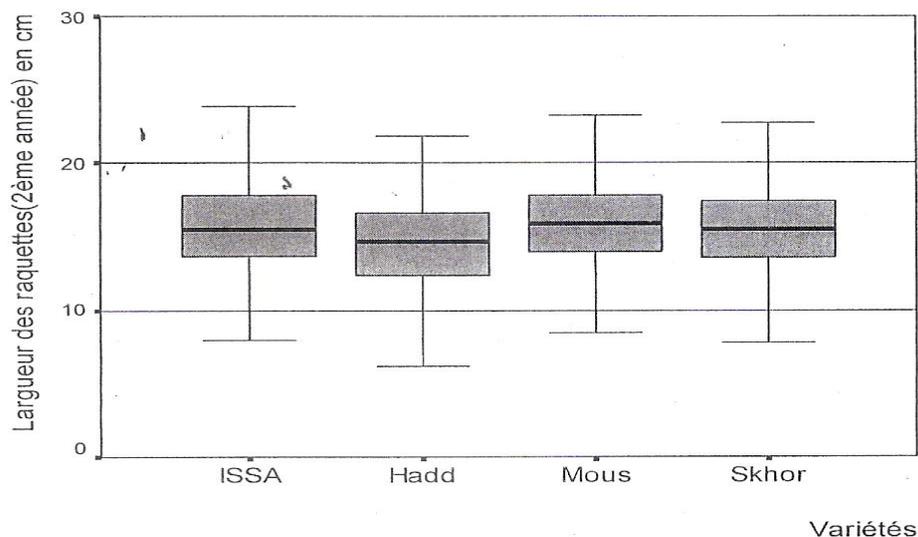


Figure 6. Variation inter et intra cultivars de la largeur des raquettes de la deuxième génération.

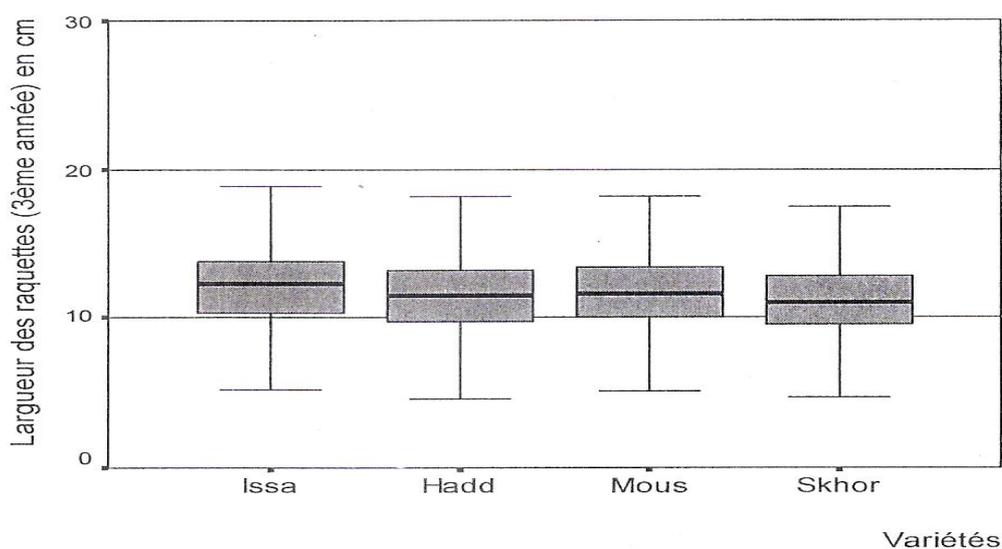


Figure 7. Variation inter et intra cultivars de la largeur des raquettes de la troisième génération.

Les moyennes de l'ensemble des paramètres mesurés au cours des trois générations ont été comparées à l'aide d'analyses de variances. Les tableaux 4, 5 et 6 ci-dessous présentent les résultats de ces analyses.

	Sources de variation	Somme des carrés	ddl	F	Signification
Longueur des raquettes de la première génération	Inter-groupes	778,480	3	5,292	,001
	Intra-groupes	42761,353	872		
	Total	43539,832	875		
Largeur des raquettes de la première génération	Inter-groupes	268,977	3	5,142	,002
	Intra-groupes	15169,781	870		
	Total	15438,758	873		
Épaisseur des raquettes de la première génération	Inter-groupes	6,376	3	10,707	,000
	Intra-groupes	165,962	836		
	Total	172,339	839		

Tableau. Comparaison des moyennes de la longueur, la largeur et l'épaisseur des raquettes de la première génération à l'aide de l'ANOVA.

	Sources de variation	Somme des carrés	ddl	F	Signification
Longueur des raquettes de la deuxième génération	Inter-groupes	558,332	3	4,781	,003
	Intra-groupes	47339,347	1216		
	Total	47897,679	1219		
Largeur des raquettes de la deuxième génération	Inter-groupes	339,209	3	10,267	,000
	Intra-groupes	13380,105	1215		
	Total	13719,314	1218		
Épaisseur des raquettes de la deuxième génération	Inter-groupes	6,853	3	37,756	,000
	Intra-groupes	71,211	1177		
	Total	78,064	1180		

Tableau. Comparaison des moyennes de la longueur, la largeur et l'épaisseur des raquettes de la deuxième génération à l'aide de l'ANOVA.

	Sources de variation	Somme des carrés	ddl	F	Signification
Longueur des raquettes de la troisième génération	Inter-groupes	764,692	3	6,176	,000
	Intra-groupes	76563,902	1855		
	Total	77328,594	1858		
Largeur des raquettes de la troisième génération	Inter-groupes	188,053	3	5,567	,001
	Intra-groupes	20750,550	1843		
	Total	20938,603	1846		
Épaisseur des raquettes de la troisième génération	Inter-groupes	2,130	3	25,694	,000
	Intra-groupes	48,696	1762		
	Total	50,826	1765		

Tableau. Comparaison des moyennes de la longueur, la largeur et l'épaisseur des raquettes de la deuxième génération à l'aide de l'ANOVA.

Il montrent que pour l'ensemble des paramètres mesurés, il y a une différence significative entre les cultivars ou variétés. Cependant, la variation intra variété est beaucoup plus grande que la variation inter variétés et ce pour tous les paramètres mesurés.

A première analyse, l'ensemble des résultats nous montrent que les quatre variétés végètent de façon normalement bien que certaines d'entre elles sont originaires d'autres localités où les conditions climatiques sont différentes.

Ceci étant valable pour les variétés Haddaoui originaire d'une zone à climat océanique et Moussa originaires du Sud où le climat est moins océanique et plus aride. Celle de Skhor dont l'origine n'est pas loin de point de vue climatique de la zone de plantation donne également des résultats satisfaisants.

Contrairement à la variété Issa originaire d'une zone également aride et moins océanique, présente des résultats moyens surtout au cours de la troisième génération.

Puisque les quatre variétés ont été plantées en même temps et prospèrent sous les mêmes conditions climatiques et édaphiques, les différences qu'ils présentent de point de vue croissance (nombre de raquettes ou biomasse) et de point de vue dimension des raquettes ne sont originaires que des qualités intrinsèques des variétés. Sachant que les deux variétés Issa et Moussa sont des variétés tardives par rapport aux autres, ce qui signifie un cycle écophysio-logie différent ainsi que le fait de bien végéter sous des conditions écologiques différentes leur confère un pouvoir d'adaptation élevé surtout pour la variété Moussa. La variété Issa par contre présente une légère diminution au cours de la troisième génération. Ces différences qui se sont manifestées sur le plan agronomique ne peuvent être que d'ordre génétique, le pouvoir d'adaptabilité des trois variétés étrangères Haddaoui, Issa et Moussa suggèrent une différenciation génétique intra-spécifique. Toutefois, un complément d'analyse incluant l'évaluation du fruit étant nécessaire.

Les travaux de ce genre très proche des essais de provenances assez utilisés surtout en matière d'arbres forestiers est très rare au niveau du Figuier de barbarie. Cette station expérimentale étant certainement la première installée au Maroc. L'intérêt de telle expérience débouche sur des résultats d'une grande importance, sur le plan de conservation de la biodiversité, sur le plan d'aménagement des zones arides, sur le plan de développement et finalement sur le plan d'évaluation des performances des différentes variétés sous d'autres conditions écologiques. Elle peut être également une plate-forme pour l'amélioration génétique du Figuier de Barbarie.

Les résultats acquis à ce stade ne peuvent qu'être encourageants de la culture du Figuier de barbarie, bien que la production en fruit n'a pas encore été évaluée, l'apport des raquettes à l'alimentation animale et les autres intérêts que présente cette expérience sont d'une importance considérable.

Les résultats bien qu'encore préliminaires peuvent être d'une grande application dans toute la région de Kalaa Sraghna et les régions avoisinantes. Les variétés performantes en biomasse et en production de fruit doivent être diffusées auprès des populations ce qui constitue un outil scientifique de gestion rationnelle de la biodiversité de cette ressource.

CONCLUSION

L'introduction de Figuier de Barbarie dans la zone de Kalaa Sraghna dans un but de culture intensive étant une action de développement d'un intérêt considérable surtout que de vastes surfaces constituent des terres potentielles de sa culture. La prise en considération de plusieurs variétés ou cultivars dans cette introduction constituera un meilleur outil de gestion de l'espace et de la biodiversité de cette espèce. La durée de production de fruit sera étalée sur plusieurs mois ce qui représente un apport financier aux populations. Cette expérience a montré que les variétés autres que locales ou régional sont tolérantes au climat et voir même concurrentes aux variétés locales. Ceci est bien visible pour la variété Moussa et Haddaouia en considérant que la variété Skhor et originaire d'un climat semblable de celui de Kalaa Sraghna.

Toutefois, une évaluation supplémentaire est nécessaire et doit inclure aussi bien les raquettes que le fruit d'une part. D'autre part, des études de diversité génétiques seront d'une grande importance et le point de départ d'une éventuelle amélioration génétique au sein de l'espèce. Dans le même sens, l'introduction d'autres variétés voir même une collection à l'échelle nationale peut être un point de départ pour une production industrielle dans la région de Kalaa Sraghna.

PARTIE III
L' Atriplex

1. Origine et Diffusion

Le genre *Atriplex* est le plus grand et le plus diversifié de la famille des *Chenopodiaceae* et compte environ 200 espèces réparties dans les régions tempérées et sub-tropicales; on trouve également des exemplaires de ce genre dans les régions polaires, bien qu'en nombre très réduit. Généralement, il est associé aux sols salins ou alcalins et aux milieux arides, désertiques ou semi-désertiques (Rosas, 1989; Par-Smith, 1982).

Il comprend surtout des plantes herbacées vivaces et, plus rarement, des arbres et des arbustes. Les espèces appartenant à cette famille sont halophytes. Elles sont donc en mesure de vivre sur des sols au taux élevé de sels inorganiques. Souvent, il s'agit de composants dominants des marécages salés et, vu que les sols salins sont typiques des milieux arides, de nombreuses espèces présentent également des adaptations xérophytiques.

Les *Chenopodiaceae* sont largement répandues dans les habitats salins tempérés et sub-tropicaux, en particulier dans les régions littorales de la Mer Méditerranéenne, de la Mer Caspienne et de la Mer Rouge, dans les steppes arides de l'Asie centrale et orientale, aux marges du désert du Sahara, dans les prairies alcalines des Etats-Unis, dans le Karoo en Afrique méridionale, en Australie, et dans les Pampas argentines. Elles poussent également comme des herbacées sur les sols riches en sel des zones habitées, surtout en présence d'écoulements d'eau et de terrains accidentés.

2. Taxonomie, botanique et physiologie

Du point de vue morphologique, les *Chenopodiaceae* sont caractérisées par des racines profondes et pénétrantes, destinées à absorber la plus grande quantité d'eau possible, et des feuilles alternées, petites et farineuses ou recouvertes de poils, lobées, parfois épineuses, formées de manière à réduire les pertes en eau dues à la transpiration.

Certains genres ont des tiges pulpeuses, à courts segments internodaux et sont entièrement dépourvues de feuilles, ce qui donne aux plantes un aspect singulier semblable à celui d'un cactus. Les fleurs, peu visibles et regroupées en inflorescences en épi ou à cyme, sont petites, hermaphrodites ou unisexuelles et sont pollinisées par le vent. Les pétales et les sépales, très semblables, sont généralement constitués par cinq, trois ou deux lobes de couleur marron ou verdâtre. Généralement, les anthères, en nombre égal ou à peine inférieur à celui des segments du périanthe, sont disposées au sommet de l'ovaire ou sur un disque. L'ovaire est constitué par une

seule loge, trois carpelles et deux étamines; il produit un seul ovule qui en mûrissant produit un akène (Rosas, 1989). A cette famille appartiennent environ cent genres qui peuvent être divisés, suivant la forme de l'embryon, en deux tribus:

- *Spirolobae*, qui présentent un embryon enroulé en spirale et l'endosperme est divisé en deux parties par l'embryon;
- *Cyclobae*, qui présentent un embryon en forme de fer à cheval ou en demi-cercle comprenant l'endosperme en entier ou en partie.

A cette dernière tribu appartient le genre *Atriplex* (Rosas, 1989). Celui-ci compte plus de quatre cent espèces réparties dans les différentes régions arides et semi-arides du monde; il est particulièrement répandu en Australie où on peut déterminer une grande diversité d'espèces et de sous-espèces.

La fleur, dont la morphologie est souvent utile pour l'identification, est enveloppée par deux bractéoles, d'une consistance généralement foliacée, qui permettent de distinguer les espèces en fonction de leur forme et si elles se présentent ou non soudées les unes aux autres. Les espèces du genre *Atriplex* sont caractérisées par le haut degré de tolérance à l'aridité et à la salinité; et pour procurer des fourrages riches en protéines et en carotène. Par ailleurs, elles ont la propriété de produire une abondante biomasse foliaire et de la maintenir active durant les périodes défavorables de l'année.

Le genre *Atriplex* appartient au groupe des plantes en mesure de fixer le CO₂ par biosynthèse C₄. De nombreuses recherches ont démontré que ce type de plantes est caractérisé par une grande productivité, la résistance au déficit hydrique, la capacité particulière d'utiliser l'énergie lumineuse et le fait qu'elles exigent du sodium comme élément essentiel de leur métabolisme. Pratiquement toutes les espèces appartenant au genre *Atriplex* sont dioïques, il existe cependant des arbustes monoïques.

Dans le cas d'*Atriplex deserticola*, les premières à éclore sont d'abord les fleurs mâles; la plante prend ainsi un couleur jaune caractéristique; les fleurs femelles éclosent dans un second temps (Rosas, 1989).

À l'intérieur du genre l'*habitus* varie beaucoup, qu'il s'agisse d'espèces annuelles herbacées ou d'arbustes ligneux qui peuvent atteindre 3 m de hauteur.

Les feuilles sont alternées, pétiolées ou sessiles, de la même consistance que le papyrus. Les espèces adaptées aux milieux désertiques présentent des feuilles plus épaisses, pratiquement cartilagineuses, recouvertes d'une épais duvet et de cristaux de sels qui peuvent former un pseudo-tissu qui entoure la limbe foliaire des deux côtés. Les entre-nœuds sont souvent allongés, même si dans certains cas ils sont réduits au point de laisser les feuilles regroupées.

Les formes des feuilles sont multiples: par exemple triangulaires de grandes dimensions, jusqu'à 6 cm de longueur, ovoïdales avec un apex aigu, ovoïdales avec un apex obtus, elliptiques d'une consistance herbacée, adaptées aux milieux de haute montagne.

L'anatomie foliaire est de type Kranz, c'est à dire qu'elle présente une gaine de cellules chlorenquimatiques de grandes dimensions qui entourent les tissus vasculaires. L'anatomie Kranz est associée au métabolisme à haute efficacité photosynthétique, qui prend le nom de C₄ (Raven *et al.*, 1992). Dans le métabolisme C₄, l'anhydride carbonique se lie au pyruvate pour former l'acide oxalo-acétique, composé à quatre atomes de carbone, d'où le nom du cycle métabolique. Ce mécanisme se vérifie dans le mésophylle, où cette composition est transformée en acide malique; ensuite, une fois que les grandes cellules qui composent la gaine qui entoure les vaisseaux vasculaires sont atteintes, il est décarboxylé et l'anhydride carbonique libérée entre dans le cycle de Calvin, tandis que le pyruvate revient dans le mésophylle où commence un nouveau cycle (Taiz et Zeiger, 1991).

Les fleurs sont monoïques solitaires ou en glomérules, disposées au niveau de l'aisselle foliaire, mais aussi en épis terminaux. Les fleurs mâles sont dépourvues de bractéoles, avec un périanthe en 3-5 parties. Les fleurs femelles sont protégées par deux bractéoles séparées ou à condescence au moins à la base, durs ou cartilagineux. Le périanthe est absent ou rarement présent.

Le fruit est contenu dans les bractées, le péricarpe est membraneux et normalement séparé des graines. La graine est droite, rarement horizontale, le péricarpe est farineux, le radicule se trouve en position basale, latérale ou apicale (Rosas, 1989).

3. Techniques culturales pour le genre *Atriplex*

3.1. Choix de l'espèce

Le choix de l'espèce la mieux adaptée à la culture est très importante et la décision doit tenir compte de nombreux facteurs. L'évolution thermo-pluviométrique, le type de terrain, la disponibilité en eau d'irrigation, la finalité productive. La capacité productive varie d'ailleurs d'une espèce à l'autre.

Les nombreuses recherches effectuées sur le continent australien, dont proviennent de nombreuses espèces du genre *Atriplex*, servent principalement à affronter le phénomène de la salinisation des sols (Malcom, 2000). Cependant, ces expériences ont été très utiles pour améliorer la connaissance de ces ressources génétiques, pour la mise au point de la technique culturale et d'une meilleure technique de gestion des implantations (Malcom *et al.*, 1988).

Parmi les espèces les plus utilisées en Afrique septentrionale, citons l'*Atriplex nummularia* et *A. halimus*. Les deux espèces ont également fait l'objet de recherches spécifiques dans les milieux semi-arides de l'Europe méridionale (Papanastasis, 2000). Dans le Sud de l'Espagne, en particulier, on a enregistré des productions de biomasse comestible égales à 430-500 g/plante pour l'*A. halimus*, bien qu'on ait observé les limitations connues de la valeur nutritionnelle de cette biomasse sous l'effet de la présence considérable d'azote non protéique (Correal *et al.*, 1990a). *A. halimus* a mieux répondu à l'utilisation par rapport à *A. nummularia* (Aouissat *et al.*, 1993).

On a également obtenu des données à partir de recherches pour la lutte contre la désertification effectuées en Afrique Australe, où *Atriplex nummularia* et *A. halimus* ont fourni les meilleurs résultats par rapport à de nombreuses espèces arbustives testées; *A. undulata* et *A. breweri* ont elles aussi suscité un grand intérêt (Van Heerden *et al.*, 2000a; 2000b).

A. nummularia

Elle est l'espèce la plus largement répandue du genre *Atriplex*, originaire d'Australie et on l'a subdivisée en trois sous-espèces (Par-Smith, 1982):

- subsp. *nummularia*;
- subsp. *omissa* Par-Smith;
- subsp. *spathulata* Par-Smith;

Les trois espèces sont octoploïdes ($2n = 72$). La subsp. *nummularia* est la plus commune et provient des territoires du Sud de l'Australie, du New South Wales, de Victoria et du Queensland. La subsp. *omissa* est la plus rare, tandis que la subsp. *spathulata* est assez rare dans l'ouest de l'Australie. Les plantations d'*A. nummularia* sont très répandues depuis environ 75 ans en Afrique du Sud et depuis environ 40 ans en Afrique du Nord (Francllet et Le Houérou, 1971; Le Houérou, 1994).

On reporte ci-après quelques détails sur les caractéristiques d'*A. nummularia*:

- c'est une espèce dioïque à l'*habitus* broussailleux qui peut atteindre 1,30 m de hauteur;
- elle possède un potentiel productif élevé, si elle est irriguée et elle peut fournir plus de 30 t de ms/ha par an, avec une salinité mesurable en EC de 15-20 mS/cm (Le Houérou, 1994);
- l'efficacité d'utilisation de l'eau est très élevée, environ 15-20 kg de ms/ha par an par mm de pluie (Le Houérou, 1992a; 1994);
- la *drought tolerance* est assez élevée: on peut l'utiliser dans les milieux où la pluviosité moyenne annuelle est inférieure à 200 mm;
- la tolérance à la salinité est assez bonne;
- elle supporte la submersion pendant de longues périodes; en Afrique du Nord, on a observé qu'elle peut survivre à des périodes d'inondation supérieures à trois mois;
- la repousse après le broutage est rapide et très abondante, également grâce à la caractéristique de cette espèce qui est en mesure de produire des bourgeons épécormiques (tant dolicoblastes que brachyblastes en fonction de la saison);
- les racines peuvent s'enfoncer dans le sol jusqu'à 10 m, de manière à pouvoir exploiter les nappes d'eau superficielles;
- la limite la plus consistante dans l'utilisation de l'espèce est sa faible résistance au surbroutage.

Après une défoliation totale, il faut à la plante 8 à 10 mois de repos, avant qu'elle ne se reprenne. D'un autre côté, si on ne l'utilise pas pour le pâturage, cette espèce peut vivre au maximum 12 à 15 ans. Des coupes de rajeunissement à environ 20-40 cm tous les 5 ans sont nécessaires.

Différentes recherches ont défini les potentiels de production d'*A. nummularia* vu la

variabilité du germoplasme utilisé (Acherkouk, 2000) et les techniques de culture en bandes (El Mzouri *et al.*, 2000).

Atriplex halimus

C'est l'espèce la plus répandue après l'*A. nummularia*. En Syrie, en Jordanie, en Egypte, en Arabie Saoudite, en Libye et en Tunisie, on compte plus de 80.000 ha cultivés avec *A. halimus*.

Il existe deux sous-espèces, subsp. *halimus* et subsp. *schweinfurhii*. La zone de diffusion de la subsp. *halimus* s'étend des zones semi-arides aux zones humides; elle est très commune le long des côtes du Bassin Méditerranéen. Elle s'étend du Maroc à la Manche, jusqu'à la Mer du Nord. Elle est facilement identifiable grâce à son *habitus* droit caractéristique et aux branches fructifères très courtes (20 cm) et recouvertes de feuilles. En revanche, la subsp. *schweinfurhii* présente un *habitus* broussailleux avec des branches très enchevêtrées; les branches fructifères ont une longueur d'environ 50 cm et sont dépourvues de feuilles. La subsp. *schweinfurhii* est très répandue dans les zones arides et désertiques, mais on la trouve uniquement le long des dépressions en présence de nappes phréatiques. Les populations des deux sous-espèces présentent une grande variabilité en particulier pour ce qui concerne le rapport entre les feuilles et les parties ligneuses, l'appétibilité et l'*habitus*. Mais malheureusement la pression due au broutage entraîne la réduction de la variabilité existant à l'intérieur des deux sous-espèces. Heureusement, certains croisements favorables assurent, pour chaque nouvelle génération, la survie d'individus qui présentent une grande appétibilité.

L'*Atriplex halimus* subsp. *schweinfurhii* peut tolérer une salinité proche de la salinité marine, EC 55 mS/cm (Zid, 1970). On obtient une productivité supérieure, environ 15-20 t/ha an, dans des conditions de concentration saline non supérieure à 300 mMo/L NaCl-equivalents. On a étudié certaines populations en mesure de survivre pendant de courtes périodes, dans des conditions de salinité supérieures à celles de la mer, jusqu'à EC 60 mS/cm (Francllet et Le Houérou 1971; Malcom et Pol, 1986; Le Houérou, 1986; 1993). Quoi qu'il en soit, l'*Atriplex halimus* est en mesure de pousser et de bien produire si le terrain n'est pas salin La valence nutritionnelle et la possibilité d'utiliser cette espèce a été largement étudiée dans les milieux arides du Sud de l'Europe (Delgado et Muñoz, 2000; Muñoz *et al.*, 2000), ainsi que dans ceux de la Tunisie méridionale (Khorchani *et al.*, 2000) et du Moyen-Orient (Hamadeh *et al.*, 2000).

Cette espèce est également importante quant à la production de biomasse ligneuse dans des conditions ambiantes extrêmes comme celles du Maroc méridional (Benchaabane, 2000).

4. Technique de propagation et plantation

Malgré la possibilité de diffuser par multiplication asexuée les principales espèces arbustives du genre *Atriplex*, la technique de multiplication la plus répandue est celle qui utilise les graines, avec la gestion des plants en pépinière (Fig. 8, 9 et 10). De nombreuses recherches ont été effectuées pour améliorer la germinabilité et la géabilité des graines (Lailhacar et Laude, 1975; Von Holdt, 2000). Sur *Atriplex canescens*, par exemple, on a effectué un travail d'hybridation spécifique précisément pour améliorer, entre autres les caractères liés à la germinabilité des graines (Soliman et Barrow, 2000).

Les distances de plantation sont liées à la productivité moyenne par plante, qui tend généralement à diminuer en présence de densités plus élevées, en passant de 2.500 à 10.000 plantes par hectare (Van Heerden *et al.*, 2000b).

5. Irrigation

Le genre *Atriplex* est en mesure de pousser et de se reproduire dans des conditions de pluviosité comprises entre 100 et 400 mm de pluie par an, produisant 1.000-3.000 kg de ms/ha an (Sankary, 1986).

De nombreux travaux ont montré que l'*Atriplex* est une espèce utilisant l'eau avec une grande efficacité. En effet, pour *Atriplex nummularia*, *A. halimus*, *A. canescens*, on a obtenu des valeurs de production égales à 10-20 kg de ms/ha par mm/an de pluie (Forti, 1971; Correal *et al.*, 1990b).



Figure 8. Production abondante de graines sur une plante d'*Atriplex nummularia*.



Figure 9. Détail de plants d'*Atriplex nummularia*.



Figure 10. Plants d'*Atriplex nummularia* en pots prêts pour la transplantation.

Malgré la grande efficacité dans l'utilisation de l'eau (Silva et Lailhacar, 2000a; 2000b; 2000c), on a observé que quand les plantations d'*Atriplex* se trouvent dans des zones où la pluviosité moyenne annuelle est d'environ 200-300 mm, il est opportun d'intervenir avec des irrigations qui apportent à la culture au moins 200-250 mm d'eau/an (Le Houérou, 1992a).

En Australie Occidentale, des cultures d'*Atriplex* ssp. recevant une irrigation égale à environ 500 mm/an ont produit plus de 5 t de ms/an (Malcom et Pol, 1986).

Une expérience réalisée en Arabie Saoudite sur six espèces d'*Atriplex*, irriguées par l'intermédiaire d'une center-pivot, qui fournissait environ 420 mm/an, a montré comment les six espèces d'*Atriplex*, au cours de la première année ont produit en moyenne 3.290 kg/ha, atteignant 6.579 kg/ha la quatrième année d'implantation. L'efficacité dans l'utilisation de l'eau, mesurée comme quantité de biomasse produite par la partie aérienne de la plante, au cours de la première année, a été de 7,8 kg de ms/ha par millimètre d'eau d'irrigation administrée, tandis qu'au cours de la quatrième année d'implantation, les valeurs enregistrées ont été de 15,7 kg de ms/ha (Mirreh *et al.*, 2000).

On a observé des valeurs d'efficacité dans l'utilisation de l'eau égales à 5-10 kg de ms/ha par mm par an, pour certaines espèces d'*Atriplex*, comme *A. nummularia*, *A. halimus* subsp. *halimus*, *schweinfurthii* et *A. canescens* subsp. *liners*, qui recevaient une irrigation de 100-400 mm eau/an, avec des productions d'environ 2.000-4.000 kg de ms/ha par an. Ces arbustes fourragers ont une efficacité dans l'utilisation de l'eau si élevée qu'elles sont en mesure de produire, par unité d'eau utilisée, une quantité de matière sèche double par rapport au blé et à l'orge et 4-5 fois plus par rapport aux cultures de luzerne (Le Houérou, 1992a).

6. Valeur nutritionnelle et utilisation zootechnique

Le genre *Atriplex* se développe et pousse de préférence dans les zones arides et semi-arides de la Planète. On compte désormais des plantations à une large échelle en Afrique du Nord et en Iran, tandis que des cultures de dimensions plus modestes sont en voie de développement en Israël, en Jordanie, en Syrie, en Afrique du Sud, au Mexique, en Australie et aux Etats-Unis. L'espèce la plus communément utilisée en Afrique du Nord est l'*Atriplex nummularia*, tandis qu'en Iran on trouve plutôt l'*A. canescens*, car elle résiste davantage au froid. A côté des espèces précédentes, on a introduit des espèces comme *A. halimus*, *A. lentiformis*, *A. glauca* et *A. leuoclada*, grâce au leur potentiel d'utilisation en tant que fourrage.

Ces arbustes fourragers ont été introduits tant avec l'objectif de combler le déficit alimentaire du bétail que pour améliorer le contenu protéique du régime, ainsi qu'en raison de leur grande adaptation aux sols salins et de leur grande efficacité dans l'utilisation de l'eau (WUE) principalement liée au métabolisme de type C4. L'augmentation de la production fourragère dans les zones à forte intensité de charge, représente la principale stratégie pour la réduction du risque d'érosion lié aux conditions de dégradation dues au surbroutage.

Des études spécifiques ont démontré la grande capacité des espèces du genre *Atriplex* d'absorber l'azote du substrat et en partie de profiter de l'action bénéfique d'organismes fixateurs d'azote (Ismaili *et al.*, 2000)

Le Tableau 7 fournit les valeurs des principaux paramètres relatifs à la composition du fourrage (feuilles) de certaines espèces d'*Atriplex* au cours de la sixième année.

Parmi les différentes espèces citées, l'*A. canescens* est caractérisée par les plus faibles valeurs de protéines digestibles et d'azote total digestible; par conséquent les valeurs d'énergie digestible et d'énergie métabolisable par kg de matière sèche sont pénalisées tandis que les valeurs nutritionnelles relatives à *A. lentiformis* et *nummularia* sont plus favorables.

Le foin de luzerne et les feuilles d'*Atriplex* présentent les valeurs les plus élevées, le fourrage d'*Acacia* est intermédiaire et la paille de blé possède des valeurs plus basses. Par ailleurs, le foin de luzerne et le fourrage d'*Atriplex* semblent être la source d'azote la plus efficace pour les micro-organismes du rumen (Silva et Pereira, 1976).

Les nombreuses recherches réalisées ont démontré la grande valeur nutritionnelle du fourrage d'*A. nummularia* (Tabl. 8), surtout caractérisée par un contenu protéique comparable à celui du foin de luzerne. En raison de son taux énergétique limité, comme le signalent certains Auteurs qui ont démontré une baisse de poids progressive chez les animaux exclusivement nourris avec *Atriplex*.

Tableau 7. Composition du fourrage (feuilles) de certaines espèces d'*Atriplex* à la sixième année. (Adaptée de Mirreh *et al.*, 2000).

Espèces	Protéines brutes	Protéines digestibles	Azote digestible	Énergie digestible	Énergie métabolisable
	(% ms)	(% ms)	(% N)	(Mcal kg ⁻¹)	(Mcal kg ⁻¹)
<i>A. lentiformis</i>	23,4	17,1	53,4	2,35	1,92
<i>A. canescens</i>	11,1	6,3	47,1	2,07	1,70
<i>A. halimus</i>	20,5	14,5	49,7	2,19	1,79
<i>A. leucoclada</i>	16,7	11,1	49,9	2,20	1,80
<i>A. nummularia</i>	18,2	12,5	52,9	2,33	1,91

Tableau 8. Composition chimique et digestibilité *in vitro* d'*A. nummularia* et d'autres fourrages. (Adaptée de Chiriyaa et Boulanouar, 2000).

	Paille de blé	Foin de luzerne	<i>Atriplex nummularia</i>	<i>Acacia cyanophylla</i>
	feuilles	feuilles		
Protéines brutes (g/kg)		52	136	109
Cendres (g/kg)		85	106	129
Fibres au détergent neutre (g/kg)		703	466	342
Fibres au détergent acide (g/kg)		421	307	209
Lignine au détergent acide (g/kg)		69	92	132
IVDMD (g/kg) ^a 488			447	586
Tanins		-	0,13	0,07
Azote totale (% de la ms)		0,83	2,18	2,19
ADIN (% N) ^b 11,54			9,99	3,52

^aIVDMD = *in vitro* dry matter disappearance

^bADIN (% N) = acid detergent insoluble nitrogen

Le fourrage d'*Atriplex nummularia* est idéal pour l'intégration protéique de régimes basés sur l'utilisation de pailles et de fourrages grossiers.

Différents travaux rapportent que pour ce qui concerne *Atriplex* spp. la portion de azote digestible est égale à 65%, mais que seuls 55% de celle-ci est retenue et utilisée (Yaron *et al.*, 1985; Benjamin *et al.*, 1986). Le Houérou (1991) soutient qu'au moins 45% de la fraction de N digestible éliminé est de l'azote non protéique. Environ 50% de celui-ci est représenté par les glycin-betaines, qui peuvent être dégradées par la microflore du rumen uniquement en présence d'une énergie suffisante pour le développement des micro-organismes et lorsque les animaux sont habitués à un régime riche en sels.

Des études réalisées sur de petits ruminants, exclusivement élevés avec du fourrage d'*Atriplex* spp., ont souligné un bilan négatif de l'azote. L'explication principale fournie pour justifier ce phénomène est l'absence d'hydrates de carbone disponibles dans le régime et dans l'hydrolyse rapide des protéines brutes dans le rumen; ces deux événements provoquent une accumulation d'ammoniaque qui n'est plus utilisable par les animaux (Hassan *et al.*, 1979; Kandil et El Shaer, 1988). Si le régime n'est pas exclusivement composé par *Atriplex*, mais intégré avec des fourrages plus énergétiques riches en hydrates de carbone, la quantité de azote retenu et utilisable augmente de façon significative.

Différentes recherches ont montré, par exemple, l'effet positif de l'intégration avec de la paille de l'alimentation à base d'*Atriplex nummularia* (Correal et Sotomayor, 2000) et d'*A. halimus* (Sotomayor et Correal, 2000).

Le taux élevé en sels présent dans les parties comestibles des plantes, des feuilles et des jeunes pousses, contraint les animaux qui s'en nourrissent, à s'abreuver souvent et les quantités d'eau ingérées peuvent atteindre 11 L/tête (Le Houérou, 1991; Mirreh *et al.*, 2000). Ce phénomène est plus évident dans le cas où parmi les composants du régime on trouverait *A. halimus*. La grande quantité d'eau consommée est due à la nécessité d'éliminer, par les urines, la grande quantité de sels accumulée. On estime que pour chaque gramme de NaCl ingéré, il faut 70-74 mL (Wilson *et al.*, 1969; Hassan *et al.*, 1979).

La signification de l'appétibilité n'a pas encore été bien définie. Le Sous-comité du Range Research Methods a défini l'appétibilité comme "la qualité qui détermine la

préférence d'une espèce fourragère particulière, de la part d'animaux mis en condition de choisir parmi de nombreuses solutions" (Marten, 1970).

Généralement, on utilise deux méthodes principales pour déterminer l'appétibilité d'un fourrage: I) par l'intermédiaire du libre broutage, associé aux observations visuelles continues de la quantité de fourrage présente avant et après le passage des animaux ainsi que la détermination de la quantité de foin consommée ou par l'intermédiaire de la mesure du poids des animaux ou de l'introduction d'une canule dans l'œsophage; II) par l'intermédiaire de la stabulation fixe en étable et l'évaluation de la quantité de fourrage ingérée en mesurant le temps d'ingestion ou directement le fourrage consommé.

Généralement les résultats obtenus avec la première méthode ne coïncident pas avec ceux de la deuxième; en effet, les facteurs qui influencent les choix des animaux sont très différents dans les deux cas.

Au cours de nombreux travaux où les animaux étaient nourris avec du fourrage d'*Atriplex* spp., on a observé une baisse du poids corporel. La cause de ce phénomène est à attribuer au fait que les animaux ont besoin d'une période plutôt longue avant de parvenir à s'adapter au nouvel aliment. Naturellement, il ne faut pas oublier que l'appétibilité varie en fonction du type d'animal et de la race.

En général, on a vu que le fourrage d'*Atriplex nummularia* a une appétibilité supérieure par rapport à *A. halimus*. Même si en 1970, à la Station de Recherche de Bou R'bia INRAT de Sarson en Tunisie on a testé un clone d'*A. halimus* (INRF 70100) extrêmement appétible (El Hamrouni et Sarson, 1975).

Tableau 9. Valeurs d'ingestion de trois types différents de fourrages d'*Atriplex*. (Adaptée de Abou El Nasr *et al.*, 1996).

	Frais	Foin	Ensilage
Nombre d'animaux	4	4	4
Poids initial (kg)	39,3	40,2	38,6
Poids final (kg)	39,6	35,3	42,7
Changement de poids (g/jour)	6,66	-109	91,1
Ingestion			
g ms/kg poids ^{0.75}	64,3	53,7	70,4
g protéines brutes/kg poids ^{0.75}	8,17	4,89	8,31
g fibres digestible/kg poids ^{0.75}	38,2	34,3	42,3

Tableau 10. Augmentation périodique du poids vif et moyenne journalière de l'augmentation de poids chez des agnelles nourries avec de la paille de blé associée à des fourrages au taux de azote élevé. (Adaptée de Chiriyaa et Boulanouar, 2000).

Période	Intégration			
	Paille de blé + Paille de blé seule	foin de luzerne	Paille de blé + <i>Atriplex</i>	Paille de blé + son de blé
Augmentation périodique de poids (kg)				
0-7 semaines	-4,65	-1,81	-1,75	-3,23
7-14 semaines	-0,65	0,27	2,00	-1,82
0-14 semaines	-5,29	-1,54	0,25	-5,04
Augmentation moyenne journalière (g)				
0-7 semaines	-135,7	-51,8	-50,0	-92,3
7-14 semaines	-18,5	7,7	57,1	-51,8
0-14 semaines	-75,6	-22,0	3,6	-72,0
Variation totale (%)	-15,9	-4,6	0,8	-15,6

RESULTATS

PARTIE IV

Le Medicago annuel

RESULTATS

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

Rappelons que l'objectif de notre travail est une contribution à lutter contre les effets de ce désastre environnemental qui a frappé l'humanité toute entière. Les composantes principales de ce déséquilibre naturel c'est tout d'abord le manque incessant des ressources en eau, et l'augmentation de la salinité. Ces deux contraintes combinées avec une pression anthropique, conduisent généralement à une perturbation du couvert végétale couplée avec une érosion rapide des sols en nutriments et en matière organique et par la perte ou la diminution de la densité et de l'activité microbienne du sol. Il est connu que ces microorganismes contribuent efficacement à l'agrégation de la structure du sol, à l'établissement des plantes par l'amélioration de leur nutrition et à leur protection contre les pathogènes et les stress abiotiques.

Afin de pallier à ces problèmes, nous avons entrepris cette étude qui a choisi quatre espèces : Caroubier, Figuier de Barbarie, Atriplex et Medicago annuelle. Le choix de ces espèces est justifié par le fait qu'elles manifestent toutes une tolérance importantes vis-à-vis aux conditions où sévissent des stress tels que le stress hydrique ou salin. En effet, ces espèces peuvent végéter dans des territoires connus par une aridité extrême. Cette valence de ces espèces est expliquée par le fait qu'elles ont vraisemblablement gardé les gènes responsables de la résistance aux différents stress.

C'est dans cette perspective que nous avons, dans un premier temps, mené des études visant à mettre au point une variabilité (morphologique, biochimique et isoenzymatique) pour les quatre espèces étudiées. Car, cette diversité est une condition sine qua none pour tout programme d'introduction ou d'amélioration d'une espèce végétale. En effet, cette variabilité a été significative chez le Caroubier :

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est une espèce typiquement méditerranéenne ayant d'énormes intérêts socio-économiques et écologiques. Son utilisation commence à apprendre de l'ampleur dans les industries pharmaceutiques et agroalimentaire. Il a été cultivé depuis longtemps pour l'alimentation humaine et animale. Actuellement, il est de plus en plus utilisé par les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et diététiques. En plus de l'intérêt économique du caroubier, il constitue une composante majeure des paysages agricoles et des écosystèmes forestiers. Grâce à son aptitude à développer différentes stratégies d'adaptation aux contraintes hydriques, cet arbre s'installe favorablement dans les zones arides et semi-arides. A l'instar des espèces fruitières, le caroubier n'a pas fait l'objet des travaux de sélection et de culture intensive et extensive. Le matériel utilisé provient essentiellement de populations naturelles issues de semis.

Au Maroc le caroubier est localisé, en association avec l'olivier, le lentisque, le thuya ou l'arganier, dans les plaines et les moyennes montagnes du Rif, Moyen Atlas, Haut Atlas et Anti-Atlas, en bioclimats humide, sub-humide, semi-aride et aride côtier à variantes chaude et tempérée. La capacité de cette espèce à se développer dans de telles conditions climatiques et édaphiques contrastées suggère un haut degré d'adaptabilité de cette espèce. Toutefois, peu d'études ont été réalisées sur la diversité génétique des populations marocaine du caroubier. Cependant, le caroubier est menacé par une érosion génétique due notamment à la déforestation.

La recherche de modalités de propagation rapide du caroubier, pour des fins économiques ou pour la réhabilitation des habitats dégradés (milieux semi-aride et aride au Maroc), devrait contribuer à la promotion des activités agricoles et sauvegarder les populations naturelles qui constituent un réservoir de la diversité génétique.

L'objectif principal de notre présent travail consiste en une évaluation de la variabilité génétique des populations du caroubier au Maroc au moyen des marqueurs morphologiques et isoenzymatiques. Cette évaluation serait d'un apport considérable dans la mesure où elle permettrait comme objectif à court terme, une caractérisation fiable des populations du caroubier, ainsi qu'une meilleure connaissance de la variabilité chez cette espèce.

Les résultats de cette contribution montrent l'existence d'une variabilité appréciable chez *C. siliqua*. Ceci a été mis en évidence à l'échelle des populations selon deux niveaux différents, d'ordre morphologique et enzymatique.

Les résultats obtenus sur le polymorphisme des caractères morphologiques, révèlent une grande diversité entre les populations du caroubier au Maroc. Cette diversité semble s'opérer en fonction de l'origine géographique de la population. A l'issue de ces résultats, il apparaît clairement que les populations du Nord marocain sont caractérisées par des gousses et des graines qui sont plus longues, plus larges et plus épaisses. On note que ces populations présentent une grande similarité avec les cultivars tunisiens, espagnols et portugais. D'autre part, on note que se sont les populations originaires du Moyen et Haut Atlas, qui présentent les proportions pondérales des graines les plus élevées. L'analyse en composante principale (ACP), montre la formation de deux groupes de populations, le premier est composé par les quatre populations du Nord du Maroc : Berkane (BE), Nador (NA), El Houceima (EL) et Chefchaouen (CH). Le second comprend toutes les autres populations provenaient du Sud-ouest et du centre du Maroc : Tafraout, Essaoura, Ait Berrhil, Taza, Agadir, Marrakech, Beni Mellal, Fes et Issafene.

La classification hiérarchique des différentes populations étudiées, montre l'existence de deux classes principales distinguées. La première est composé des populations du Nord (Chefchaouen (CH), El Houceima (EL), Nador (NA) et Berkane (BE)). Toutes les autres populations sont rassemblées dans la seconde classe. Cette deuxième classe est subdivisée en deux sous-groupes. Le premier est composé par les deux populations du sud du Maroc (Tafrouat et Essaouira). Toutes les autres populations sont rassemblées dans le deuxième sous-groupe.

L'analyse du polymorphisme enzymatique des populations du caroubier réalisé à l'aide des systèmes enzymatiques (Phosphoglucoisomérase (PGI), la Phosphoglucomutase (PGM), la Leucine aminopeptidase (LAP), l'Alanine aminopeptidase (AAP) et la Shikimate déshydrogénase (SKD)) a permis de révéler 55 phénotypes électrophorétiques dont certains sont caractéristiques de certaines populations. L'interprétation des résultats au niveau génotypique montre la présence de 9 loci et 22 allèles. Cet outil a permis de révéler une grande diversité génétique chez *C. siliqua*. Une fraction égale à 75.1% de la diversité totale provient de la variabilité intrapopulation, alors que 24.9 uniquement correspond à la différenciation interpopulations.

L'ensemble des résultats recueillis à partir de ces analyses, peuvent être utilisé 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 :

- L'élargissement de cette collection du caroubier en y apportant de nouvelles populations provenant de toutes les régions du Maroc non étudiées, pour mieux cerner la gamme de la variabilité de cette espèce.

- Enrichir les données de différentes collections ou accessions de régions avec d'autres informations utiles telles que la nature de plantation (cultivée ou spontanée), âge, production, exposition,.....
- Une analyse d'autres marqueurs moléculaires (AFLP, SSR....) s'impose pour une caractérisation aussi complète que possible de toutes les ressources génétiques du caroubier.

En ce qui concerne le Figuier de Barbarie, nous avons aboutit au même résultat :

L'introduction de Figuier de Barbarie dans la zone de Kalaa Sraghna dans un but de culture intensive étant une action de développement d'un intérêt considérable surtout que de vastes surfaces constituent des terres potentielles de sa culture. La prise en considération de plusieurs variétés ou cultivars dans cette introduction constituera un meilleur outil de gestion de l'espace et de la biodiversité de cette espèce. La durée de production de fruit sera étalée sur plusieurs mois ce qui représente un apport financier aux populations. Cette expérience a montré que les variétés autres que locales ou régional sont tolérantes au climat et voir même concurrentes aux variétés locales. Ceci est bien visible pour la variété Moussa et Haddaouia en considérant que la variété Skhor et originaire d'un climat semblable de celui de Kalaa Sraghna.

Toutefois, une évaluation supplémentaire est nécessaire et doit inclure aussi bien les raquettes que le fruit d'une part. D'autre part, des études de diversité génétiques seront d'une grande importance et le point de départ d'une éventuelle amélioration génétique au sein de l'espèce. Dans le même sens, l'introduction d'autres variétés voir même une collection à l'échelle nationale peut être un point de départ pour une production industrielle dans la région de Kalaa Sraghna.

Quant au *Medicago* annuelle :

La caractérisation de la diversité génétique des populations naturelles de *M. truncatula*, entreprise à l'aide de caractères morphologiques se rapportant au cycle de développement des plantes, a mis en évidence un polymorphisme phénotypique important. Les différents architectes morphologiques décrites soulignent une plasticité phénotypique importante chez cette espèce. La subdivision des populations marocaines en deux groupes semble se faire selon certains facteurs écologiques du milieu d'origine (altitude et pluviométrie). Les populations provenant des régions les moins arrosés et à faible ou moyenne altitude sont les plus tardives et se caractérisent par un faible développement végétatif. Cette variabilité phénotypique des populations naturelles de *M. truncatula* au Maroc offre des possibilités de choix pour sélectionner un matériel végétal adapté pour différentes régions. Comme le Maroc est caractérisé par une irrégularité de la pluviométrie, nous suggérons l'utilisation des populations précoces pour les régions arides, car elles peuvent échapper à la sécheresse, et les populations tardives pour les régions humides.

Les données que nous avons obtenues montrent clairement que les populations étudiées manifestent une forte variabilité phénotypique. L'analyse génétique d'un grand nombre de populations de différentes régions et l'étude des relations entre des marqueurs moléculaires et des caractères agronomiques peuvent définir une stratégie d'amélioration et de gestion des ressources génétique de cette espèce au Maroc.

Et enfin, à propos de l'Atriplex :

Nos résultats indiquent que les doses de salinité (NaCl , KCl , Na_2SO_4 et K_2SO_4) ont causé des effets différents sur la croissance de l'Atriplex halimus. En général, la salinité due aux ions K^+ est plus inhibitrice sur les paramètres de la croissance que celle due aux ions Na^+ .

Notre étude a montré, encore, que les plantes végétant sur les hautes concentrations du sel (300 et 450 mM) présentent une réduction significative des paramètres de la croissance.

Toutefois, notre analyse a mis en exergue que la tolérance à la salinité varie de façon significative entre les populations marocaines de l'Atriplex hamilus. Généralement la population de provenance littorale est plus tolérante au stress salin que les autres populations étudiées.

Pourtant, l'effet inhibiteur du sel est très important chez la population de provenance continentale.

En somme, ces résultats constituent une plate forme pour un programme visant à introduire ces espèces dans les territoires où l'aridité a provoqué des dégâts considérables.

L'utilisation de ces espèces a donc une valence stratégique qui doit être accompagnée par une technologie adéquate, mais aussi par la formation des utilisateurs et la participation de ces derniers aux mécanismes de gestion des implantations.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

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

Abou El Nasr H.M., Kandil H.M., El Kerdawy A., Dawlat, Khamis H.S., El-Shaer H.M., 1996. Value of processed saltbush and acacia shrubs as sheep fodders under the arid conditions of Egypt. *Small Ruminant Research*, 24: 15-20.

Acevedo E., Badilla I., Nobel P.S., 1983. Water relations, diurnal activity changes and productivity of a cultivated cactus (*Opuntia ficus indica*). *Plant Physiology*, 72:775-780.

Achhal A., Akabli O., Barbro M., Benabide A., M'Hirit O., Peyre C., Quezel P. et Rivaz-Martinez S. (1980). A propos de la valeur bioclimatique et dynamique de quelques essences forestières au Maroc. *Ecologia Mediterranea*, n°5.

Adam A. F. et Dron M. (1993). Les outils moléculaires et leur applications à l'amélioration des plantes. Dans: Le progrès génétique passe-t-il par le repérage et l'inventaire et des gènes? Ed. AURELP-UREF. John Libbey Eurotex, Paris, pp. 23-46.

AEFCS. 1978. Guide Pratique du Reboiseur au Maroc., pp: 373

Aggarwal R. K., Brar D. S., Nandi S., Huang N. and Khush G. S. (1999). Phylogenetic relationships among *Oryza* species revealed by AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 98:1320-1328.

Ahmad M., McNeil D. L., Fautrier A. G., Armstrong K. F. and Paterson A. M. (1996). Genetic relationships in len species and parentage determination of their interspecific hybrid using RAPD marker. *Theor. Appl. Genet.* 92:1091-1098.

Albanell E., Caja G., et Plaixats J., 1991. Characteristics of Spanish carob pods and nutritive value of carob Kibbles. *Cah. Options Méditerranéennes*, 16: 135-136.

Allen M.F., 1991. The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press, New York.

Alonso-Blanco C., Peeters A. J., Koornneef M., Lister C., Dean C., van der Bosch N., Pot J. and Kuiper M. T. (1998). development of an AFLP based linkage map of Ler, Col and Cvi *Arabidopsis thaliana* ecotypes and construction of a Ler/Cvi recombinant inbred line population. *Plant J.* 2:259-271.

Alorda M. and Medrano H. (1988). Posibilidades del estaquillado como técnica alternativa de propagación del algarrobo (*Caratonia siliqua* L.). pp. 379-386. in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and Mulet, eds.). Valencia, Spain.

Alorda M., estades J., Galmes J. and Medrano H. (1987). Promotion of rooting in carob cuttings. *Gartenbauwissenschaft.* 52 (1):31-34.

Alorda M. and Medrano H. (1996). Micropropagation of *Ceratonia siliqua* L.:a method to clone nature carob tree selected from the field. In Proceedings of the III International Carob Symposium. Cabanas, Tavira, Portugal (in press).

Aouissat M., Sotomayor J.A., Correal E., 1993. Production fouragère d'une plantation d'*Atriplex halimus* exploitée deux fois par an (hiver-été). In: "Management of Mediterranean shrublands and related forage resources". REUR Technical Series 28, FAO, Rome, Italy: 104-107.

Aronson J.A., Pasternak D. & Danon A., 1988. Introduction and first evaluation of 120 halophytes under sea water irrigation. In: E.E. white head; F.C. Hutchinson, B.N. Timmerman & R.G. Varady, Eds, Arid lands today and tomorrow, pp.737-746.

Arumugaanthan K. and Earle E. D. (1991). Estimation of nuclear DNA content of plant by flow cytometry. *Plant Mol. Biol. Repr.* 9,3:229-233.

Azocar P.C., Rojo H.C., 1991. Uso de cladodios de tuna (*Opuntia ficus-indica*) como suplemento forrageros estival de cabras en lactancia en reemplazo de heno de alfalfa. *Avances en Produccion Animal*, 16: 173-182.

Baldini E., Albergina O., Bargioni G., Cobianchi D., Iannini B., Tribulato E., Zocca A., 1982. Analisi energetiche di alcune colture arboree da frutto. *Rivista di Ingegneria Agraria*, 13(2): 73-201.

Barbera G., 1987a. Il ficodindia. *Speciale frutticoltura esotica. Agricoltura Ricerca*, IX (69-70): 21-24.

Barbera G., 1987b. Frutticoltura alternativa e produzioni arboree non alimentari per il Mezzogiorno. *Frutticoltura*, 49(12): 19-22.

Barbera G., Carimi F., Inglese P., 1988. La coltura del ficodindia e possibili indirizzi produttivi. *Frutticoltura*, 50(10): 37-43.

Barbera G., 1991a. Il Ficodindia. In: A.A.V.V., *Frutticoltura Speciale*. REDA, Roma: 680-683.

Barbera G., 1991b. Utilizzazione economica delle Opunzie in Messico. *Frutticoltura*, 53(2): 41-48.

Barbera G., Carimi F., Inglese P., 1992. Past and role of the Indian-fig prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, *Cactaceae*) in the agriculture of Sicily. *Economic Botany*, 46: 10-20.

Barbera G., Carimi F., Inglese P., 1993. Influenza dell'epoca d'impianto e del tipo di talea sulla radicazione e sullo sviluppo di barbatelle di *Opuntia ficus-indica* Mill. *Frutticoltura*, 55(10): 67-71.

Barbera G., 1995. History, economic and agro-climatic importance. In: Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta-Barríos (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO. Rome (Italy): 1-11.

Barracosa P., Almeida M. T. and Cenis J. (1996). Characterization of cultivars of carob tree in Algarve (Portugal). *In* Proceedings of the III International Carob Symposium. Cabanas-Tavira, Portugal (in press)

Batista M. T., Amaral M. T. and Proença Da Cunha A. (1996). Carob fruits as source of natural antioxidant. *In* Proceeding of the III International Carob Symposium. Cabanas-Tavira, Portugal.

Batlle I. and Tous J. (1988). Lineas de investigación sobre el algarrobo (*Ceratonía siliqua* L.) en el IRTA, Cataluña (España). *In*: Brito de Carvalho JH, ed. I Encorto Linhas de Investigaçao de Alfarroba. AIDA, Oeiras: AIDA, 92-104.

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

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

Batlle I., et Tous J., 1997. Carob tree. *Ceratonía Siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilised and neglected crops. Institut of plant genetics and crop plant research, Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

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

Beagger M., Andersen O., Neilsen J. D. and Rytting K. L. (1996). Dietary fibre reduce blood pressure serum total cholesterol and platelet aggregation in rats. *British J. Nutr.* 75: 483- 493.

Beckmann J. S. and Söller M. (1986). RFLP in plant genetic improvement. Oxford Surveys in *Plant Molecular and Cell Biology*.

Belaizi M., Blen M. R. et Boxus P. (1994). Régénération des plantes? Ed. AUPEL-UREF.J.L. Eurotex. Paris. P: 227-232.

Belaj A., Trujillo I., de la Rosa R. and Rallo L. (2001). Polymorphism and discrimination capacity of randomly amplified polymorphic markers in Olive germplasm bank. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126:64-71.

Belkadi B. (2003). Diversité génétique et phylogénie des *Aegilops* L. du Maroc. Thèse Doc. Univ. Mohammed V. Fac. Sci. Rabat. Maroc.

Beltran P.M., Rogelio A.R.J., 1981. Aspectos de la germinacion de nopales (*Opuntia* spp.) silvestres y cultivados. *Avances en la Enseñanza y la Investigacion*: 28-29.

Benchaabane A., 2000. *Atriplex halimus* L.: source de bois de feu et de fourrage en milieu aride (cas de la région de Marrakech, Maroc). *In*: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-

2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 610-616.

Benjamin R.W., Bardal D., Larie Y., Forti M.A., 1986. Evaluation of the use on introduced species in Agro-pastoral systems. In: Fodder Production and Utilization by Small Ruminant in Arid Regions CALA project (FOPAR), APRI, Dokki, Cairo, Egypt.

Ben Salem H., Nefzaoui A., Abdouli H., Orskov E.R., 1996. Effect of increasing level of spineless cactus (*Opuntia ficus-indica* var. *inermis*) on intake and digestion by sheep given straw-based diets. *Animal Science*, 62: 293-299.

Ben Salem H., Nefzaoui A., Ben Salem L., 1998. Fodder shrubs as supplements to poor quality roughages fed to sheep. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. I: 197-202.

Ben Salem H., Nefzaoui A., Ben Salem L., 2002. Supplementing spineless cactus (*Opuntia ficus-indica* f. *inermis*) based diets with urea-treated straw or oldman saltbush (*Atriplex nummularia* L.). Effects on intake, digestion and sheep growth. *J. Agric. Sci. Camb.* 138: 85-92.

Benson L., 1963. The cacti of Arizona. University of Arizona Press. Tucson, Arizona pp. 218.

Benson L. 1982. The cacti of the United States and Canada. Stanford Univ. Press. California: pp. 1044.

Ben Thlija A., 1987. Nutritional value of several *Opuntia* species. Master's Thesis, Oregon State University, Corvallis, Oregon.

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

Birkam S. and Kimber G. (1974). A new C- bading technique for cereal chromosomes. *Cereal Research Communications*, vol. 2,2:87-94.

Bolonos M. (1955). Rapport sur le caroubier. Instituto forestal de Investigaciones y experiencias Madrid (Espagne) 9p.

Bonifacio G., 1961. Il Fico d'India: una pianta preziosa per le regioni meridionali. *Frutticoltura*, 23: 49-55.

Boyer J. S., 1982. Plant Productivity and Environment. *Science*. 218: 443-448.

Bradshaw J. E., Hackett C. A., Meyer R. C., Milbourne D., McNichol J. W., Philips M. S. and Waugh R. (1998). Identification of AFLP and SSR markers associated with quantitative resistance to *Globedera pallida* (Stone) in tetraploid potato (*Solanum*

tuberosum) with a view to marker-assisted selection. *Theor. Appl. Genet.* 97:202-210.

Branlard G., Autran J. C. and Monneveux P. (1989). High molecular weight glutenin subunit in durum wheat (*T. durum*). *Theor. Appl. Gen.* 78:353-358.

Bravo H., 1991. Las cactáceas de Mexico. Univ. Nac. Autónoma de Mexico. 1991. Vol 1:1-743. Vol 3: 1-643.

Britton N.L., Rose J.N., 1919. The *Cactaceae*. Smithsonian Inst. Washington: pp. 236.

Britton N.L., Rose J.N., 1963. The *Cactaceae*. Dover Publications, Inc., New York: pp. 241.

Brown S. C., Devaux P., Marie D., Bergounoux C. and Petit P. X. (1991). Cytometrie en flux: Application à l'analyse de la ploïdie chez les végétaux. Biofutur n°105, Cahier n°47.

Bruford M. W. and Wayne R. K. (1993). Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinion in Genetics and Development*, 3:939-943.

Bureš P., Pavliček T., Horová L. and Nevo E. (2004). Microgeographic genome size differentiation of the carob tree, *Ceratonia siliqua*, at 'Evolution Canyon'. *Israel. An. Bot.* 93: 529-535.

Buxbaum F., 1950. Morphology of cacti. Abbey Garden Press, California, USA.

Cabrita R., Graça J. M., Schwab L. and Martins-Loução. (1988). Evaluation of parameters affecting the rootings of hardwood cutting in *Ceratonia siliqua* L. pp. 237-244 in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and Mulet, eds.). Valencia, Spain.

Calixto F.S., et Canellas J., 1982. Components of nutritional interest in carob pods (*Ceratonia siliqua*). *J.Sci.Food Agric.*, 33:1319-1323.

Cao W., Scoles G., Hucl P. and Chibbar R. N. (1999). The use of RAPD analysis to classify *Triticum* accessions. *Theor. Appl. Genet.* 98:602-607.

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

Castra J., Pérez S., Riquelme E., 1977. Evaluation of thornless prickly pear silages as a feedstuff for ruminants. Proceedings Western Section American Society of Animal Science, 28: 127-128.

Castragna R., Gnocchi S., Perenzi M. and Heun H. (1997). Genetic variability of the wild diploid wheat *Triticum urartu* revealed by RFLP and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 94:424-430.

Chalbi N., 1991. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. (Introduction). N. Chalbi; Y Demarly. Eds. J. Lybby. Eurotex.

Chambonnet D., 1985. Culture d'anthères in vitro chez trois solanacées maraichères: Le Piment (*Capsicum annuum* L.), l'Aubergine (*Solanum melongena* L.), la Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) et obtention de plantes haploïdes. Thèse Doc.Spec. Uni. Sci. The. Languedoc.p85.

Charalamabous J. and Papaconstantinou J. (1966). Current result on the chemical composition of the carob bean. In the composition uses of carob bean (J. Charalambous, ed.). Cyprus Agricultural Research Institute Ministry of Agriculture and Natural Resources Nicosia, Cyprus.

Chen L. and Yamguchi S. (2005). RAPD markers for discriminating tea germplasm at the specific level in China. *Plant Breeding*, 124:404-409.

Chiriyaa A., Boulanouar B., 2000. Browse foliage as a supplement to wheat straw for sheep. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 476-484.

Choukr-Allah R., 1991. The use of halophytes for the agricultural development of the south of Morocco. Proceeding of the International Conference on the Agricultural management of salt affected areas, Agadir (Morocco), pp.377-386.

Coit J. E. (1962). Carob culture in the semi-arid southwest. Vista, CA: J. Eliot Coit. 6p.

Cooper R., Lavie D., Gutterman Y. and Evenari M. (1994). The distribution of rare phenolic type compounds in wild and cultivated wheats. *J. Arid Environ.* 27:331-336.

Corniquel B. and Mercier L. (1994). Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivar identification by RFLP and RAPD. *Plant Sci.* 101:163-172.

Corsi L., Avallone, R., Cosenza, F., Farina, F., Baraldi, C., Baraldi, M., 2002. Antiproliferative effects of *Ceratonia siliqua* L. on mouse hepatocellular carcinoma cell line. *Fitoterapia*, 73: 674-684.

Correal E., Sotomayor J.A., 2000. Effect of straw supplementation on intake and browsing of *Atriplex nummularia* (oldman saltbush) by Segureña ewes, under pen-feeding and free-grazing conditions. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 551-557.

Correal E., Otal J., Sotomayor J.A., 1990a. Effects of grazing frequency and cutting height on the production of browsing biomass of oldman saltbush (*Atriplex nummularia* C.) in southeast Spain. In: "6th Meeting of FAO European Sub- network on Mediterranean

Pastures and Fodder Crop". October, 17-19, Bari (Italy): 153-156.

Correal E., Otal J., Sotomayor J.A., 1990b. Utilization of sheep on oldman saltbush (*Atriplex nummularia*): palatability, browse efficiency, voluntary intake and chemical composition. In: "6th Meeting of FAO European Sub-network on Mediterranean Pastures and Fodder Crop". October, 17-19, Bari (Italy): 148-152.

Correal E., Silva-Colomer J., Boza J. & Passera A.C., 1996. Valor nutritivo de cuatro arbustos forrajeros del genero *Atriplex*: *A. nummularia*, *A. cynerea*, *A. undulata* y *A. lampa* (Nutritional value of four fodder shrubs from the genus *Atriplex* –*A. nummularia*, *A. cynerea*, *A. undulata* and *A. lampa*-). *Pastos*, 16 : 177-189.

Cottier H., 1934. Quelques aliments de disette, leur valeur et leur emploi. *La Tunisie Agricole*, 37: 127-141.

Craig W. J. and Nguyen T. T. (1984). Caffeine and theobromine level in cacao and carob products. *J. Food Sci.* 49:302-305.

Crossa-Raynaud P. (1960). Caroubiers. *Annales Inst. Nat. Recherche Agric. Tunisie.* 33:79-83.

Crosta G., Vecchio V., 1979. Il fico d'India come fonte alimentare per il bestiame nelle zone aride. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale*, 73 (1/2): 79-85.

Curtis R.J., 1979. Prickly pear farming in the Santa Clara Valley, California. *Economic Botany*, 31: 175-179.

Davis P. H. and Heywood V. H. (1973). *Principals of Angiosperm plant taxonomy*, Robert E. Krieger publishing company, Huntington, New York.

De Candolle A. (1983). *L'origine des plantes cultivées*. Balaire, Paris, France.

Dedryver F., Jubier M. F., Thouvenin J. and Goyeau H. (1996). Molecular marker linked to the leaf rust resistance gene Lr24 in different wheat cultivars. *Genome*, 39:830-835.

Dehbi,Z., et Radouane,A., 2000. Le figuier à Ait Baâmrane. Atout et perspectives de developpement lième Journée Nat. Cult. Cact. DPA El Kalaâ. Mai 2000. 2-5.

De Kock G.C., 1980. Cultivation of drought tolerant fodder shrubs. In *Browse in Africa: The Current State of Knowledge* (H. N. Le Houérou, ed.). International Livestock Center for Africa, Addis-Abeba, Ethiopia: 399-410.

De Kock G.C., 1983. Drought resistance of fodder crops (crops in South Africa). In: *Browse in Africa: The Current State of Knowledge* (H. N. Le Houérou, ed.). International Livestock Center for Africa, Addis-Abeba, Ethiopia: 1-30.

Delgado I., Muñoz F., 2000. Forage use of native *Atriplex halimus* L. in the rainfed areas of Aragón, Spain. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). *Fodder*

Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 491-499.

De Vienne D. (1990). L'analyse du déterminisme génétique des caractères quantitatifs chez les végétaux médecines/sciences: 10(6), XI-V.

De Vienne D., Causse M., Maurice A. and Santoni A. (1995). Les principales ressources de marqueurs moléculaires. Dans: les marqueurs moléculaires et leurs applications. Biotechnologies végétales. UNISTA Univ. Audiovisuelle Francophone. CNED/AUPELF. UREF:11-18.

Devos K. M. and Gale M. D. (1992). The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 84:567-572.

Diamantoglou and Mitrakos K. (1981). Leaf longevity in Mediterranean evergreen sclerophylls. In Components of Productivity of Mediterranean Climate Region. Basic and Applied Aspects (N.S.Margaris and H.A. Mooney, eds), pp: 17-19. Junk Publishers, The Hague ISBN. 90: 6193-9445.

Di Lorenzo R. (1991). Carrubo Frutticoltura speciale. Ed. REDA, Rome.

Divaret I. and Thomas G. (1998). Use of RAPD markers to analyse the genetic variability of a collection of *Brassica oleracea* L. In: Thomas G., Monteiro A. A. (eds), Proceeding of the International Symposium on *Brassica*. *Acta Hort.* 459:255-262.

Dubcovsky J., Luo M. C., Zhong G. Y., Bransteitter R., Desai A., Kilian A., Kleinhofs A. and Dvorac J. (1996). Genetic map of diplid wheat, *Triticum monococcum* L., and its comparison with maps of *Hordeum vulgare* L. *Genetics*, 143:983-999.

Dvorak J., Epstein E., Galvez A., Gulick P. and Omiclan T., 1991. Genetics of the physiological and molecular mechanisms associated with the salt tolerance in wheat and *Lophopyrum elongatum*. International Conference on Agricultural Management in salt-affected Areas. Agadir. Morocco.

Dweikat I., Ohm H., Patterson F. and Cambron S. (1997). Identification of RAPD marker for 11 Hessian fly resistance genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 94:419-423.

Dwivedi S. L., Gurtu S., Chandra S., Yuejin W. and Nigam S. N. (2001). Assessment of genetic diversity among selected groundnut germplasm. I: RAPD analysis. *Plant Breeding*, 120:345-349.

Echt C. S., Erdaht A. and McCoy T. J. (1991). Genetic segregation of random amplified polymorphic DNA in diploid cultivated *alfalfa*. *Genome*. 35:84-87.

El Hamrouni A., Sarson M., 1975. Appétabilité de certains *Atriplex* spontanés ou introduits en Tunisie. Note de Recherche No. 8, INRF, Tunis.

El hansali M., Harzallah H. et Chalbi N., 1989. Etude préliminaire comparative de deux lignées de Piment et des Haploïdes doublés issus de leur croisement. 3^{ème} journées nationales de Biologie (biologie et développement), Hammamet Tunis.

El hansali M., Harzallah H. et Chalbi N.,1991. Etude comparative de trois lignées de Piment et des haploïdes doublés issus de leur croisement: la tolérance au stress salin. 3^{ème} journée scientifique du réseau Biotechnologique de l'UREF, Rabat. Maroc.

El hansali M., Harzallah H. et Chalbi N.,1991 Analyse comparative entre les haploïdes doublés et les génotypes dont ils sont issus chez le Piment (*Capsicum annuum L.*) Effet de NaCl sur les caractères morphologiques du fruit. 5^{ème} Journées nationales de biologie Sousse. Tunis.

El hansali M., 1992. Aptitude à la tolérance au stress salin des haploïdes doublés et des génotypes diploïdes parentaux chez le Piment (*Capsicum annuum L.*) conséquences en sélection: Thèse de doctorat de spécialité, Université de Tunis II. pp187.

El hansali M., Harzallah H., Zid A. et Chalbi N.,1993. Etude comparative de trois lignées de piment (*Capsicum annuum L.*) et des haploïdes doublés issus de leur croisement. La tolérance au stress salin. In Le progrès génétique passe-t-il par le repérage et l'inventaire des gènes? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotex. Paris. Pp. 249-259.

El hansali M., Bouhezzag S., Oujili H., Hassib A., Ouatmane., M'herit O., Baaziz M. & Boulli A.,2004. Variabilité biochimique du caroubier marocain (*Ceratonia siliqua L.*) : sucres totaux et protéines brutes. Congrès International de Biochimie-Forum des Jeunes Chercheurs. Marrakech. Maroc.

El hansali M., Bouhazzag S., Boutaybi S., Ouatmane A., Ait Hammou A., Fadili M., Boulli A., Mouadden A., Dayaa J., & Boullia A. 2004, Analyse comparative de la croissance et des caractères morphologiques de Quatre variétés du Figuier de Barbarie sous climat aride. TROISIEME JOURNEE NATIONALE SUR LE CACTUS : Ben Guerir.

El hansali M., Bouhezzag S., Boutaybi S., Ouatmane A., El bouadili A., Zyad A. & Boulli A.,2005. Le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) : Résultats Préliminaires dans une Perspective de Valorisation dans la Région Tadla-Azilal. Congrès International sur les Plantes Médicinales. Errachidia. Maroc.

El hansali M., Zinelabidine L.H. et Haddioui A.,2008. Variabilité des caractères morphologiques des populations naturelles de *Medicago truncatula Gaertn.* Acta Botanica Gallica. 155

El Mzouri E., Chiriyaa A., El Mourid M., Laamari A., 2000. Improving feed resource and quality in the dryland areas of Morocco by introducing the strip-alley cropping system. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in

Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 340-347.

Emberger L., 1938. Les arbres du Maroc et comment les reconnaître. Ed. Larousse, Paris.

Emberger L. et Maire R.. (1941). Catalogue des plantes du Maroc (Spermaphytes et Pteridophytes). Imprimerie Minerva. Alger.

Epstein E., Norlyn J.D., Rush D.W., Kingsbu R.W., Kelley D.B., Cunningham G.A. and Wrona A.F., 1980. Saline culture of crops: a genetic approach. *Science*. 210: 399-404.

Escobar H.A.A., Villalobos V.M.A., Villegas M., 1986. *Opuntia* micropropagation by axillary proliferation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 7: 269-277.

Evreinoff V. A. (1947). Agriculture tropicale; Le caroubier ou *Ceratonia siliqua* L., *Rev. Bot. Appl.* 389-401.

FAO (1996). Report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. FAO, Rome, 75pp. Hammer K. A. Diederichsen and M. Spahillari. Basic studies toward strategies for conservation of plant genetic resources

Felker P., 1995. Forage and fodder production and utilization. In: Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta-Barrios (eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO. Rome (Italy): 144-154.

Ferguson I. K. (1980). The pollen morphology of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinoideae). *Kew bull.* 35(2):273-277., pls 6-7.

Flachowsky H., Schumann E., Webber W. E. and Peil A. (2001). Application of AFLP for the detection of sex-specific markers in hemp. *Plant Breeding*. 120:305-309.

Flores Valdez C.A., Aguirre Rivera J.R., 1992. El nopal como forraje. Universidad Autónoma Chapingo, Mexico, Mexico.

Folch I Guillen R. 1981: La vegetació dels Països Catalans. Ed. Ketres, Barcelona.

Forti M. 1971. Introduction of fodder shrubs and their evaluation for use in the semi-arid areas of the northwest Neveg Institute for Arid Zones Research, Beer-Sheva, Israel. Minco.

Förster J. and Knaak C. (1995). Estimation of the genetic distance of 21 winter rapeseed varieties by RAPD analysis in comparison to RFLP results. Proceedings 9th International Rapeseed Congress, Cambridge, 4:1184-1186.

Fournier P. (1977). Les quatre flores de la France (générale, alpine, méditerranéenne, littorale) Lechavalier. Paris.

Francllet A. & Le Houerou H.N., 1971. Les Atriplex en Tunisie et en Afrique du Nord. Rome: Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO); 271p.

Friesen N., Pollner S. and Bacmann O. (1999). RAPDs and non coding chloroplast DNA reveal a single origin of the cultivated *Allium fistulosum* from *A. altaicum* (*Alliaceae*). *Am. J. Bot.* 86(4):554.

Frutos D. (1988). Efecto de los ácido sulfúrico y giberelico (GA₃) en la germinación del galgarrobo (*Ceratonía siliqua* L.). pp. 265-280 in Proceeding of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain.

Gallo L., Quagliotti L., 1989. La germinazione dei semi delle piante succulente. L'Informatore Agrario, (1): 63-69.

García-Ochao F. and Casas J. A. (1992). Viscosity of locust bean (*Ceratonía siliqua*) gum solutions. *J. Sci. Food Agri.* 59: 97- 100.

Gates D.M., Aldefer R., Taylor E., 1968. Leaf temperatures of desert plants. *Science*, 59: 994-995.

Gentzbittel L. (1990). Construction d'une polygénie moléculaire du genre *Helianthus*. Application à l'analyse des stérilités mâles cytoplasmiques du tournesol. Thèse Univ. Claude Bernard, Lyon I:144p.

Geraci A., Divaret I., Raimondo F. M. and Chèvre A. M. (2001). Genetic relationships between Sicilian population of *Brassica* analysed with RAPD markers. *Plant Breeding*, 120:193-196.

Geratas T., De Keukeleire P., Deblaere R., Van Montagu M. and Zethof J. (1995). Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) mapping in *Petunia*: a fast and reliable method for obtained a genetic map. *Acta. Hort.* 420:58-61.

Gharnit N. (1997). Le caroubier (*Ceratonía siliqua* L.), Essais de propagation *in vitro* et intérêt socio- économique au cercle de MOKRISSET (NW. Maroc). Dans le mémoire du D.E.S.A., n° 576.5 GHA. Univ. Abdel Malek E. Fac. Sci. Tétouan.

Gharnit N., El Mtili N., Toubi Ennabili A., Ennabili A., 2001. Social characterisation and exploitation of carob tree (*Ceratonía siliqua* L.) from Mokrisset and Bab Taza (NW of Morocco). *Science Letters* 3 (2): 10p.

Gharnit N., El Mtili N., Ennabili A. and Sayah F. (2004). Floral characterization of carob tree (*Ceratonía siliqua* L) from the province of Chefchaouen (NW of Morocco). *Moroccan J. Biol.* 1:41-51.

Gibson A.C., Nobel P.S., 1986. The Cactus Primer. Harvard Univ. Press: pp. 286.

Gill K. S., Hassawi D., Raupp W. J., Fritz A. K., Gill B. S. et al. (1992). An updated genetic linkage map of *Triticum tauschii*, the D-genome progenitor of wheat, pp. 27-29 in

Progress in Genome Mapping of Wheat and related Species, edited by B. S. Gill, W. J. Raupp and H. Corke. Proceedings of the 2nd International Triticeae Mapping Initiative, Manhattan, Kansas, Published by Genetic Conservation Program of the University of California.

Glenn E.P., Hicks N. & Riley J., 1995. Swingles Sea water irrigation of halophytes for animal feed. In: Choukrallah R., Malcolm C V., Hamdy A., Eds. Halophytes and biosaline agriculture. Newyork, Basel, Hongkong: 212-236.

Godwin I. D., Aitken E. A. B. and Smith L. W. (1997). Application of intersimple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. *Electrophoresis*. 18:1524-1528.

Gogorcena Y. and Parfitt D. E. (1994). Evaluation of RAPD for detection of polymorphism in aprico. *Sci. Hort.* 59:163-167.

Gonzales C.L., 1989. Potential of fertilization to improve nutritive value of prickly pear cactus (*Opuntia lindheimeri* Engelm.). *Journal of Arid Environments*, 16: 87-94.

Goor A. Y. and Barney C. W. (1968). Forest tree planting in arid zones. New York: Ronald Press. 409p.

Gorg A., Postel W., Westermier R., Gianazzu E. and Righetti P. G. (1980). Gel gradient electrophoresis. Isoelectric focusing and two dimentional techniques in horizontal, ultrapolyacrylamide layers. *I. Biochem. Biophys.* 3:273-284.

Gotteib L. D. (1977). Electrophoretic evidence and plant systematic. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 64:161-180.

Gregory R.A., Felker P., 1992. Crude protein and phosphorus contents of eight contrasting *Opuntia* forage clones. *Journal of Arid Environments*, 22: 323-331.

Griffiths D., 1905. The prickly pears and other cacti as fodder for livestock. United State Department of Agriculture Bulletin 74, Washington D.C.

Griffiths D., 1914. Reversion in Prickly Pears. *Journal of Heredity*, 5: 222-225.

Grime J. P. (1983). Prediction of weed and crop response to climate based on measurement of DNA content. *Aspect of Appleid Biol.* 4:87-98.

Gruning Ch. R., Sieber T. N. and Holdenrieder O. (2001). Characterization of dark septale endophytic fungi (DSE) using inter-simple-sequence-repeat-anchored polymerase chain reaction (ISSR-PCR) amplification. *Mycol. Res.* 105:24-32.

Guinochet M. and Vilmorin R. (1984). Flore de France. Edit. CNRS, Paris.

Haddioui A., Bouda S., Ould Mohamed Lemine M.M. Hammada S. & El hansali M., 2007. Effect of Salinity on Growth of five Natural Populations of *Atriplex halimus* L. in Morocco. *Journal of Agronomy* (sous presse)

Hamama L., El hansali M. et Letouze R., 2002. Formation des embryons somatique à partir de tissus foliaires chez le jojoba (*Simmondsia chinensis*). Rôle d'un éclairage rouge (660nm) de courte durée et du CPPU (N-(2-chloro, 4pyridyl)-N'-phénylurie) VIII^{ème} Journées scientifiques du réseau Biotechnologique de l'UREF. Marrakech. Maroc.

Hamadeh S.K., Abi-Said M., Faour K., Osman A.E., 2000. Native shrubs in shee diets. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 564-569.

Hamed T. E., Ezzat A. and Al-Okbi S. Y. (2003). Therapeutic diets for diarrhea: biological evaluation in rats. *Pak. J. Biological Sci.* 6:1501-1508.

Hartmann H.T. and Kester D. E. (1983). Plant propagation. Principles and Practices. 4th edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N. J.

Harzallah H., Dhaouadi M., El hansali M. et Zid A., 1994. Tolérance au stress salin chez les haploïdes doublés de piment (*Capsicum annum L.*) "Journées nationales sur les acquis récents de la recherche agronomique". IRESA. Tunisie.

Haselberg C. von. (1996). Factors influencing flowers and fruit development in carob (*Ceratonia siliqua L.*). In III International Carob Symposium. Cabanas-Tavira, Portugal. (in press).

Hassan N.I., Abdelaziz H.M., El Tabbah A.E., 1979. Evaluation of some forages introduced to newly reclaimed areas in Egypt. *World Rev. of Animal Production*, XV (2): 31-35.

Heun M., Schäfer-Pregl R., Klawan D., Castagna R., Accerbi M., Borghi B. and Salamini F. (1997). Site of einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting. *Science*. 278:1312-1314.

Hillcoat D., Lewis G. and Verdcourt B. (1980) A new species of *Ceratonia* (Leguminosae- Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew bull.* 35(2):261-271.

Hoffmann W., 1995. Ethnobotany. In: Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta-Barrios (eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO. Rome (Italy):12-19.

Hokanson S. C., Szewc-McFadden A. K., Lamboy W. F. and McFerson J. R. (1998). Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus x domestica* Borkh. Core subset collection. *Theor. Appl. Genet.* 97:671-683.

Hong T. D., Linington S. and Ellis R. H. (1996). Seed storage behaviour: a Compendium. Handbooks for Genebanks: No. 4. International Plant Genetic Institute, Rome.

- Hormaza J. I., Dollo L. and Polito V. S. (1994).** Identification of a RAPD marker linked to sex determination in *Pistacia vera* using bulked segregant analysis. *Theor. Appl. Genet.* 89:9-13.
- Imrie F. (1973).** The production of fungal protein from carob in Cyprus. *J. Sci. Food Agric.* 24:639.
- Inglese P., 1995.** Orchard planting and management. In: Barbera G., P. Inglese and Pimienta-Barrios (eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO. Rome (Italy): 78-91.
- Irwin H. S. and Barneby R. C. (1981).** Cassieae. Pp. 97-106 in *Advances in Legume Systematic*. Vol. 1 (R. M. Polhill and P. H. Raven, eds.). Royal Botanic Gardens, Kew, England.
- Ismaili M., Saloua B., Salema M.P., 2000.** Biological nitrogen fixation and ¹⁵N-labeled mineral nitrogen uptake by *Acacia cyanophylla*, *Acacia cyclops* and *Atriplex* spp. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). *Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia.* ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 390-394.
- Jain A., Bhatia S., Banga S. S., Prakash S. and Lakshmikumarn M. (1994).** Potential use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique to study the genetic diversity in Indian mustard (*Brassica juncea*) and its relationships to reterosis. *Theor. Appl. Genet.* 88:116-122.
- Jarne P. and Lagoda P. J. L. (1996).** Microsatellites, from molecules to population and back. *Trends Ecol. Evol.* 11:424-429.
- Jayat C. and Ratinaud M. H. (1993).** Cell cycle analysis by flow cytometry: principales and applications. *Review Biol. Cell.* 78:15-25.
- Johnsen S., Bruun P., et Okkala P., 1988.** Application of LBG in food and pet food systems. pp. 577-587 in *Proceedings of the II International Carob Symposium* (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valacia, Spain.
- Jones D. K. (1953).** Carob culture in Cyprus. FAO 53/2/1225. FOA. Rome.
- Kahl G. (2001).** *The Dictionary of Gene Technology.* Wiley- VCH, Weinheim.
- Kandil H.M., El Shaer H.M., 1988.** The utilization of *A. nummularia* by goats and sheep in Sinai. *Proceedings of the International Symposium on the Constraints and Possibilities of Ruminant Production in the Dry Sub-tropics, 5-7 Nov. Cairo Egypt.*
- Kardolus J. P., van Eck H. J. and van den Berg R. G. (1998).** The potential of AFLPs in biosystematics: a first application in *Solanum* taxonomy (*Solanaceae*). *Plant Systematic and Evolution.* 210:87-103.

Karp A. and Edwards K. (1997). Molecular techniques in the analysis of the extent and distribution of genetic diversity. In: Ayad W., Hodgkin T., Jaradat A., Rao V. (eds.), Molecular genetic techniques for plant genetic resources, 9-11 October 1995, IPGRI, Rome, Italy, pp 11-22. **Keim P., Schupp J. M., Travis S. E., Clayton K., Zhu T., Shi L., Ferreira A. and Webb D. M. (1997).** A high-density genetic map of soybean based upon AFLP markers. *Crop Sci.* 37:537-543.

Kenny, L., 1997. Le figuier de barbarie importance économique et conduite techniques. Bulletin de liaison du programme nationale de transfert de technologie en agriculture, N°35

Khadari B., Lashermes P. and Kjellberg F. (1994). Identification variétale et ressources génétiques chez le figuier (*Ficus carica* L.): utilisation des marqueurs RAPD. In: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris, pp. 399-412.

Khadari B., Breton C., Moutier N., Roger J. P., Besnard G., Bervillé A. and Dosba F. (2003). The use of molecular marker of germplasm management in a French olive collection. *Theor. Appl. Genet.* 106:521-529.

Khorchani T., Hammadi M., Abdouli H., Essid H., 2000. Evolution de la composition chimique et de la digestibilité in vitro de quatre arbustes halophytes dans le Sud Tunisien. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 540-550.

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

Klein-Lankhorst R. M., Vermunt A., Weid R., Liharska T. and Zabel P. (1991). Isolation of molecular markers for tomato (*L. Rsculentun*) using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Theor. Appl. Genet.* 83:1549-1551.

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

Krauss S. L. (1999). Complete exclusion of non sires in an analysis of paternity in a natural plant population using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Molecular Ecology.* 8:217-226.

Kresovich A. S., Williams J. C. K., Mc Ferson J. R., Routman E. J. and Schaal B. A. (1992). Characterization genetic identities and relationships of *Brassica oleracea* L. via a random amplified polymorphic DNA assays. *Theor. Appl. Genet.* 85:190-196.

Lailhacar S., Laude H. M., 1975. Improvement of seed germination in *Atriplex repanda* Phil. Journal of Range Management, 28(6): 491-494.

- Lashermes P., Cros J., Marmey P. and Charrier A. (1993).** Use of random amplified polymorphic DNA markers to analyse genetic variability and relationships of *Coffea* species. *Crop Evol. Gent. Res.* 40:91-99.
- Law J. R., Donini P., Koebner R. M. D., Jones C. R. and Cooke R. J. (1998).** DNA profiling and plant variety registration III. The statistical assessment of distinctness in wheat using amplified fragment length polymorphisms. *Euphytica*. 102:335-342.
- Lee C. L., Paul J. L. and Hackett W. P. (1977).** Promoting of rooting in stem cutting of structure plant by pre-treatment with acid or base. *Hort Science*. 12 (1): 41-42.
- Le Houerou H.N., 1986.** Salt tolerance plants of economic value in Mediterranean basin. In: Reclamation and Revegetation Research. Amsterdam: Elsevier: 319-341.
- Le Houérou H.N., 1991.** Feeding shrubs to sheep in the Mediterranean arid zone: intake performance and feed value. In: "IV Congrès International des Terres de Parcours". Montpellier, France: 623-628.
- Le Houerou H.N., 1992.** The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) In Arid Land Rehabilitation in the Mediterranean Basin: Agroforestry, Systems, 18: 107-148.
- Le Houérou H. N., 1992a.** The role of salt bushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean basin: a review. Agroforestry Systems, 18:107-148.
- Le Houérou H. N., 1992b.** The role of *Opuntia* cacti in the agricultural development of Mediterranean arid zones. Proceeding 2nd International Congress of Prickly Pear and Cochineal, Santiago, Chile.
- Le Houérou H. N., 1993.** Land degradation in Mediterranean Europe: can agroforestry be a part of the solution? Agroforestry Systems, 21: 43-61.
- Le Houérou H.N., 1994.** Drought-tolerant and water-efficient fodder shrubs (DTFS), their role as a "drought-insurance" in the agricultural development of arid and semi-arid zones in Southern Africa. Report to the Water Research Commission No. KV 65/94 WRC, Pretoria, South Africa.
- Le Houérou H.N., 1996.** The role of cacti (*Opuntia* spp.) in erosion control, land reclamation rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean basin. Journal of Environments, 33: 135-159.
- Ledoigh C. and Coudret A. (1992).** Stress hydrique: étude des mécanismes moléculaires et modification de l'expression du génome. Bull. Soc. Bot. Fr., 139. Lettres Bot. 2:175-190.
- Leford Buson M., Rodilphe F. and Charcosset A. (1990).** De nouvelles perspectives pour l'analyse génétique des caractères quantitatifs. La sélection assistée par marqueur. Biofuture, Juillet/Août. 42-47.

- Leroy A. (1929).** Elevage rationnel des animaux domestiques. Hachette ed., 448p.
- Levitt J., 1980.** Response of plant to environmental stress. Vol II. Water radiation, salt and other stresses. 2nd ed. Academic Press, New York.
- Li Z. and Nelson R. L. (2001).** Genetic diversity among soybean accession from three countries measured by RADPs. Published in *Crop Sci.* 41:1337-1347.
- Linskens H. and Scholten W. (1980).** The flower of carob. *Potug. Acta. Bilo. (A) XVI* (14):95-102.
- Liu Z. and Furnier G. R. (1993).** Comparison of allozyme, RFLP, and RAPD markers for revealing genetic variation within and between trembling aspen and bigtooth aspen. *Theor. Appl. Genet.* 87:97-105.
- Lizardo R., Cañellas J., Mas F., Torrallardona D. et Brufau J. (2002).** L'utilisation de la farine de caroube dans les aliments de sevrage et son influence sur les performances et la santé des porcelets. Journées de la Recherche Porcine. 34:97-101.
- Llovera L.J., Sanchez J.M., Peñac J.J., 1995.** Bacterias fijadoras de nitrogeno asociadas a raices de especies de nopal (*Opuntia* spp.). Atti del 4° Congreso Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Guadajara, Mexico, 6-10 Noviembre: 19-24.
- Louca A. and Paps A. (1973).** The effect of different proportions of carob pod meal in the diet on the performance of calves and goats. *Anim. Prod.* 17:139-146.
- Loudyi,W. , 1997.** Le figuier de barbarie espèce fruitières d'intérêt secondaire cultivées au Maroc. Bulletin de liaison du programme nationale de transfert de technologie en agriculture, N°35
- Ludlow M.M., 1980.** Adaptative signifiante of stomatal
- Lysák M. A., Rostková A., Dixon J. M., Rossi G. and Doležel J. (2000).** Limited genome size variation in *Sesleria albicans*. *An. Bot.* 86:399-403.
- M'Ribu H. K. and Hilu K. W. (1994).** Detection of interspecific and interspecific variation in *Panicum* millets through random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Theor. Appl. Genet.* 88:412-416.
- Maas E.V. and Nieman R.H., 1978.** Physiology of plant tolerance to salinity. In crop tolerance to suboptimal land condition. Ed: G A. Jung. Pp. 277-299. Am. Soc. Agron. Publ.32
- Mace E. S., Gebhardt C. G. and Lester R. N. (1999).** AFLP analysis of genetic relationships in the tribe *Datureae* (*Solanaceae*). *Theor. Appl. Genet.* 99:634-641.
- MacRoberts N., Finch R. P., Sinclair W., Meikle A., Marshall G., Squire G. and**

- McNicol J. (1999).** Assessing the ecological significance of molecular diversity data in natural plant populations. *J. Exp. Bot.* 50,340:1635-1645.
- Makris D. P. and Kefalas P. (2004).** Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidant. *Food Technol. Biotechnol.* 42: 105- 108.
- Malcom C.V., 2000.** Management of forage shrub plantations in Australia. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). *Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. I: 67-76.*
- Malcom C.V., Pol J.E., 1986.** Grazing management of saltland shrubs. *Journal Agric. W. Australia*, 27(2): 59-63.
- Malcom C.V., Clarke A.J., Swaan T.C., D'Antuono M.F., 1988.** Effects of plant spacing and soil conditions on the growth of five *Atriplex* species. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 21: 265-279.
- Marakis S., Kalaitzakis J. and Mitrakos K. (1988).** Criteria for recognizing carob tree varieties. Pp. 558-566 in *Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and Mulet, eds.) Valencia, Spain.*
- Markis D., Kefalas P., 2004.** Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technol. Biotechnol* 42(2), 105-108.
- Marten G.C., 1970.** Measurement and significance of forage palatability. In: *Proceedings of the National Conference on Forage Quality , Evaluation and Utilization, Nebraska, 3-4 Sept. 1969. Lincoln, Nebraska, USA: 1-55.*
- Martinez B.A.E., Villa A.B.S., 1995.** Plantaciones de nopal para el desarrollo sustentable de areas degradadas en la region central de Mexico. *Atti del 4° Congreso Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Guadajara, Mexico, 6-10 Noviembre: 72-73.*
- Martins-Loução M. A. and Rodríguez-Barrueco C. (1982).** Studies in nitrogenase activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) callus cultures associated with Rhizobium. Pp. 671-672 in *Proceedings V International Congress Plant Tissue Culture, Tokyo.*
- Matthes M. C., Daly A. and Edwards K. J. (1998).** Amplified length polymorphism (AFLP), In: Karp A., Isaac P. G., Ingram D. S. (eds). *Molecular Tools for Screenig Biodiversity. Chapman and Hall, London, pp. 183-190.*
- Mc Arthur E.D. & Sanderson S.C., 1984.** Distribution, Systematic and evolution of Chenopodiaceae: an overview. In: Tiedmann, A.R., Mc Arthur, E.D., Stutz, H.C., Stevens, R. and Johnson, K.L. (Eds), *Proceeding-symposium on the biology of Atriplex and related chenopods. Prov, UT. General Technical Report INT-172.*
- Meksem K., Ruben E., Hyten D., Triwitaykorn K. and Light foot D. A. (2001).**

Conversion of AFLP bands into high-through put DNA markers. *Mol. Genet. Genomics*, 265:207-214.

Merwin M. L. (1981). The culture of carob (*Ceratonia siliqua*) for food. Fodder and fuel in semi-arid environments. International Tree Crops Institute USA Inc., California.

Metakovsky E. V. and Baboev K. (1992). Polymorphism of gliadin and unusual gliadin alleles in *Triticum boeoticum*. *Genome*, 35:1007-1012.

Metral J.J., 1965. Les cactacées fourragères dans le Nord Est du Brésil plus particulièrement dans l'état du Ceara. *Agronomie Tropicale*, 20: 248-261.

Metro et Sauvage. (1955). Flore des végétaux ligneux de la Maâmora. La nature au Maroc 1, Sco. Sci. Nat. Physi. Rabat (Maroc). 498p.

Mhameed S., Sharon D., Kaufman D., Lahav E., Hillel J., Degani C. and Lavi U. (1997). Genetic relationships within avocado (*Persea Americana* Mill) cultivars and between *Persea* species. *Theor. Appl. Genet.* 94:394-401.

Miller J. C. and Tanksley S. D. (1990). RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor. Appl. Genet.* 80:437-448.

Min B. R. and Hart S. P. (2003). Tannins for suppression of intestinal parasites. *J. Anim. Sci.* 81:102-109.

Mingeot D. and Jacquemin J. M. (1999). Mapping of RFLP probes characterized for their polymorphism on wheat. *Theor. Appl. Genet.* 98,6/7:1132-1137.

Mirreh M.M., Osman A.A., Ismail M.D., Al Daraan M.S., Al Rowaili M.M., 2000. Evaluation of six halophytic shrubs under centre-pivot sprinkler irrigation. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 293-308.

Mitrakos K., 1968. The carob (*Ceratonia siliqua* L.). Report to Tate and Lyle, Reading. 30p.

Mitrakos K. (1981). Temperature germination responses in three Mediterranean evergreen sclerophylls. Pp :277-279 in Components of Productivity of Mediterranean-climate Regions-Basic and Applied Aspects (N.S. Margaris and H. A. Mooney, eds.). Dr. W. Junk Publishers, The Hague/Boston/London.

Mondragòn C., Pimienta-Barrios E., 1995. Propagation. In: Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta-Barrios (eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO, Rome (Italy): 64-70.

Monjauze A., Le Houerou H.N., 1965. Le rôle des *Opuntia* dans l'économie agricole nord-africaine. Bulletin de l'Ecole Supérieure Agricole de Tunis, (8/9): 85-164.

- Monneveux P. and Depigny-This D. (1995).** Intégration des approches physiologiques, génétiques et moléculaires pour l'amélioration de la tolérance à la sécheresse chez céréales. Dans: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris. 149-163.
- Monté J. V., Casanova C. and Soler C. (1999).** Genetic variation Spanish population of the genus *Aegilops* revealed by RAPD, *Agronomie*, 19:419-427.
- Mudie P.J., 1974.** The potential economic uses of halophytes. In Ecology of halophytes. Eds.R.J. Reimold and W.H. Queen.pp 565-597. Academic Press, New york.
- Mulas M., 1992.** Medicinal properties and yield possibilities of the prickly pear (*Opuntia spp.*) in the Mediterranean environment. *Acta Horticulturae*, 331:79-84
- Mulas M., Spano D., Pellizzaro G., D'Hallewin G., 1992a.** Rooting of *Opuntia ficus-indica* Mill. young cladodes. *Advances in Horticultural Science*, 6: 44-46.
- Mulas M., D'hallewin G., Canu D., 1992b.** Osservazioni sulla radicazione di cladodi di *Opuntia ficus-indica* Mill. *Frutticoltura*, (10): 67-70.
- Muñoz F., Andueza J.D., Delgado I., Ochoa M.J., 2000.** Chemical composition and *in vitro* digestibility of browse plants in a semi-arid region of Spain. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 485-490.
- N.A.S., 1979.** Tropical Legumes : Resources for the Future, pp.109-116. National Academy of Sciences, Washington DC, USA.
- Nefzaoui A., 2000.** Nutritive value of spineless cactus (*Opuntia ficus-indica* var. *inermis*) and *Atriplex* (*Atriplex nummularia*) based diets for sheep. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 518-523.
- Navorro E., Simonet P., Normand P. and Bardin R. (1992).** Characterization of natural populations of *Nitrobacter* spp. Using PCR/RFLP analysis of the ribosomal intergenic spacer. *Arch. Microbiol.* 157:107-115.
- Nefzaoui A., Chermiti A., Ben Salem H., 1993.** Spineless cactus (*Opuntia ficus-indica* var. *inermis*) as a supplement for treated straw. 7th Meeting of the FAO Sub- Network on Mediterranean Pastures and Fodder Crops. April, 21-23, Chania (Greece): 130-133.
- Nefzaoui A., Ben Salem H., Ben Salem L., 1996.** La complémentation azotée du cactus

inorme pour les ovins. Effet de la source d'azote. An. Zootech., 45 (Suppl 1):120.

Nefzaoui A., Ben Salem H., 2000. *Opuntia*: a strategic fodder and efficient tool to combat desertification in the WANA Region. CACTUSNET Newsletter: 2-24.

Nefzaoui A., Ben Salem H., Ben Salem L., 2000b. Nitrogen supplementation of cactus-based diets fed to Barbarine yearlings. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 512-517.

Nefzaoui A., Ben Salem H., 2002. Cacti: efficient tool for rangeland rehabilitation, drought mitigation and to combat desertification. Proceedings of the fourth international congress on Cactus pear and Cochineal. Hammamet, Tunisia, 22-28 October 2000. Acta Horticulturae, 581.

Neukom H., 1988. Carob bean gum: properties and applications. pp. 551-555 in Proceeding of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valacia, Spain.

Nilsen E., Sharifi M., Rundel P., Foresth I., Ehleringer J., 1990. Water relations of stem succulent trees in north-central Baja California. Oecologia, 82: 299-303.

Nobel S.P., Hartsock T.L., 1983. Relationship between photosynthetically active ratio, nocturnal acid accumulation and CO₂ uptake for Crassulacean acid metabolism plant in *Opuntia ficus-indica*. Plant physiology, 71: 71-75.

Nobel S.P., Hartsock T.L., 1984. Physiological response of *Opuntia ficus-indica* to growth temperature. Physiol. Plant., 60: 98-105.

Nobel S.P., Andrade J.L., Wang N., North G.B., 1994. Water potential for developing cladodes and fruits of a succulent plant, including xylem-versus-phloem implication for water movement. J. Exp. Bot., 45: 1801-1807.

Nobel S.P., 1995. Environment biology. In: Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta- Barrios (eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO. Rome (Italy): 36 48.

Noblet J., Fortune H., Dubois S. and Henry Y. (1989). Nouvelles méthodes d'estimation de teneur en énergie digestible, métabolisable et nette des aliments pour le porc. INRA ed., Paris. 106p.

Norlyn J.D., 1980. Breeding salt-tolerance crop plants. In Genetics engineering of osmoregulation. Impact on plant productivity for food, chemical, and energy. Eds. DW. Rains, RC. Valentine and A. Hollander. pp 293-309. Plenum, New York.

- O'Farell P. H. (1975).** High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 250:4007-4021.
- Oh T. J., Gorman M. and Cullis C. A. (2000).** RFLP and RAPD mapping in flax (*Linum usitalissimum*). *Theor. Appl. Genet.* 101:590-593.
- Okuno K., Ebana K., Noov B. and Yoshida H. (1998).** Genetic diversity of Central Asian and north Caucasian *Aegilops* species as revealed by RAPD markers. *Genet. Res. Crop Evol.* 45:389-394.
- Orphanos P. I. and Papaconstantinou J. (1969).** The carob varieties of Cyprus. Tech. Bull. 5. Cyprus Agricultural Research Institute. Ministry of Agriculture and Natural Resource, Nicosia.
- Ortiz P. L., Arista M. and Talavera S. (1996).** Produccion de nectar y frecuencia de polinizadores en *Ceratonia siliqua* L. (Caesalpinaceae). *Anales del Jardin Botanico de Madrid* 54:540-546.
- Osmond B.C., 1978.** Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Ann. Rev. Plant Physiology*, 29:379-414.
- Osmond C.B., Bjorkman O. & Anderson D.J., 1980.** Physiological processes in plant ecology. Springer-verlag, Berlin.
- Ouchkif M., 1988.** Étude sur le caroubier. Projet Oued Srou, Appendice n° 8, Direction Provinciale d'Agriculture de Khénifra, Maroc.
- Papanastasis V.P., 2000.** Shrubland management and shrub plantations in Southern Europe. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. I: 54-66.
- Park C., Chang L. S. and Shenk T. (1991).** A polymerase chain reaction mediated by simple primer. Cloning of genomic sequences adjacent to a serotonin receptor protein coding region. *Nucl. Acids Res.* 19:7155-7160.
- Par-Smith G.A., 1982.** Biogeography and evaluation of the shrubby Australian species of *Atriplex*. In: W.R. Barker and P.J. Greensdale (eds.) Evolution of the Flora and Fauna of Arid Australia. Peacock, Freville, S. Australia: 221-299.
- Passos de Carvalho J. (1988).** Carob pollination aspects. Pp. 281-291 in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain.
- Peakall R., Gilmore S., Keys W., Morgante M. and Rafalski A. (1998).** Cross-species amplification of soybean (*Glycine max*) simple sequence repeats (SSRs) within the genus and other legume genera: Implication for the transferability of SSRs in plants. *Mol. Biol. Evol.*

15:1275-1287.

Peltier D., Berville A. et Dulieu H. (1994). Utilisation des RAPD en cartographie génétique et pour l'analyse phénétique. Application à l'étude du genre *Petunia*. In: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotex. Paris, pp. 373-385.

Pernès J. (1984). Gestion des ressources génétiques des plantes. Tom1 et Tom2: Manuel. Agence de Coopération Culturelle et Technique (ed.) Lavoisier, Paris.

Pimienta-Barrios E., 1990. El nopal tunero. Edizioni dell'Università di Guadalajara, Mexico: pp. 246.

Pimienta-Barrios E., 1994. Prickly pear (*Opuntia* spp.): a valuable fruit crop for the semi-arid lands of Mexico. *Journal of Arid Environments*, 28: 1-11.

Pimienta-Barrios E., Muñoz-Urias A., 1995. Domestication of opuntias and cultivated varieties. In: Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta-Barrios (eds.). Agro- ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO. Rome (Italy): 58-63.

Pimienta-Barrios E., Gonzales del Castillo-Aranda M. E., Nobel S.P., 2002. Ecophysiology of wild platyopuntia exposed to prolonged drought. *Environmental and Experimental Botany*, 47: 77-86.

Ponce J.P., 1995. Programa de conservacion y recuperacion del suelo mediante el cultivo de nopal forrajero para el desarrollo sustentable de ganaderia en la Mixteca Poblana. *Atti del 4° Congreso Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal*. Guadalajara, Mexico, 6-10 Noviembre: 69-72. Portolano N., 1970. Innesto ed evoluzione funzionale del tessuto parenchimatico delle cactee. *Italia agricola* 107: 895-900.

Pradeep A. R., Chatterjee S. H. and Nair C. V. (2005). Genetic differentiation induced by selection in an inbred population of the silkworm *Bombyx mori*, revealed by RAPD and ISSR markers systems. *J. Appl. Genet.* 46:219-298.

Pradhan A., prakash S., Mukhopadhyay A. and Pental D. (1992). Phylogeny of Brassica and allied genera based on variation in chloroplast and mitochondrial DNA patterns: molecular and taxonomic classification are incongruous. *Theor. Appl. Genet.* 85:331-340.

Prescott W.H., 1843. La conquista del Messico. Einaudi, Torino.

Preston T.R., Leng R.A., 1987. Matching ruminant production system with available resources in the tropic and sub-tropic. Penambul Books, Armidale, New South Wales, Australia: pp. 246.

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

Priolo A., Waghorn G. C., Lanza M., Biondi L. and Pennisi P. (2000). Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: Effects on

lamb growth performance and meat quality. *J. Anim. Sci.* 78: 810- 816.

Puhan Z. and Wielinga M. W. (1996). Products derived from carob pods with particular emphasis on carob bean gum (CBG). Report Technical Committee of INEC (unpublished).

Qian W., Ge S. and Hong D-Y. (2001). Genetic variation within and among population of a wild rice *Oriza granulata* from China detected RAPD and ISSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 102:440-449.

Quezel P. et Santas S., 1963. Nouvelle flore de l'Algerie et des régions Désertiques Méridionales. Tome 1. Edt. CNRS.Paris.

Ramsay Y. L., Macaulay M., Degli Ivanissevich S., Maclean K., Cardle L., Fuller J., Edwards K. J., Tuverson S., Morgante M., Massari A., Maestri E., Marmiroli N., Sjakste T., Ganal M., Powell W. and Waugh R. (2000). A simple sequence repeat-based linkage map of Barley. *Genetics.* 156:1997-2005.

Rains D.W, 1972. Salt transport by plants in relation to salinity. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 23: 367-388.

Rains D.W., 1982. Developing salt tolerance. *Calif. Agrc.* , 36: 30-31.

Raven P.H., Evert R.F., Eichhorn S.E., 1992. Biology of plants. 5 ed. Worth Publishers, New York: 791.

Reamon-Büttner S. M. and Jung C. (2000). AFLP-derived STS markers tightly linked to the sex locus in *Asparagus officinalis* L. *Theor. Appl. Genet.* 100:432-438.

Reeves G., Francis D., Davies M. S., Rogers H. J. and Hodkinson T. R. (1998). Genome size in negatively correlation with altitude in natural population of *Dactylis glomerata*. *An. Bot.* 82(supplement):99-105.

Reiter R. S., Williams J. G. K., Feldmann K., Rafalski J. A., Tingey S. V. and Scolnik P. A. (1992). Global and local genome mapping in *Arabidopsis thaliana* by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89:1477-1481.

Rejeb M.N., 1989.Mécanismes physiologiques d'adaptation à la sécheresse du caroubier. *Rv Res Amélioration Prod Milieu Aride I* :47-55.

Rejeb M. N., Laffray D. and Louguet P. (1991). Physiologie du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) en Tunisie. Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides, Group d'Etude de l'Arbre, Paris, France. P:417-426.

Rejeb M.N., 1992. Etude des mécanismes de résistance à la sécheresse du caroubier. *RES Améior prod Milieu aride I*: 47-55.

- Rejeb M. N. (1995).** Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration. Dans: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Edit. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris. pp: 79-85.
- Retana J., Ramoneda J. and Garcia del Pino F. (1990).** Importancia de los insectos en la polinización del algarrobo. *Bol. San. Veg. Plagas*, 16:143-150.
- Retana J., Ramoneda J., Garcia del Pino F. and Bosch J. (1994).** Flowering phenology of carob, *Ceratonia siliqua* L. (Caesalpinaceae). *J. Hort. Sci.* 69(1):97-103.
- Rick C.M., 1960.** Hybridation between *Lycopersicon esculentum* and *Solanum pennellii*. Phylogenetic and Cytogenetic signifiante. *Proc. Natl.Acad. Sci. USA.*, 46: 78-82.
- Rick C.M., 1979.** Tomato germplam resources. In proceeding 1st Intern. Symp. Tropical Tomato. Ed: R. Cowel. Pp 214-224. Asian Vegetable Research and Development Center. Pub. 78-59.
- Robert O., Abelard C. and Dedryver F. (1999).** Identification of molecular for the detection of the yellow rust resistance gene Yr17 in wheat. *Molecular Breeding*, 5:167-175.
- Röder M. S., Plaschke J. König S. U., Börner A., Sorrells M. E., Tranksley S. D. and Ganal M. W. (1995).** Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genet.* 246:327-333.
- Rodríguez J. and Frutos D. (1988).** Primeros estudios sobre las poblaciones de algarrobo (*Ceratonia siliqua* L.) en Sureste y Sur de España. Pp. 255-267 in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and Mulet, eds.). Valencia, Spain.
- Rosas M.R., 1989.** El genero *Atriplex* (*Chenopodiaceae*) en Chile. *Gayana Bot.*, 46 (1-2): 3-82.
- Russo F. (1954).** Aspetti biologici e culturali del carrubo in Sicilia. *Ann. Sperimentazione Agraria*, 8: 947-967.
- Sacher R.F., Staples R.C. and Robinson R.W., 1982.** Saline tolerance in hybride of *Lycopersicon esculentum* and *Solanum pennellii* and selected breeding lines. In A San Pietro. Ed: Biosaline Research. A Look of the Future. Plenum, New York, 325-336.
- Sahle M., Coleon J. and Haas C. (1992).** Carob pod (*Ceratonia siliqua*) meal in geese diets. *Brit. Poultry Sci.* 33:531-541.
- Salari C., 1982.** Generalita, caratteristiche chimico-fisiche, propieta e campo di impiego della farina di semi di carruba. Pp. 105-111 in Atti del convegno sul tema "Il carrubo salviamolo". Camera di Comercio Industria Artigianato ed Agricoltura di Ragusa, Ragusa, Italy.
- Samec P. and Nasinec V. (1995).** Detection of DNA polymorphism among pea cultivars using RAPD technique. *Biogia Plantarum.* 37:321-327.

Sankary M.N., 1986. Species distribution and growth in salt effected land of Syria. *Reclamation and Revegetation Research*, 5: 125-143.

Santana O.P., 1992. Tunas Forrajeras (*Opuntia ficus-indica* y *Nopalea cochenillifera*) en el Noroeste Brasileño: una revisión. *Actas del II Congreso Internacional de Tuna y Cochinilla* 22-25 Sep 1992, Santiago, Chile: 126-142.

Sanwal G.G., Krishnan G.J., 1961. The phosphatase of cactus: general properties. *Enzymology*, 23: 51-59.

Sanz-Cortés F., Badens M. L., Paz S., Íñiguez A. and Llácer G. (2001). Molecular Characterization of Olive cultivars using RAPD markers. *J. Amer. Soc Hort. Sci.* 126:7-12.

Saura-Calixto F. J. (1987). Determinación de la composición química de algarroba (*Ceratonia siliqua*), Azúcares, taninos, pectinas y aminoácidos. *Anales de Bromatología.*, XXXIX: 81- 93.

Scheinvar L., 1995. Taxonomy of utilized opuntias. In: Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO. Rome (Italy): 20-27.

Schweinfurth G. (1894). Sammlung arabisch-aethiopischer Pflanzen, Ergebnisse von Reisen in dem Jahren 1881, 1888-89, 1891-92. *Bull. Herb. Boissier* 2:1-114.

Sebastian K. T. and McComb J. A. (1986). A micropropagation system for carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Scientia Hort.* 28:127-131.

Sedra M. H., Lashermes P., Trouslot P., Combes M-C and Hamon S. (1998). Identification and genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties from Morocco using RAPD markers. *Euphytica*. 103:75-82.

Sekri-Pataryas K. H., Mitrakos K. A. and Georgi M. K. (1973). Yields of fungal protein from carob sugars. *Econ. Bot.* 27:311-319.

Sepúlveda E., Sáenz C. H., 1988. Industrialización de la tuna (*Opuntia ficus-indica*). I. Aceite de la semilla. *Alimentos*, 13(1): 35-38.

Serairi-Beji R., Mekki-Zouiten L., Tekaya-Manoubi L., Loueslati M. H., Guemira F. and Ben Mansour. (2000). Can carob powder be used with oral rehydration solution for the treatment of acute diarrhea. *Med. Top.* 60:125.

Sfakiotakis E. M. (1978). Germination in vitro of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pollen. *Z. Pflanzenphysiol.* 89:443-447.

Shang Y. M., Jackson R. C. and Nguyen H. T. (1988). A new banding technique for chromosomes of wheat (*Triticum*) and its relatives. *Cereal Research Communications*. 16 (3-

4):169-174.

Shoop M.C., Alford E.J., Maryland H.F., 1977. Plains prickly pear is good forage for cattle. *Journal Range Management*, 30: 12-16.

Sica M., Graziella G., Montieri S., Gaudio L. and Aceto S. (2005). ISSR markers show differentiation among Italian populations of *Asparagus acutifolius* L. *Gentics*, 6:1-7.

Sidina M.M., El hansali M., Wahid N., Ouatmane A., Boulli A., Haddioui A., 2009 Fruit and seed diversity of domesticated carob (*Ceratonia siliqua* L.) in Morocco. *Scientia Horticulturae* 123: 110-116.

Sidina M.M., EL Hansali M., Boulli A., et Haddioui A., 2011. Characterization and assessment of genetic differentiation in Moroccan carob (*Ceratonia siliqua* L.) using isozymes markers. *IJIB*, Vol.11. No.2, 64.

Silva E., Pereira C. 1976. Aislaciòn y composiciòn de las proteínas de hojas de *Atriplex nummularia* y *A. repanda*. *Ciencia e Investigaciòn Agraria*, 3(4): 169-174.

Silva R.Y.H., Lailhacar S., 2000a. Echanges gazeux instantanés, efficacité de la transpiration et fluorescence de la chlorophylle "a" chez différentes espèces du genre *Atriplex*. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). *Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 403-413.*

Silva R.Y.H., Lailhacar S., 2000b. Relations hydriques chez huit espèces ou provenances d' *Atriplex* installées dans la zone aride Méditerranéenne du Chili. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). *Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 414-421.*

Silva R.Y.H., Lailhacar S., 2000c. Efficacité transpirationnelle au niveau des échanges gazeux chez des espèces du genre *Atriplex* installées dans la zone aride Méditerranéenne du Chili. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). *Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 422-425.*

Sotomayor J.A., Correal E., 2000. Effect of straw supplementation on the *Atriplex halimus* (saltbush) diet consumed by Segureña ewes. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). *Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 558-563.*

Southern E. M. (1975). detection of specific sequences among DNA fragment separated by

gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 98:503-517.

Spencer J.L., 1955. A cytological study of the *Cactaceae* of Puerto Rico. *Botanical Gazette*, 117: 33-37.

Stace C. A. (1989). Plant taxonomy and biosystematics. Distributed in Chapman and Hall Inc. New York, USA.

Stavarek S.J. and Rains D.W., 1984. Cell culture techniques, selection and physiological studies of salt tolerance. In *Salinity tolerance in plants: Strategies for improvement*. Eds. RC Staples and GA Toenniessen. 321-334. Wiley, New York.

Storey R. & Wyn Jones R.G., 1979. Responses of *Atriplex spongiosa* and *suaeda monoica* to salinity. *Plant Physiol.*, 63: 156-162.

Stuessy T. E. (1990). The systematic evolution of comparative data. Columbia Univ. Press, New York, USA.

Sudzuki Hills, F., 1995. Anatomy and morphology. In: Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO. Rome (Italy): 28-35.

Takezaki N. and Nei M. (1996). Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellites DNA. *Genetics*. 144:389-399.

Taiz L., Zeiger E., 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, CA: 565.

Tal M., 1983. Selection for stress tolerance. In *Handbook of plant cell culture, Vol. I. Technique for Propagation and breeding*. Eds. DA. Evans, WR. Sharp, PV. Ammirato and Y. Yamada. Pp 461-488. Mac millan, New Work.

Tal M. and Shannon M.C., 1983. Salt tolerance in the wild relatives of the cultivated Tomato: Response of *Lycopersicon esculentum*, *L. cheesmanii*, *L. peruvianum*, ***Solanum pennellii***, and F₁ hybrid to high salinity. *Aust. J. Plant physiol.* 10: 109-117.

Tautz D. (1989). Hypervariability of simple sequence as a general source for polymorphic DNA markers. *Nuc. Acids Res.* 17:6463-6471.

Tautz D. and Rentz M. (1984). Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eucariotic genome. *Nature*, 322:652-656.

Teoh S. B., Htchinson J. and Miller T. E. (1983). A comparison of chromosomal distribution of cloned repetitive DNA sequences in different *Aegilops* species. *Heredity*. 51:635-641.

Terauchi R. and Kahl G. (1998). Mapping of the *Dioscorea tokoro* genome: AFLP markers linked to sex. *Genome*, 42:752-762.

Thormann C. E., Ferreira M. E., Camargo L. E. A., Tivang J. G. and Osborn T. C. (1994). Comparaison of RFLP and RAPD markers to estimating genetic relationships within and among cruciferous species. *Theor. Appl. Genet.* 88:973-980.

Tien V.D., Ly L.V., Duong N.K., Ogle B., 1993. The prickly pear cactus (*Opuntia elator*) as supplement for sheep in the Phanrang semi-arid area of central region of Vietnam. National Seminar Workshop on sustainable Livestock Production on Local Feed Resources, Hanoli, Vietnam: 71-74.

Ting I. P., 1983. Carbon cycling and crassulacean acid metabolism. The Biology of Desert Plants: Opportunities and Needs of Basic Research. Am. Soc. Plant Physiology. Philip L. Boyd Dep Canyon Desert Research. University of California, Riverside: 20-22.

Titus J.H., Del Moral R., 1998. The role of mycorrhizal fungi and microsites in primary succession on Mount St. Helens. *American Journal of Botany*, 85: 370-375.

Tous J. and Batlle I., 1990. Elalgarrobo, Ed. Mundi. Prensa.

Tous J., Olarte C., Truco M. J. and Arós. (1992). Isozyme polymorphism in carob cultivars. *Hort Science*. 27: 257- 258.

Tous J., Batlle I. and Romero A. (1995). Prospección de variedades de algarrob en Andalucía. *Información Técnica Económica Agraria*. 91V (3):164-174.

Tucker S. C. (1992a). The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae: Ceasalpinoideae: Cassieae). *Am. J. Bot.* 79(3): 367-327.

Tucker S. C. (1992b.) The role of floral development in studies of legume evolution. *Can. J. Bot.* 70:692-700.

Van Heerden J.M., Heydenrych A.J., Botha J.C., 2000a. The production of indigenous and exotic shrubs in the marginal areas of the western cape. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 360-363.

Van Heerden J.M., Heydenrych A.J., Botha J.C., 2000b. The influence of spacing on the production of saltbush in the little Karoo region of the western cape. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. II: 364-365.

Vardar Y., Seçurenand Ö. And Ahmed M. (1972). Preliminary results on the chemical composition of the Turkish carob beans. *Qual. Plant Mater Veg.* XXI (4): 318- 327.

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

- Viana S.P., 1965.** El uso del nopal sin espinas en la alimentacion del ganado. 9° Anales Congreso Internacional de Pasturas. São Paulo, Brazil: 1461-1464.
- Vidal D. (1985).** El troceado como etapa previa al aprovechamiento industrial de la garrofa In Jornadan sobre la garrofa. Liria (Valencia) (unpublished).
- Villalobos V., 1995.** Tissue culture application for *Opuntia* sp. pl. micropropagation. In: Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta-Barrios (eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO. Rome (Italy): 71-77.
- Vinterhalter D., Grubisic D., Bojovic-Cvetic D. and Budimir S. (1992).** Lenticular hypertrophy in shoot culture of *Ceratoina siliqua* L. *Plant Cell Tissue and Organ Cult.* 31:111-114.
- Virk P. S., Newbury H. J., Jackson M. T. and Ford-Lloyd B. V. (1995).** The identification of duplication accession within a rice germplasm collection using RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.* 90:1049-1055.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J, Peleman J., Kuiper M. and Zabeau M. (1995).** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nuc. Acids Res.* 23:4407-4414.
- Wang N., Zhang H., Nobel P.S., 1997.** Phloem-xylem water flow in developing cladodes of *Opuntia ficus-indica* during sink to source transition. *J. Exp. Bot.*, 48: 675-682.
- Waycott W. and Wricke C. (1994).** Diverntiation of nearly idntifical germplasm accessions by a combination of molecular and morphological analysis. *Genome*, 37:575-583.
- Weber W. E. and Wricke G. (1994).** Genetic markers in plants breeding. Advances in plant breeding, Paul Pare Y Scientific Publishers, Berlin. 105p.
- Weedin J.F., Powell A.M., 1978.** Chromosome numbers in Chihuahuan desert *Cactaceae*. *Trans. Pecos Texas. Amer. Journ. Bot.*, 65: 531-537.
- Wei J. Z. and Wang R. R. C. (1995).** Genome and species-specific markers and genome relationships of diploid perennial species in *Triticeae* based on RAPD analysis. *Genomes*, 38:1230-1236.
- Welch Bruce L., 1978.** Relationship of salinity, ash, and crude protein in atriplex canescens. *Journal of Range Management.* 31(2): 132-133.
- Welsh J. and McClelland M. (1990).** Fingerprinting genome using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acids Res.* 18:7213-7218.
- Westmann A. L., Kresovich S. (1997).** Use of molecular marker techniques for description of plant genetic resources. *Biotechnology in agriculture series n°19.* Cab international, Wallingford. New York, 9-48.

- Whiteside L. (1981).** The carob cookbook. Ed. Thorsons Publishers Limited, Wellingborough. Northamptonshire.
- Wiesner I and Wiesnerová D. (2003).** Effect of resolving medium and staining procedure on inter-simple- sequence-repeat (ISSR) patterns in cultivated flax germplasm. *Genet. Res. Crop Evol.* 50:849-853.
- Wilde J., Waugh R. and Powell W. (1992).** Genetic fingerprinting of Theobroma clones using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.* 83:871-877.
- Wilkie S. E., Isaac P. G. and Slatter R. J. (1993).** Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in *Allium*. *Theor. Appl. Genet.* 86:497-504.
- William J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A. and Tingey S. V. (1990).** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Ac. Res.* 18: 6531- 6535.
- Williams C. L., Bollella M., Spack A. and Puder D. (1995).** Soluble fibre enhances the hypocholesterolemic effect and the step I diet in childhood. *J. Am. College Nutr.* 14: 251- 257.
- Wilson A.D., Leigh J.H., Mullaham W.E., 1969.** A study of merino sheep grazing a bladder saltbush (*Atriplex vesicaria*) cotton bush (*Kochia aphilla*) community on the Riverine plain. *Australian Journal of Agricultural Research*, 20: 1123-1136.
- Woodward T.E., Turner W.F., Griffith D., 1951.** Prickly pear feed for dairy cows. *Journal of Agricultural Research*, 4: 405-449.
- Wyn Jones R.G. & Gorham T., 1986.** The commercial exploitation of halophytes. *Span.*,15: 109-111.
- Xu D. H. and Gai J. Y. (2003).** Gentic diversity of wild and cultivated soybeans growing in China revealed by RAPD analysis. *Plant Breeding*, 122:503-506.
- Xu M. L., Melchinger A. E., Xia X. C. and Lübberstedt T. (1999).** High-resolution mapping of loci conferring resistance to sugarcane mosaic virus in maize using RFLP, SSR and AFLP markers. *Molecular and General Genetics.* 261:574-581.
- Yang X. and Quiros C. F. (1993).** Identification and classification of Cerely cultivars with RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 86:205-212.
- Yang W., De Olivera A. C., Godwin I., Schertz K. and Bennetzen J. L. (1996).** Comparison of DANN marker technologies in characterization plant genome diversity: variability in Chinese sorghums. *Crop Sci.* 36:1669-1676.
- Yaron A., Levi L., Benjamin R.W., 1985.** Analysis of shrubs leaves for crude protein content. In: *Fodder Production and its Utilization by Small Ruminant in Arid Regions.* Inst. of Applied Research, Ben Gurion Univ. of the Negev, Beereva:82-92.
- Yee E., Kidwell K. K., Sills G. R. and Lumpkin T. A. (1999).** Diversity among

selected *Vigna angularis* (Azuki) Accession on the basis of RAPD and AFLP markers. *Crop Sci.* 39:268-275.

Zaharieva M., David J., This D. and Monneveux P. (1999). Analyse de la diversité génétique d'*Aegilops geniculata* Roth en Bulgarie. *Cahier Agri.* 8:181-188.

Zhu Z. H., Liu C. Q. and Jiang B. F. (1984). In organic matter and rice, *IRRI, Manila, Philippines*, pp. 259-272.

Zid E., 1970. Influence du chlorure de sodium sur la croissance et la nutrition minérale d'*Atriplex halimus*. Labo. De Physoil. Végét., Fac. Des Sces, Tunis.

Zietkiewicz E., Rafalski A. and Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)- anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics.* 20:176-183.

Zohary M., and Orshan P. (1959). The maquis of *Ceratonia siliqua* in Israel, Palest. *J. Bot. Jerusalem*, 8: 385-397.

Zohary M. (1973). Geobotanical Foundations of the Middle East, 2 vols. Stuttgart.

Zohary M. (1996). Domestications of the carob tree. *In* Proceedings of the III International Carob Symposium. Cabanas-Tavira, Portugal. (in press).

