

République Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Cheick laarbi T'bessi-Tébessa



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

Département : **BIOLOGIE DES ETRES VIVANTS**

Domaine : **Science de la nature et de la vie**

Filière : *Biotechnologie*

Spécialité : *Biotechnologie végétale*

### **MEMOIRE**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Thème**

**Différentes techniques de marquage moléculaire utilisés  
dans l'étude du polymorphismes *d'Atriplex halimus***

Présenté par

**Melle . MABROUK WAFA**

**Melle . AOUAD AMAL**

Devant le jury :

<b>Président</b>	<b>Mr. Maalem souheil</b>	<b>Pr.</b>	<b>Université Larbi Tébessi-Tébessa</b>
<b>Examineur</b>	<b>Mr. Dekak Ahmed</b>	<b>M.C.A</b>	<b>Université Larbi Tébessi-Tébessa</b>
<b>Rapporteur</b>	<b>Mr. Hindel fatmi</b>	<b>M.C.B</b>	<b>Université Larbi Tébessi-Tébessa</b>

Année Universitaire : **2021-2022**

# Remerciements

Après avoir remercié le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force, la volonté et le courage de diriger et terminé ce travail.

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude on notre encadreur Mr Fatmi Hindel

Nous tenons également à remercier les membres du jury d'avoir accepté de ce évaluation

Mémoire.

Merci à tous ceux qui nous ont aidés d'une manière ou d'une autre pour accomplir ce Travail .

## Résumé :

Ce travail , bien que théorique , s'intéresse d'un côté à l'étude de l'*Atriplex halimus* ; sa description, sa morphologie, et ses caractéristiques, et d'un autre côté aux marqueurs biochimiques et génétiques qui ont été utilisés et / ou pourront l'être dans le but d'étudier les différents polymorphismes de l'espèce étudiée.

**Mots clés :** *Atriplex halimus* , marqueurs biochimiques , marqueurs moléculaires , polymorphisme.

## Summary :

This work, although theoretical, is interested on the study of *Atriplex halimus*; description, morphology, characteristics, on the other hand to the biochemical and genetic markers which have been used and/or may be used in order to study the different polymorphisms of this species

**Keywords:** *Atriplex halimus*, biochemical markers, molecular markers, polymorphism.

## ملخص

هذا العمل ، على الرغم من كونه نظريًا ، مهتم من ناحية بدراسة *Atriplex halimus* ؛ وصفه ، وشكله ، وخصائصه ، ومن ناحية أخرى إلى الواسمات البيوكيميائية والوراثية التي تم استخدامها و / أو يمكن استخدامها لدراسة تعدد الأشكال المختلفة لأنواع المدروسة.

**الكلمات المفتاحية:** *Atriplex halimus* ، الواسمات البيوكيميائية ، الواسمات الجزيئية ، تعدد الأشكال

## Table des matières

### Introduction

### Chapitre 1 : *Atriplex halimus*

<b>1. Généralités</b> .....	4
<b>2. La Présentation de l'espèce</b> .....	4
<b>3. La Systématique</b> .....	5
<b>4. Description botanique</b> .....	7
4.1. Répartition géographique .....	7
4.2. Le genre <i>Atriplex</i> .....	8
4.3. Répartition géographique dans le monde .....	9
4.4. Répartition en Algérie .....	9
<b>5. Morphologie de <i>Atriplex halimus</i></b> .....	12
5.1. Touffes .....	12
5.2. Tiges .....	13
5.3. Les feuilles .....	13
5.4. Les fleurs .....	14
5.5. Les graines .....	14
5.6. Le fruit .....	16
<b>6. Utilisation d'<i>Atriplex</i> et les domaines d'applications</b> .....	17
6.1. En médecine .....	17
6.2. En alimentation .....	17
6.3. Arbustes fourragers .....	18
6.4. Autres utilisations .....	18
<b>Chapitre 2 : les marqueurs moléculaires.</b>	
<b>1. Introduction</b> .....	20
<b>2. Historique</b> .....	20

<b>3. Marqueurs morphologiques</b> .....	21
<b>4. Marqueurs biochimiques</b> .....	21
4.1. Les Allozymes .....	21
<b>5. Marqueurs génétiques</b> .....	22
<b>6. Présentation d'un bon marqueur</b> .....	22
<b>7. Marqueurs génétiques moléculaires</b> .....	23
<b>8. Les différents types de marqueurs moléculaires</b> .....	23
8. 1. Marqueurs dominants révélés en masse (marqueurs anonymes) .....	23
8. 2. Marqueurs Co dominants révélés individuellement .....	24
8. 3. Marqueurs révèlés par la technique PCR .....	24
8.4. Les principales sources de marqueurs moléculaires .....	24
8.4.1. Critères de classification .....	24
8.4.2. Marqueur de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). .....	26
8.4.3. Technique PCR-SSR .....	27
8.4.4. Marqueur de type RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) .....	29
8.4.5. les marqueurs AFLP .....	31
8.4.6. Marqueur de type SSRs (Simple Sequence Repeats) ou Microsatellites .....	32
<b>9. Utilisations des marqueurs</b> .....	34
<b>10. Polymorphisme et variabilité biologique</b> .....	36
<b>11. Diversité des Atriplex</b> .....	36
<b>12. Diversité génétique</b> .....	37
<b>13. Marquage moléculaire</b> .....	38
<b>14 . Chez les <i>Atriplex</i></b> .....	39
<b>Conclusion</b>	
<b>Références Bibliographiques</b>	

## Liste Des Tableaux

Numéro	Titre	Page
1	La classification de l'espèce <i>Atriplex halimus</i> L. dans le règne végétal	6
2	Nombre approximatif des espèces d' <i>Atriplex</i> dans diverses régions et pays arides et semiarides du monde	9
3	Répartition des différent esespèces d' <i>Atriplex</i> dans l 'Algérie	10
4	Classification des techniques de marquage moléculaire	25
5	Avantages et inconvénients des marqueurs SSR	34
6	Comparaison entre différents types des marqueurs RFLP, AFLP et SSR	35

## Liste Des Figures

Numéro	Titre	Page
1	Plantes d'Atriplex halimus : sous-espèce schweinfurthii (à gauche) et halimus (à droite)	7
2	Répartition de l'Atriplex halimus en Algérie	11
3	Plant d'Atriplex halimus .L	12
4	Tige d'Atriplex halimus .L	13
5	Feuilles d'Atriplex halimus .L	14
6	fleurs d'Atriplex halimus .L	15
7	Graines d'Atriplex halimus	16
8	Fruits d'Atriplex halimus .L	16
9	polymorphisme de longueur des fragments d'amplification(RFLP)	27
10	La technique d'amplification (PCR)	28
11	La détection d'un polymorphisme de répétition (SSR)	29
12	ADN Polymorphe au hasard (RAPD)	30
13	Polymorphisme de longueur des fragments d'amplification (AFLP)	32
14	Polymorphisme de nombre d'unités de répétition (SSR)	33

## Liste des abréviations

**PCR** : Polymerase chain reaction

**RFLP** : Polymorphisme de longueur des fragments de restriction

**RAPD** : Amplification aléatoire d'ADN polymorphe

**SNP** : Single nucleotide polymorphisme

**SSR** : Simple Sequence Repeat.

**AFLP** : Amplified Fragment Length Polymorphisme

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique complémentaire



## Introduction

Les plantes du genre *Atriplex* se rencontrent dans la plupart des régions du globe.

Elles appartiennent à la famille des Chénopodiaceae, et se caractérisent par leur grande diversité.

Elles se présentent également caractéristique des régions arides où le phénomène de désertification prend des dimensions alarmantes (Le Houérou H. N. 1992)

L'espèce *Atriplex halimus* comprend deux sous-espèces distinctes qui diffèrent par leur morphologie (densité de feuillage et longueur des rameaux florifères) et loge écologique .

*L'Atriplex halimus* L . présente un polymorphisme important qui se manifeste au niveau de la dimension et la forme des feuilles, des valves fructifères et des graines, ce polymorphisme est probablement en relation avec sa grande aptitude écologique (Anonyme, 2015)

La description de la diversité génétique (variabilité génétique) à différents niveaux hiérarchiques d'organisations peut grandement bénéficier à la biologie des populations et à la biologie de l'évolution. Cette discipline contribue à un concept intégré de la conservation de la biodiversité. Ainsi, l'information génétique est devenue un outil important pour l'étude de la variabilité génétique, et aussi pour la biologie de la conservation, au même titre que les considérations écologiques, éthiques et économiques.

Pour maintenir la diversité génétique (intra- interspécifique) il est nécessaire de décrire la diversité actuelle à l'intérieur et entre les populations des différentes espèces de plantes, mais également la dynamique de cette diversité génétique, afin d'appréhender les mécanismes de son évolution (Grivet, 2002).

L'amélioration des plantes (Eagles et al ., 2001 ; Dekkers et Hospital, 2002) est basée sur l'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, Le développement des marqueurs moléculaires durant les dernières années offre la possibilité d'établir de nouvelles approches pour améliorer les stratégies de sélection. Ces dernières années, l'utilisation de marqueurs moléculaires en identification variétale a connu un développement spectaculaire. Les marqueurs moléculaires offrent en effet l'opportunité de contourner les difficultés liées aux observations morphologiques en identifiant des variétés directement à partir de leur ADN(empreintesgénétiques).

Malgré que plusieurs études ont traité la botanique du genre *Atriplex* et l'espèce *A. halimus* spécialement, il reste beaucoup de point de litiges ; tel que la caractérisation de la morphologie florale, la forme des fruits et sa contenance en graine.

Ce travail comporte :

- ✓ Un premier chapitre : aperçu sur *l'Atriplex halimus*
- ✓ un deuxième chapitre ou on s'intéresse aux marqueur moléculaire et le utilisation chez l *Atriplex halimus L*

*Chapitre 1 : Atriplex halimus*

## 1. Généralités :

Selon (BENDAANOUN ,1981) la diversité des différents types de peuplements halophytes est spécialement liée aux conditions écologiques des biotopes qu'ils colonisent (salinité, érosion, vent, sécheresse, sols peu profond ou mobiles).

Parmi les espèces halophytes les plus ou moins vulgarisées, qui présentent un réel intérêt pratique : *Atriplex halimus*, *Atriplex canescens*, *Atriplex mollis*, *Atriplex glauca*, *Atriplex nummularia* (LEHOUEOU et PONTANIER, 1988).

Le genre *Atriplex* est le plus grand et le plus diversifié de la famille des Chénopodiacées réparties dans les régions tempérées et subtropicales ; 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).

Les *Atriplex* des sons espèces très appréciées par les camélidés, supportent bien les conditions climatiques et pédologiques des régions arides et semi-arides mais leur aire de répartition se réduit de plus en plus, par suite de surpâturage et de manque de stratégie de gestions de ces parcours (BENCHAABANE, 1997).

*Atriplex halimus* est une espèce steppique des zones salées qui s'installe aussi sur littoral où les conditions sont favorables.

Cette plante est polymorphe elle se trouve dans les rocailles, les talus argileux et les zones d'épandage plus ou moins salées (QUEZEL ET SANTA, 1963).

## 2. La Présentation de l'espèce

*L'Atriplex halimus* (*Saltbush* méditerranéen) (Ortiz-Dorda et al., 2005), (synonymes: *A. vestita* ou *A. capensis*) (Anonyme, 2000), est un arbuste vivace ((Haddioui & Baaziz, 2001) ,halophyte (Martinez et al., 2003), natif d'Afrique du Nord où il est très abondant (Kinet et al., 1998) ; Il est classé second après l'espèce australienne *A. nummularia* pour la superficie occupée (Henry N Le Houérou, 2000), Il s'étend également aux zones littorales méditerranéennes de l'Europe et aux terres intérieures gypso-salines d'Espagne. *Atriplex halimus* L.

est un arbuste fourrager autochtone qui tolère bien les conditions d'aridité (sécheresse, salinité, etc.) (Souayah et al., 1998), peut être trouvé dans la zone intertidale des déserts côtiers et les habitats intérieurs sec-salins (E. P. Glenn & Brown, 1998).

D'autre part, que cette espèce est plus adaptée aux différentes contraintes climatiques (gelées du printemps et stress hydrique et salin en été) de la zone steppique (Rahmoune et al., 2000). Cette espèce peut contribuer à la valorisation des sols marginaux et dégradés et à l'amélioration des productions végétale et animale dans plusieurs régions démunies (H N Le Houérou, 1992). De plus, elle appartient aux espèces d'*Atriplex* les plus appétibles pour le bétail dans les zones arides du WANA (Tiedeman et Chouki, 1989), 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 (Mulas & Mulas, 2004).

L'espèce *Atriplex halimus* présente deux sous-espèces distinctes qui diffèrent par leur morphologie (densité de feuillage et longueur des rameaux florifères) et loge écologique (Ahmed et al., 1996), *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 (Mulas & Mulas, 2004).

Plusieurs espèces du genre *Atriplex* ont fait l'objet de travaux de recherche. Les premiers travaux ont porté sur l'aspect fourragère et la nutrition minérale, la résistance et la tolérance à la salinité et à la sécheresse (H N Le Houérou, 1992).

Les expériences menées en laboratoire sur *Atriplex halimus* et les observations faites sur le terrain laissent penser que cette espèce était une halophyte facultative (Waiselet Pollaek, 1972 ; Le Houérou, 1992 ; Bajji et al., 1998 ; Martínez et al., 2003).

Il constitue la base d'une nouvelle agronomie pour les zones arides (Abbad et al., 2003; Benrebaha, 1987).

*L'Atriplex halimus* est l'espèce xéro-halophyte méditerranéenne de haute résistance à la sécheresse (Henry N Le Houérou, 2000), à la salinité (Bajji et al., 1998), et au stress des métaux lourds (Lutts et al., 2003).

### 3. La Systématique:

L'espèce *Atriplex halimus* est une plante halophyle (Pottier, 1981 ; Ben Ahmed et al.,1996), se trouve à l'intérieur du genre *Atriplex* (Bajji et al., 1998), qui est le plus grand et le plus diversifié de la famille des Chenopodiaceae (Mulas & Mulas, 2004).

A cette famille appartiennent environ cent genres qui peuvent être divisés ,suivant la forme de l'embryon :Cyclobae, qui présente un embryon en forme de fer à cheval ou en demi-cercle comprenant l'endosperme en entier ou en partie .A cette tribu appartient le genre *Atriplex*(Rosas, 1989).

L'embranchement des Spermaphytes renferme la quasi-totalité des végétaux d'intérêt agronomique (Messaili, 1995). *L'Atriplex halimus* est une plante fourragère importante des zones arides méditerranéennes (Pierre Dutuit et al., 1994). Selon Grenet (1997), les plantes fourragères s'appartiennent au sous embranchement des Angiospermes, qui renferme des végétaux très variés.

**Tableau 01** : La classification de l'espèce *Atriplex halimus* L. dans le règne végétal est la suivante

(Quezel et Santa, 1963 ; Dupont et Guignard, 2007).

<b>Embranchement</b>	<b>Spermaphytes (Phanérogames)</b>
<b>Sous-embranchement.</b>	Angiosperme
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous- classe.</b>	Apétales
<b>Ordre</b>	Centrospermales
<b>Famille</b>	Amaranthaceae (Chénopodiacées)
<b>Genre</b>	<i>Atriplex</i>
<b>Espèce</b>	<i>Atriplex halimus</i> L.

Noms vernaculaires: Pourpier de mer, Aramass (Quezel et Santa, 1963), Guettaf en Algérie et Chenane en Maroc (Ozenda, 2004)



**Figure n°01:** . Plantes d'*Atriplex halimus* : sous-espèce *schweinfurthii* (à gauche) et *halimus* (à droite)  
(Walker et al., 2014)

#### **4 . Description botanique**

Les chénopodiacées forment une vaste famille de 1400 espèces présentes partout dans le monde. Ce sont pour la plupart des plantes herbacées ou arbustives, principalement avec des feuilles alternes, parfois opposées. Très souvent, les feuilles et la tige sont succulentes. Cela vient que beaucoup d'espèces sont des espèces halophiles et thermophiles. Les fleurs des chénopodiacées sont généralement minuscules et verdâtres. Elles sont groupées en épis, en grappes ou en panicules lâche.

Les principaux genres de chénopodiacées sont *Beta* (bette), *Chenopodium* (chénopodes), *Halimione* et *Atriplex* (arroches), *Salicornia* (salicornes), *Sueda* et *Salsola* (soudes) (Stanley et al.,2003).

##### **4.1. Répartition géographique**

La large répartition géographique de la famille, se trouvant simultanément dans les déserts d'Eurasie et d'Australie, est indicatrice de son ancienneté.

Des fossiles de pollen appartenant à des *Chenopodiaceae* ont été datés du Maastrichtien, ce sont les plus anciens fossiles de toutes les *Caryophylliidae*.

Des études moléculaires et morphologiques ont montré que les *Chenopodiaceae* étaient très proches des *Amaranthaceae*, et, selon certains, les deux familles peuvent être fusionnées.

## 4.2. Le genre *Atriplex*

Les halophytes sont des plantes naturellement adaptées aux milieux salés (Flowers et al., 1986). De point de vue écologique les halophytes sont classées en trois catégories:

- Les halophytes proprement dit: tolèrent des taux relativement faibles, de 40 à 100 Mm dans une solution de sol.
- Les euhalophytes: pouvant supporter des concentrations salines de l'ordre de 100 à 500 mm, tel que *Atriplex pp.*
- Les hyperhalophytes: se développant à des concentrations salines excédant celles de l'eau de mer, tel que *Suedaspp*, *Salicorniaspp* (Le Houérou, 1993).

*L'Atriplex*, l'une des espèces dotée d'un grand polymorphisme lié à sa diversité d'habitat (Le Houérou, 1992), sont des plantes arbustes vivaces appartenant à la famille des chénopodiacée Ces arbustes sont considérés comme des plantes fourragère.

Les espèces *d'Atriplex* qui ont suscité un intérêt particulier sont: *Atriplex halimus*; *Atriplex glauca*; *Atriplex malvana*; *repanda*; *atacamensis*; *mollis*; *semibaccata*; *canescens*; *vesicaria*.

Mais il existe environ cinq espèces seulement présentant un réel rôle pratique dans un avenir immédiat. Il renferme plusieurs espèces distinguables par leur morphologie, leur cycle de développement et par leur adaptation écologique.

Elles sont réparties dans la plupart des régions du globe et leur nombre total est estimé à 400 espèces dont 48 sont propres aux régions du bassin méditerranéen (Mâalem al., 2011).

Ce sont des Xero halophytes capables a évolué naturellement dans les écosystèmes salés.

Cependant, dans la phase de germination, elles restent sensible au stress salin comme le reste des plantes (Mâalem et al., 2010).

*L'Atriplex* est un type fréquent dans beaucoup de régions arides et semi-arides, dans les zones sèches dans le monde, surtout dans les habitats qui combinent la salinité et la sécheresse des sols. et donc forme un utile matériel à tous les mécanismes physiologiques impliqués dans Résistance au stress salin (Kachout et al., 2016).



### 4.3. Répartition géographique dans le monde

Les plantes du genre *Atriplex* sont présentes dans la plupart des régions du globe.

Le nombre approximatif, de ces espèces, dans divers régions et pays arides et semis arides du monde, est récapitulé dans le tableau 01 ci-dessous (Mâalem, 2011).

**Tableau 02:** Nombre approximatif des espèces *d'Atriplex* dans diverses régions et pays arides et semiarides du monde (Bouchoukh, 2010 ; Bouchoul et Hezla, 2017).

Pays ou régions	Nombre d'espèces et/ou sous espèces	Pays ou régions	Nombre d'espèces et/ou sous-espèces
États unis	110	Baja Californie	25
Australie	78	(Mexique)	22
Bassin médité	50	Afrique du nord	20
Europe	40	Texas	20
URSS	40	Afrique du sud	20
Proche orient	36	Iran	18
Mexique	35	Syrie	17
Argentine	35	Palestine / Jordanie	17
Californie	32	Algérie / Tunisie	16
Chili	30	Bolivie / Pérou	
<b>A.rosea</b>	A.mollis		
<b>A.tatarica</b>	A.portulacoides		
<b>A.tornabeni</b>			

### 4.4. Répartition en Algérie

En Algérie, *Atriplex* est spontané dans les étages bioclimatiques semi-arides et arides des plus grandes superficies correspondent aux zones dites steppiques (Batna, Biskra, Boussaâda, Djelfa, Saïda, M'sila, Tébessa, Tiaret) (Berri, 2008). En Algérie, les chercheurs ont dénombré 13 espèces natives dont cinq pérennes et huit annuelles (tableau 03) (Qezel et Santa, 1962).

**Tableau 03:** Répartition des différentes espèces d'*Atriplex* dans l'Algérie (QezeletSanta, 1962; Bouchoulet Hezla, 2017).

<b>Espèces</b>	<b>Nom</b>	<b>Localisation</b>
<b>Annuelles</b> (Différent généralement par la forme des feuilles, du port et des valves fructifères)	<i>A.chenopodioides</i> Batt	Bouhanifia (Mascara) (très rare).
	<i>A.littoralis</i> L.	Environ d'Alger (rare).
	<i>A.hastata</i> L	Assez commune dans le Tell et très rare ailleurs.
	<i>A.patula</i> L.	Assez commune dans le Tell et très rare à Aflou.
	<i>A.tatarica</i> L.	Annaba et Stif (très rare)
	<i>A.rosea</i> L	Biskra et sur le littoral d'Alger et d'Oran (très rare)
	<i>A.dimorphostegia</i>	Sahara septentrional (assez commune), sahara central(rare).
<b>Vivaces</b> (Différent généralement par la forme des feuilles, la taille de l'arbrisseau, le port des tiges et l'aspect du périanthe).	<i>A.tornabeni</i> Tineo.	Sahel d'Alger, Golfe D'Arzew (très rare)
	<i>A.portulacoides</i> L.	Assez commune dans le Tell
	<i>A.halimus</i> L.	commune dans toutes l'Algérie.
	<i>A.mollis</i> Desf	Biskra et Oued –el-khir (très rare)
	<i>A.coriacca</i> Forsk.	rare)
	<i>A. glauca</i> L.	Commune en Algérie

Des résultats consignés dans le tableau 4 souligne le taux moyen de trois espèces *Atriplex* (Yahiaoui et al., 2014).



**Figure n°02:** : Répartition de *Atriplex halimus* en Algérie (Bouchoucha et Ouazeta, 2018)

## 5. Morphologie de *Atriplex halimus*

Selon la morphologie *Atriplex halimus* se divise en deux sous espèces:

- ✓ *Atriplex halimus* L. *halimus*: est généralement plus feuillée et se rencontre sur les zones du littoral semi-aride à humide.
- ✓ *Atriplex halimus* L. *scweinfurthii*: est caractérisée par des rameaux florifères dépourvus de feuilles; c'est une sous espèce des zones arides et désertiques (Franclet et LeHouerou,1971).
- ✓ *L'Atriplex halimus* L. est un arbuste fourrager autochtone qui tolère bien les conditions d'aridité (sécheresse, salinité,...) (Souayah et al, 1998).

### 5.1.Touffes

Cette espèce se développe en touffes très denses de plusieurs mètres de circonférence et de 2-3 m de hauteur à un aspect général blanc argenté. Les rameaux dressés portent des feuilles alternes à pétioles courts et très variables de formes et de dimensions.

La plante adulte est très ramifiée, ayant un aspect blanc argenté, à tige dressé d'une couleur blanche-grisâtre, à racine blanchâtre s'orientant horizontalement pivotante en surface atteindre 3 à 5 fois la longueur de tige (Benrebiha.,1987).

*L'Atriplex halimus* L. subsp.*halimus* se rencontre en région littorale semi-aride a humide ; c'est un arbuste généralement plus feuillu, au port érigé, très ramifié, pouvant atteindre trois mètres de haut (Ben Ahmed et al, 1996).



**Figure n°03:** Plant d'*Atriplex halimus* .L <https://www.florealpes.com>

## 5.2. Tiges :

Facilement identifiable grâce à son habitus droit caractéristique et aux branches fructifères très courtes (20 cm) et recouvertes de feuilles (Walkers et al ,2014 ; Walker et Lutts ,2014), C'est un arbuste dont le feuillage présente un aspect blanc-argenté, pouvant atteindre un à deux mètres de hauteur.

L'écorce a une coloration gris-blanchâtre et les tiges sont ligneuses(.Bonnier G et Douin R. (1996) .

La tige est très rameuse glauque argentée multicaule plus ou moins anguleuse, formé des touffes pouvant atteindre 1 à 3m de diamètre. Il est très polymorphe, son port peut être dressé, érige ou intriqué, les rameaux portent des grappes allongées portant des grains (Gouge - A, 2005).



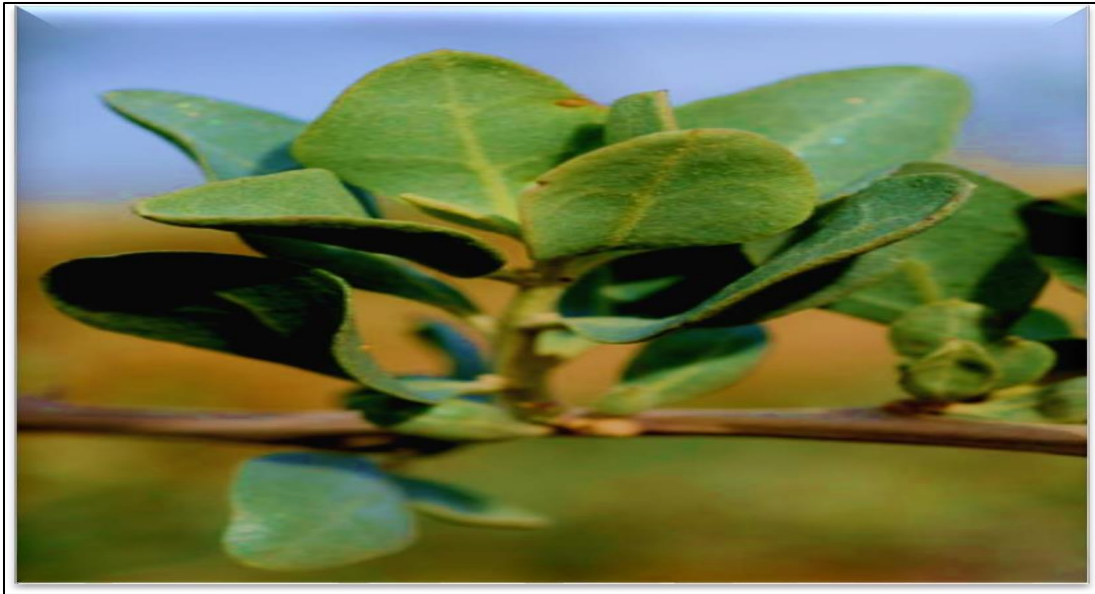
**Figure n°04:** Tige d'*Atriplex halimus* .L <https://www.florealpes.com>

## 5.3. Les feuilles

Les feuilles sont persistantes de 2 à 6 cm de long, alternes simples entières, avec un court pétiole, ovale arrondie lorsqu'elles sont jeunes triangulaires plus ou moins lancéolées ensuite, vertes argentés et plus ou moins charnus, luisantes couvertes de poils vésiculaires très riche en sel (Duperat,1997).

Elles sont alternes, pétiolées, ovales, plus au moins charnues et couvertes de poils vésiculeux blanchâtre ou globuleux appelés trichomes (Franclet et Le Houérou, 1971). Elles peuvent être entières ou légèrement sinuées, parfois aiguées au sommet et trinervées (Mozafar et Goodin, 1970).

Une variabilité dans la morphologie des poils vésiculeux est également signalée chez *Atriplex halimus* le poil est globuleux. (Franclet et Le Houérou, 1971).



**Figure n°05:** Feuilles d'*Atriplex halimus* .L <https://www.florealpes.com>

#### **5.4. Les fleurs**

L'inflorescence est monoïque, en panicule d'épis, terminale et nue. La valve fructifère est cornée à la base.

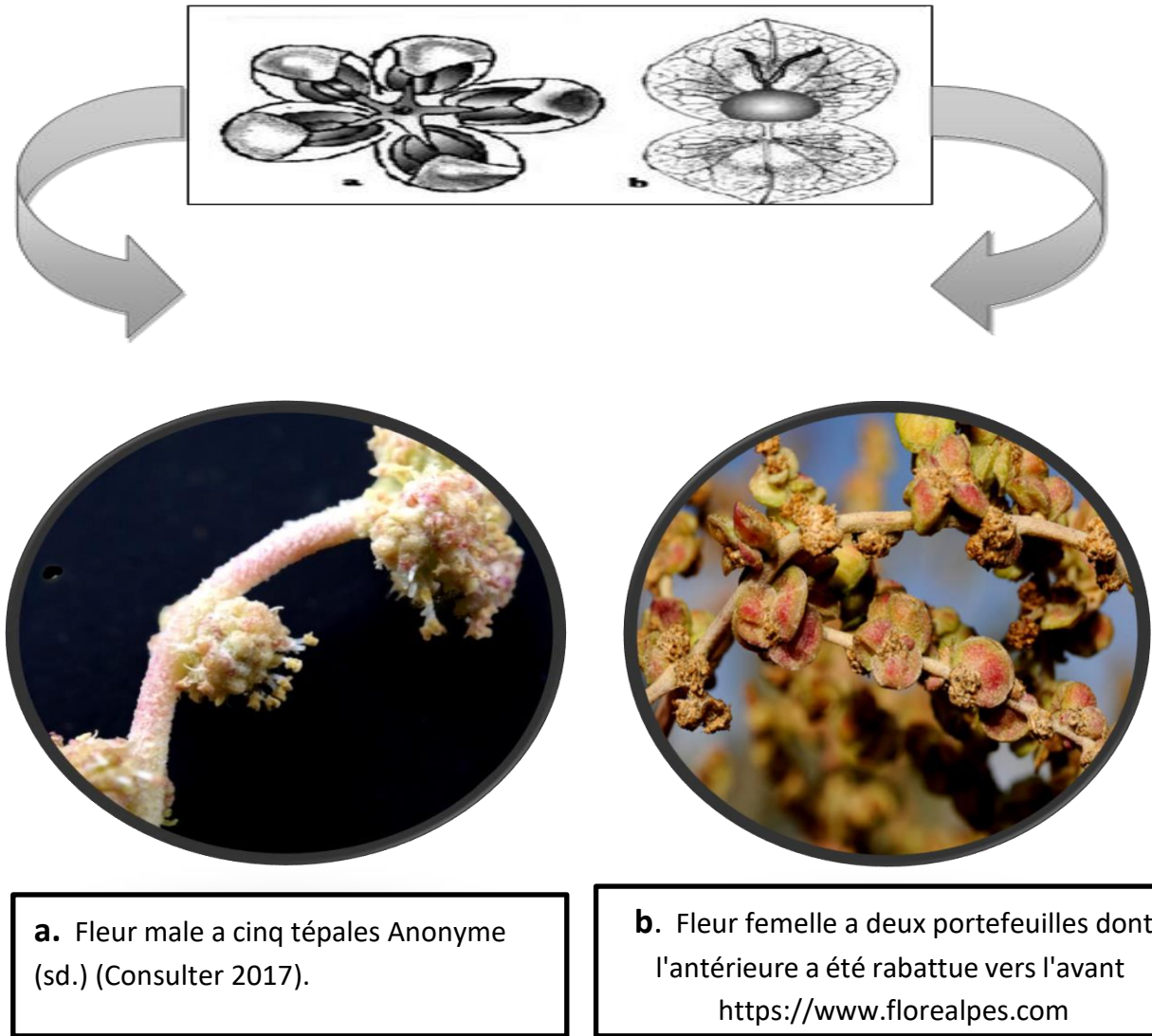
(Talamali et *al.*2001) ont observé une grande variabilité dans la structure des fleurs, même au sein de populations très réduites, telles des plantes maintenues en collection dans des conditions contrôlées.

Il existerait deux types d'architecture florale de base : l'une est constituée de fleurs mâles pentamères et l'autre, de fleurs femelles munies d'un unique carpelle inséré entre deux bractées opposées (Talamali et *al.*, 2003).

Les fleurs monoïques, jaunâtres sont réunies en épis et panicules terminales plus ou moins denses.

Les rameaux florifères sont défeuillés au niveau des panicules. Les valves fructifères sont coriaces, réniformes (Ben Ahmed et *al.*1996).

En ce qui concerne les valves fructifères, on décèle la présence de plusieurs formes : lisses à marges entières (*Atriplex halimus* var. *halimus*) ou dentées (*Atriplex halimus* var. *Schweinfurthii*) (Franclet et Le Houérou, 1971).



**a.** Fleur male a cinq tépales Anonyme (sd.) (Consulter 2017).

**b.** Fleur femelle a deux portefeilles dont l'antérieure a été rabattue vers l'avant <https://www.florealpes.com>

**Figure n°06:** fleurs d'*Atriplex halimus* .L <https://www.florealpes.com>

### 5.5. Les graines

Les graines, comprimées latéralement, ont un diamètre de 0,9 à 1,1 mm (Castroviejo et al, 1990).

La dormance apparente des graines est liée à la présence des deux bractées entourant l'ovaire qui accumulent des substances inhibitrices de la germination (Khadre, 1994).

Toutefois, Baji et al. (2002) ont démontré que le taux maximal de germination pouvait s'observer en l'absence de sel en conditions contrôlées.

La graine est entourée du péricarpe membraneux de 2mm de diamètre, aplatie en une disposée suivant les genres dans un plan vertical ou horizontal (Quezel et Santa, 1962).

L'orientation de la disposition de la graine est importante à examiner pour séparer les genres.

La graine est d'une teinte roussâtre

(Francllet et Le Houérou, 1971, Quezel et Santa, 1962, Mesbah,1998 ; in Maalem, 2002).

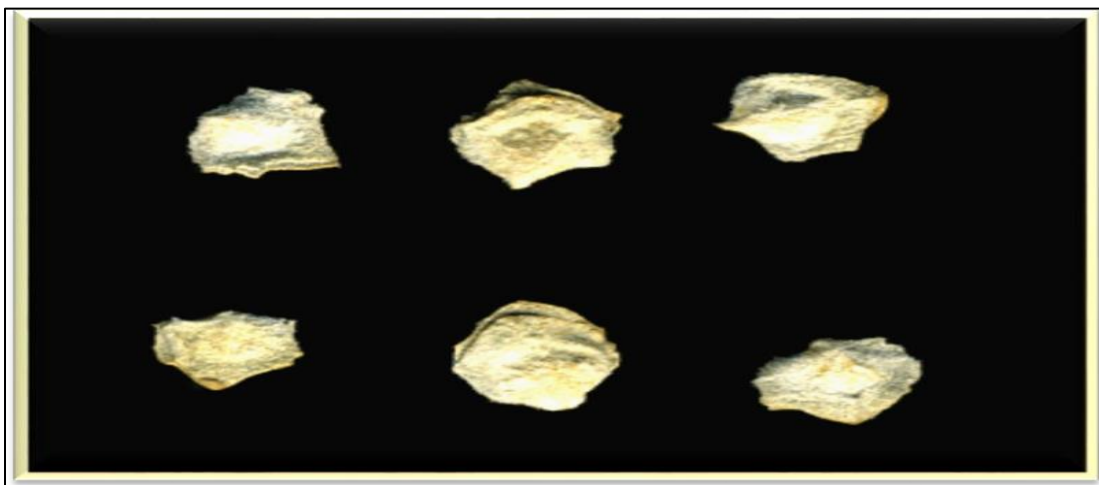


**Figure n°07:** Graines d'*Atriplex halimus* .

#### 5.6.Le fruit

Le fruit est membraneux, composé par les deux bractéoles indurées ou entières, lisse ou tuberculeuses, farineuses pubescentes ou velues, droites ou récurvées (Ozenda, 1983).

Les fruits d'*Atriplex* sont très broutés par les herbivores (Ozenda, 1982- 1964).



**Figure n°08:** Fruits d'*Atriplex halimus* .LOzanda P.(1983) .



## **6. Utilisation d'*Atriplex* et les domaines d'applications**

### **6.1. En médecine**

Les phytothérapeutes d'Arabe indigène utilisent les feuilles pour traiter les maladies cardiaques, le diabète (décoction) et le rhumatisme (Walker et al., 2014).

*A. halimus* est également utilisée pour soigner les inflammations des voies urinaires (cystites) et les lithiases urinaires (Belouad, 2001; Emam, 2011).

En effet les feuilles d'*A. halimus* sont utilisées, en décoction, contre les calculs rénaux (Ghourri et al., 2013).

Grâce à leurs propriétés anti oxydantes, certains flavonoïdes ont un effet protecteur des tissus du foie contre le cancer (Emam, 2011).

### **6.2. En alimentation**

*L'Atriplex halimus* est un arbuste réputé pour la valeur nutritive et énergétique de ses feuilles tendres comme aliment pour les nomades et la population locale steppique, en effet, au printemps, dans plusieurs régions en Algérie (Djelfa) et en Tunisie (Gabès).

Les jeunes pousses de Guettaf sont consommées par l'homme, en le préparant comme des épinards, bien que l'âcreté provoquée par une élimination insuffisante de saponines pendant la cuisson ne rend pas cet aliment très savoureux, sa consommation reste très acceptable par la population locale (Francelet et LeHouérou, 1971).

Les feuilles de l'arroche marine sont consommées crues dans les salades, dans certains pays d'Europe. Elles peuvent aussi être cuites à la vapeur ou à la poêle.

Dans la région de Gafsa en Tunisie, elles servent à la préparation d'un couscous spécial, le bethboutha. Dans les zones arides d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient, elle constitue un fourrage très apprécié du bétail(notamment pour les dromadaires).

Les feuilles sont riches en protéines, vitamines C, A et D et en chrome. Une autre arroche était connue dans l'antiquité. Ce que Dioscoride (médecin, pharmacologue et botaniste) décrit sous le nom grec d'atraxaxis (atra noir, phaxis poil) comme un végétal cultivé dans les jardins, pourrait être l'arroche des jardins (*Atriplex hortensis*).

En application, elle servait à traiter les inflammations.

Graines – cuites : Il peut être broyé dans un repas et utilisé comme épaississant dans les soupes, ou mélangé avec des céréales pour faire du pain. La graine est petite et délicate.

La plante donnerait une manne comestible.

### **6.3. Arbustes fourragers**

*L'Atriplex halimus* est un arbuste autochtone présente un grand intérêt comme une plante fourragère dans les régions arides et semi-arides en raison de sa rusticité, sa bonne valeur fourragère, sa résistance élevée à la sécheresse, sa faculté de tolérer des taux de salinité importants, le maintien de son feuillage vert durant toute l'année et sa tolérance au pâturage.

L'*Atriplex halimus* est riche en protéines, il constitue une source importante en matière azotée pour le cheptel, essentiellement en période de disette (El-Shatnawi et turuk, 2002).

Sa culture pourrait être envisagée comme source de fourrage dans les zones de grande fragilité écologique.

### **6.4 Autres utilisations**

Les cendres de la plante brûlée sont utilisées comme alcali dans la fabrication du savon.

La plante fait une superbe haie résistante au vent à faible croissance qui peut être laissée pousser non taillée ou peut être taillée.

Il est particulièrement précieux dans les zones maritimes, réussissant directement sur la côte, mais peut également être utilisé à l'intérieur des terres.

La plante est extrêmement tolérante à la taille et peut repousser même lorsqu'elle est coupée en vieux bois.

La plante tire le sel du sol et a donc été utilisée dans des projets de régénération du sol pour désaliniserle sol.

(El-Shatnawi et turuk, 2002).

*Chapitre 2 : les marqueurs  
moléculaires.*

## 1. Introduction :

Les marqueurs moléculaires renseignent sur le génotype d'un individu et ne sont pas modifiés par l'environnement. Ils peuvent être utilisés tout au long d'une expérimentation et sont observables à n'importe quel stade de développement de la plante et sur n'importe quel organe (l'information génétique de la plante est contenue en totalité dans toutes les cellules).

Les principaux types de marqueurs génétiques utilisés sont :

- Les marqueurs biochimiques (isozyme, protéine).
- Les protéines d'une cellule végétale peuvent facilement être extraites et analysées.
- Les marqueurs biochimiques les plus utilisés sont les isozymes.
- Ils correspondent aux différentes formes d'une même enzyme et permettent de déterminer la présence de l'allèle correspondant à chacune de ces formes. Dans ce sens, ce sont des révélateurs du polymorphisme entre individus pour les séquences codantes du génome.
- Les marqueurs moléculaires d'ADN. Ce sont les plus étudiés.

Ces marqueurs sont des séquences codantes ou non, présentant un polymorphisme selon les individus.

Par les techniques de biologie moléculaire, plusieurs outils ont été développés, permettant d'obtenir directement à partir des marqueurs polymorphes de l'ADN des plantes.

- Les plus utilisés sont les marqueurs **RFLP, RAPD, AFLP** et les microsatellites (Diallo.2002).

## 2. Historique :

Historiquement, les premiers marqueurs disponibles ont été les marqueurs morphologiques. Chez les légumineuses, la couleur des fleurs chez la luzerne (*Medicago sativa*), le trèfle violet (*Trifolium pratense*) et le lotier cornicule (*Lotus corniculatus*), le nanisme chez la luzerne, le sens d'enroulement des gousses chez *M.truncatula*,

les taches foliaires chez le trèfle violet et chez *M.truncatula* servent de marqueurs. Puis les marqueurs biochimiques (ou isoenzymes) basés sur des différences de poids moléculaires de protéines ayant une activité enzymatique ont été mis au point.

Ils ont l'avantage d'être Co dominants et l'inconvénient d'être peu nombreux (Julier et al., 2003). Durant les années 80, les marqueurs moléculaires (marqueurs génétiques) liés à l'ADN ont remplacé progressivement les marqueurs visuels ou enzymatiques.

Ils offrent en effet plusieurs avantages : ils peuvent être utilisés tout le long de l'expérimentation et sont observable à n'importe quel stade de développement de la plante et sur n'importe quel organe (Vedele et Loudet, 2001).

### **3. Marqueurs morphologiques :**

Dans les programmes de sélection des plantes, les caractères morphologiques sont les premiers à être observés. Ces caractères intéressent diverses parties de la plante, par exemple longueur des tiges, surface foliaire, initiation de la floraison (Cui et al., 2001 ; Gomez et al., 2004).

Ces caractères sont utilisés également pour estimer la variation intra et inter populations. 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).

### **4. Marqueurs biochimiques**

Les marqueurs biochimiques ont été les premiers marqueurs avoir été mis en œuvre pour étudier la variabilité génétique (Harry, 2001).

#### **4.1. Les Allozymes.**

Les marqueurs biochimiques dont les allozymes, ont été utilisés pour caractériser la diversité génétique de plusieurs plantes.

Les allozymes sont des formes moléculaires distinctes d'une enzyme chez un même organisme et ayant la même activité catalytique.

Leur origine est due à une mutation au niveau de l'acide aminé qui affecte la charge totale de la protéine sans affecter le site catalytique.

Leur révélation se fait par séparation électrophorétique des protéines et puis une coloration des enzymes.

Des populations naturelles tunisiennes de *M.ciliaris* et *M.intertexta* ont été évaluées pour leur polymorphisme génétique à l'aide de 7 systèmes enzymatiques.

Six locus polymorphes ont été distingués permettant une analyse du polymorphisme génétique existant entre ces deux espèces annuelles (Abdelkefi et al., 1997).

La diversité génétique d'espèces annuelles de pois chiche a été étudiée par (Labadi et al., 1996) à l'aide de marqueurs enzymatiques. Ces marqueurs ont également été utilisés en combinaison avec des marqueurs morphologiques pour comparer la structuration de la diversité génétique chez *M.sativa* (Jenczewski et al., 1999).

Les allozymes ont l'inconvénient d'être lourds et difficiles à manipuler, de même qu'ils présentent une reproductibilité assez faible.

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

## **5. Marqueurs génétiques**

On appelle un marqueur génétique tout marqueur biochimique, chromosomique ou moléculaire qui permet de révéler un polymorphisme.

L'analyse biochimique des protéines ou moléculaire du gène donne accès à des polymorphismes sans traduction perceptible à l'échelle morphologique ou physiologique et permet de percevoir, à cette échelle, un polymorphisme génétique non perceptible à l'échelle de l'organisme (Serre, 2006).

L'identification de formes de polymorphismes dans les espèces peut aider à comprendre leur distribution et leur évolution historique et aussi bien leurs mécanismes d'interaction et leur coévolutions avec les autres espèces (De Moraes et al., 2007).

## **6. Présentation d'un bon marqueur:**

Selon De vienne (1999) un marqueur génétique idéal doit être :

- Polymorphe : la matière première du généticien est la variabilité,
- Multi-allélique : c'est-à-dire possédant plusieurs allèles (donc des séquences d'ADN différentes) sur un même locus (Plomion 2003).
- Co-dominant : l'hétérozygote présente simultanément les caractères des deux parents homozygotes, il peut être distingué de chacun des homozygotes parentaux.
- Non épistatique : son génotype peut être "lu" à partir de son phénotype quel que soit le génotype aux autre locus.

La codominance et le non épistasie peuvent être respectivement définis comme l'absence d'interaction intra et inter locus.

- Neutre : les substitutions allélique au locus marqueur n'ont pas d'autre effets phénotypiques (et donc éventuellement sélectifs) que ceux qui permettent de déterminer son génotype. Dans leur très grande majorité les polymorphismes moléculaires sont neutres

- Insensible au milieu : le génotype peut être inféré à partir du phénotype quel que soit le milieu (De vienne 1998).

## **7. Marqueurs génétiques moléculaires.**

Les marqueurs moléculaires correspondent à des différences nucléotidiques existant au niveau de la molécule d'ADN (d'où le terme moléculaire), des techniques de biologie moléculaire permettent de révéler ce polymorphisme de séquences.

Ces différences entre allèles peuvent correspondre à des mutations ponctuelles (substitutions, insertion, délétion), des réarrangements chromosomiques, ou des mutations silencieuses (sans effet sur l'expression du locus), comme elles peuvent se trouver dans des régions codantes ou non codantes.

Les possibles variations tissulaires temporelles ou environnementales de l'expression des séquences sont sans effet sur leur détectabilité.

Elles sont en majorité sans effet phénotypique (Samouelian et al., 2009).

Les caractères moléculaires sont de bons marqueurs génétiques : ils révèlent directement la nature génétique de l'information.

Ceci les différencie des caractères morphologiques, physiologiques et plus généralement de tous les caractères phénotypiques, dus à une addition d'effets génétiques et non-génétiques.

Cet aspect génétique leur confère un avantage du point de vue de la reconstruction de la phylogénie, par rapport aux caractères classiques utilisés en systématique.

## **8 . Les différents types de marqueurs moléculaires :**

Il existe plusieurs types de marqueurs que l'on peut classer en fonction du polymorphisme qu'ils détectent. Certaines techniques ont l'avantage de révéler de nombreux fragments simultanément, ce sont des techniques de révélation en « en masse » de polymorphisme.

Il existe aussi des stratégies permettant de détecter du polymorphisme de façon individuelle. Elles nécessitent une certaine connaissance de la séquence d'ADN, comme pour la fabrication des sondes RFLP.

Les marqueurs moléculaires se divisent en deux catégories, indépendamment de la technique utilisée, les marqueurs dominants et les marqueurs Co dominants (Falque et Santoni, 2004)

### **8. 1. Marqueurs dominants révélés en masse (marqueurs anonymes)**

Les marqueurs révélés en masse sont très utilisés puisque ils permettent de découvrir de nombreux locus sans nécessiter au préalable de connaissance concernant la séquence du génome.

De plus, ils sont faciles et rapides à mettre en œuvre.

Outre les marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), basés sur le polymorphisme de position de sites de restriction d'enzymes (Colwyn et al., 1995),

les plus utilisées sont les marqueurs RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), sont basés sur l'amplification PCR à partir d'une amorce arbitraire, révélant ainsi un polymorphisme de séquence (Williams , et al., 1990 ; Vroh Bi et al., 1997).

Les marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) peuvent détecter un polymorphisme de séquence lié à l'emplacement de sites de restriction et ils nécessitent des techniques d'hybridation de sondes (Bodstein et al., 1980).

## **8. 2 Marqueurs Co dominants révélés individuellement**

Les marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism): peuvent détecter un polymorphisme de séquence lié à l'emplacement de sites de restriction et ils nécessitent des techniques d'hybridations de sondes (**Bodstein et al., 1980**).

Alors que les marqueurs SSR (Short Sequence Repeat) renferment les deux catégories de marqueurs, selon la technique utilisée pour leur révélation. Un autre type de marqueur appelé SNP (single Nucleotide Polymorphism) vient d'être mis en point et permet de rechercher un polymorphisme d'un seul nucléotide.

## **8. 3 Marqueurs révèlés par la technique PCR:**

Le développement de la technique « réaction chaîne polymérase » ou PCR offre l'avantage d'analyser les marqueurs moléculaires en un temps court tout en utilisant des concentrations faibles d'ADN.

Les marqueurs basés sur la technique PCR tendent à remplacer les systèmes classiques (les marqueurs morphologiques, isoenzymes et RFLP).

Parmi les marqueurs moléculaires qui peuvent être révélés par la technique PCR, on note les SSR ou bien les microsatellites qui font l'objet de ce travail.

## **8.4 Les principales sources de marqueurs moléculaires .**

### **8.4.1. Critères de classification**

Sur le plan moléculaire, on peut classer le polymorphisme en trois catégories :

Le polymorphisme de séquence, d'insertion-délétion, et de nombre d'unités de répétitions dans les régions répétées (De vienne, 1998)(**Tableau 04**).

En dehors du cas particulier des ADN répétées (colonne de droite), il n'y a pas de technique spécifique pour révéler le polymorphisme d'insertion-délétion : celui-ci est mis en évidence par les techniques de révélation des différences de séquences.

Lorsqu'un polymorphisme est observé, on ne peut donc savoir quelle est son origine sans expériences complémentaires.

Sur le plan génétique, cette ambiguïté n'a aucune importance, l'essentiel étant d'avoir accès à des locus polymorphes, quelle que soit l'origine de ce polymorphisme.



**Tableau 04:** Classification des techniques de marquage moléculaire

Critère génétique	Critère moléculaire			
	Séquence (et insertion-délétion <sup>o</sup> a)		Nombre de répétitions dans les ADN répétés	
	Différence recherchée	Technique	Taille de l'unité de répétition	Technique
<b>Co dominants et révélés individuellement</b>	Site d'enzyme de restriction(ER)	_RFLP _PCR ciblée puis CAPS	1 à 4 nucléotides (microsatellites)	PCR ciblée puis électrophorèse en acrylamide ou agarose
	Conformation	PCR ciblée puis SSCP		
	Stabilité	PCR ciblée puis D/TGGE		
<b>Dominants et révélés «en niasse» («empreintes génétiques»)</b>	Site d'hybridation d'une amorce arbitraire	MMAAP _RAPD _AP PCR _DAF	1 à 4 nucléotides (microsatellites)	ISSR (amorce microsatellite quelques base arbitraires)
	Sites ER et amorce arbitraire	_AFLP _tec MAAP	5à > 100 nucléotides (minisatellites)	Southern avec sonde minisatellite

#### **8.4.2 Marqueur de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).**

La technique RFLP développée par (Botstein et al. (1980)) repose sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction,

les marqueurs RFLP combinent l'utilisation d'enzymes de restriction et de sondes génétiques et permet de révéler des mutations présentes au niveau de l'ADN.

Le principe du RFLP consiste à soumettre l'ADN d'un individu à l'action d'enzymes qui coupent l'ADN à des sites très précis.

Une multitude de fragments d'ADN de tailles variables est générée par digestion enzymatique, puis séparée sur gel d'agarose et transférée par capillarité sous forme dénaturée sur une membrane de nylon. S'il survient un changement de la séquence dans un site de restriction, l'enzyme ne le reconnaît pas et elle ira couper le site suivant.

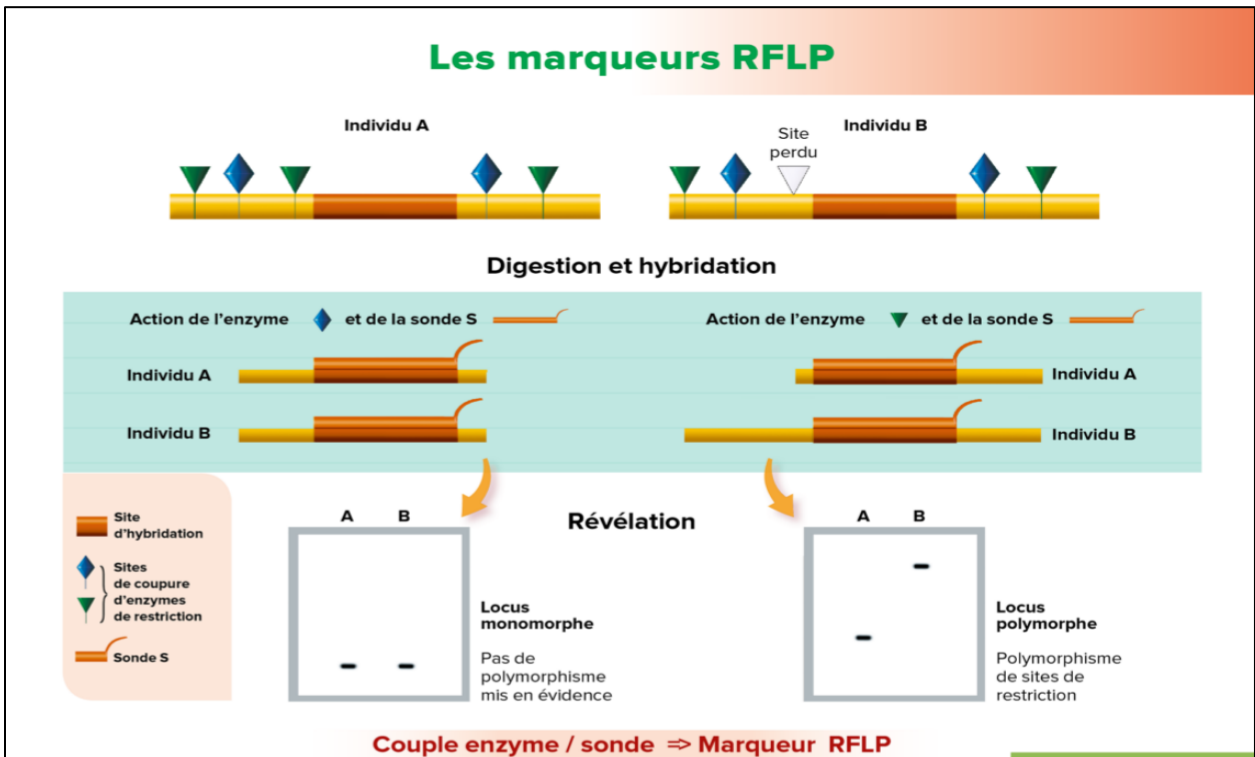
Donc, le polymorphisme observé entre deux individus est basé sur la différence qui existe dans la longueur des fragments obtenus après la digestion enzymatique.

Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de site de restriction) et/ou à des délétions/insertions d'un fragment d'ADN au voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde.

C'est le couple enzyme/sonde qui constitue le marqueur.

Les RFLP sont dits Co-dominants parce qu'ils distinguent entre les organismes hétérozygotes et homozygotes. Un organisme hétérozygote à un locus (Aa) présentera deux fragments de tailles différentes alors qu'un seul fragment ne sera visible pour organisme homozygote (AA ou aa).

Bien que cette technique soit Co-dominante et permet une analyse génétique complète, elle est lente et laborieuse. Les étapes de transfert et d'hybridation empêchent une automatisation du travail.



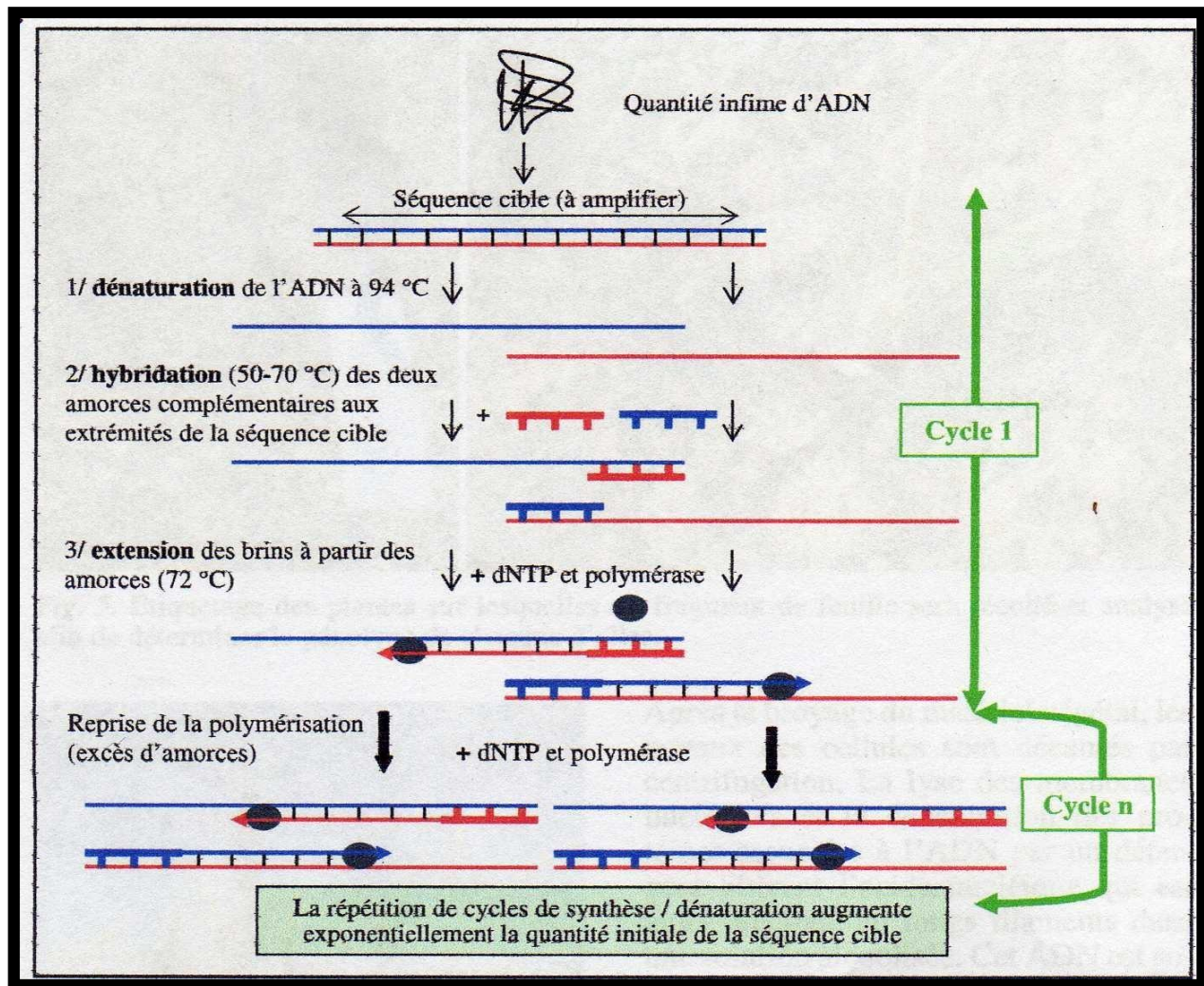
**Figure 09 :** polymorphisme de longueur des fragments d’amplification(RFLP) (Anonyme 01 2010).

### 8.4.3. Technique PCR-SSR

Grâce à la technique PCR et l’automatisation de cette dernière, l’utilisation de ces marqueurs SSR a considérablement augmenté, ainsi que leur détection (Schlotterer, 2004) .

La plupart du temps, des polymorphismes de séquence sont révélés au sein d’un fragment d’ADN amplifié par PCR à partir de l’ADN génomique total de l’individu à analyser, à l’aide d’une paire d’amorces spécifiques des extrémités de la région à étudier.

La PCR, est basée sur l’utilisation d’une enzyme l’ADN polymérase thermorésistante. des produits amplifiés est estimée par électrophorèse sur gel d’agarose ou d’acrylamide (Figure 10).



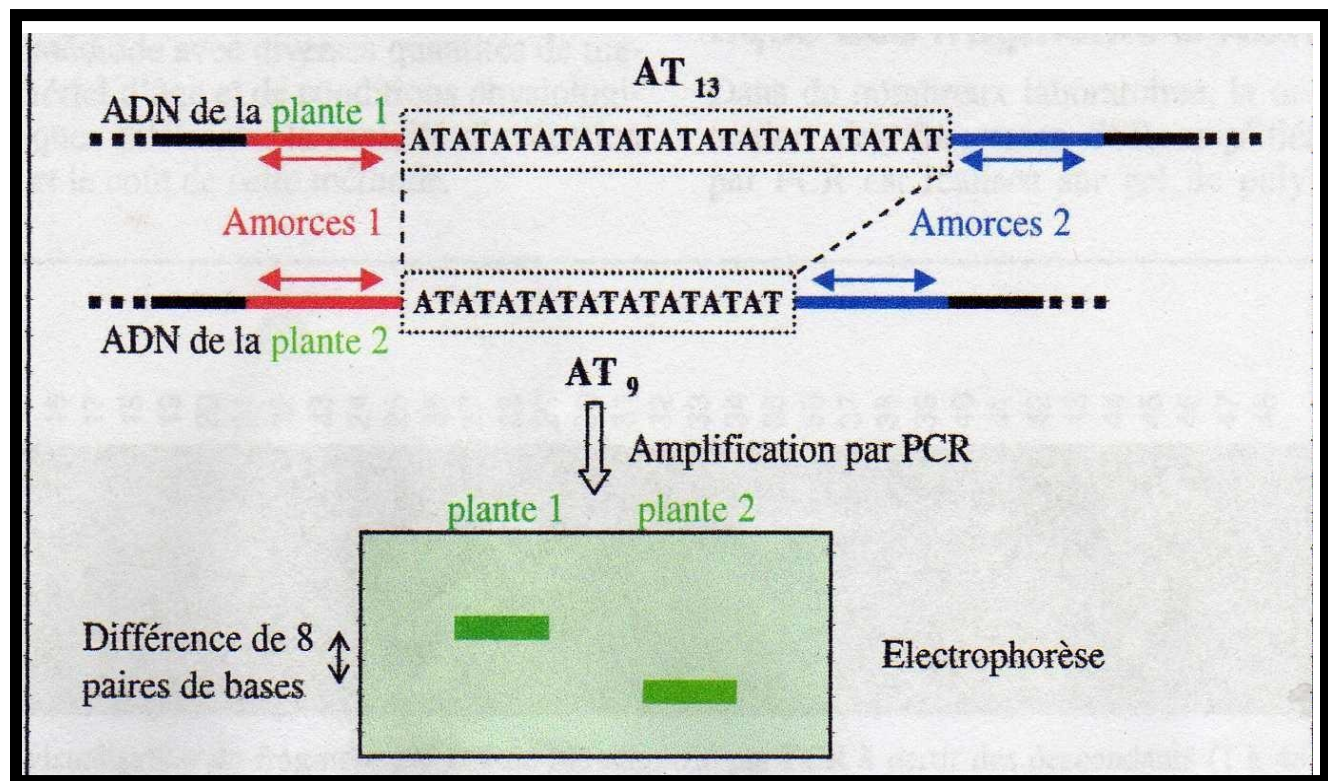
**Figure 10** : La technique d'amplification (PCR) (Moulet et al., 2009).

Un très grand nombre de copies d'un fragment d'ADN est synthétisé si l'enzyme dispose de petits morceaux d'ADN simple brin (amorces) complémentaires des deux extrémités de la séquence que l'on veut copier. La réaction est rendue cyclique grâce à des variations de température, et chaque brin néoformé peut servir de matrice pour synthèse au cycle suivant.

L'amplification de cette séquence est donc exponentielle.

Ces éléments sont uniformément répartis sur l'ensemble du génome d'une espèce et présentent un taux de polymorphisme élevé. Ce polymorphisme repose sur la variation du nombre d'unités de répétitions constituant le microsatellite.

Les séquences bordant ces éléments répétées permettent de définir les amorces pour l'amplification par PCR. La taille



**Figure 11** : La détection d'un polymorphisme de répétition (SSR) (Moulet et al., 2009).

#### 8.4.4. Marqueur de type RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

La technique RAPD-PCR a été mise au point en 1990 par William et al. Welsh et Mc Clelland. Elle est basée sur la réaction d'amplification en chaîne (PCR) de séquences prises au hasard d'ADN génomique.

Cette technique repose sur l'utilisation de courtes paires d'amorces généralement de 5 à 15 Pb de longueur.

Une amorce RAPD permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des locus dominants.

Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose.

Le polymorphisme détecté en RAPD se situe au niveau des sites d'appariement d'une amorce sur le brin d'ADN.

Lors de la réaction PCR, les amorces mises en présence de l'ADN dénaturé d'un organisme, vont s'apparier à deux sites différents situés sur les deux brins complémentaires.

Dans cette réaction, les amorces oligo-nucléotides de séquence aléatoire fonctionnent dans les deux sens (forward / reverse) de génome à une température constante d'hybridation (Williams et al. 1993). Le

polymorphisme observé se traduit par la présence ou l'absence de bande chez les différents géotypes (Adam et Dron 1993).

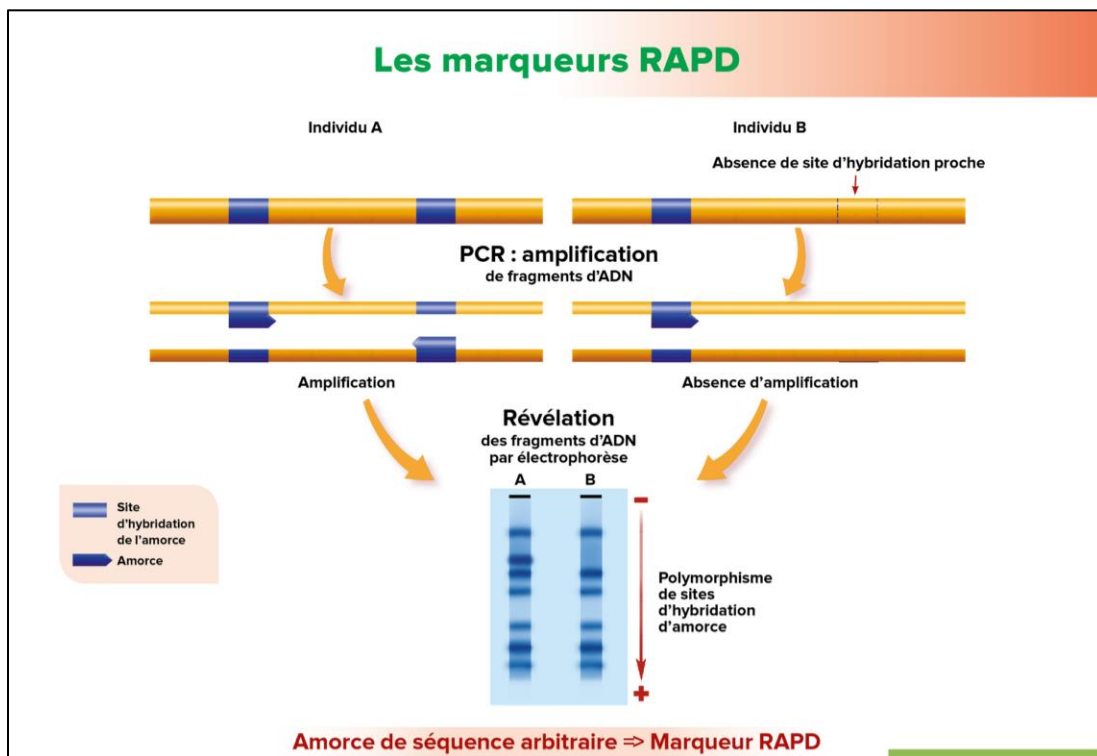
Le polymorphisme décelé est dû à des mutations (un changement nucléotidique qui empêche l'appariement de l'amorce) soit une délétion du site d'appariement de celle-ci ou encore d'une insertion de nucléotides qui fait en sorte d'augmenter la longueur du segment entre les deux sites d'appariement ne permettant pas l'amplification.

En conséquence, un polymorphisme de présence/absence sera observé. Dans certains cas on peut observer un manque de reproductibilité de ces marqueurs (Williams et al. 1990).

Toutefois, lorsqu'un marqueur RAPD a été identifié il est aisé de le transformer en un marqueur SCAR (Sequence characterized amplified region) qui est spécifique à une région de l'ADN.

Les marqueurs RAPD ont été utilisés chez plusieurs espèces pour l'analyse de la diversité génétique, la caractérisation de ressources génétiques, l'identification de cultivars et la cartographie des génomes. Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique.

Elle constitue un moyen rapide et efficace pour réaliser des screening en génétique moléculaire en s'appuyant sur la technique PCR.



**Figure 12 : ADN Polymorphe au hasard (RAPD) (Anonyme 01 2010)**

#### **8.4.5. les marqueurs AFLP**

La technique AFLP (Amplified Fragments Length Polymorphism) est une variante de la PCR développée par Vos et ses collaborateurs en 1995.

Cette technique est basée sur la détection par des amplifications sélectives de fragments d'ADN génomique digérés.

Les ADN génomiques sont doublement digérés par des endonucléases et les fragments obtenus sont sujets à une ligation avec des adaptateurs spécifiques. Les produits de la ligation sont ensuite amplifiés sélectivement moyennant des amorces complémentaires aux adaptateurs utilisés.

Les produits de la PCR sont séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide dénaturé et révélés par radiographie ou bien avec le nitrate d'argent. Ces marqueurs se sont révélés très informatifs et ont permis de révéler jusqu'à 16 fois plus de loci que les marqueurs RFLP.

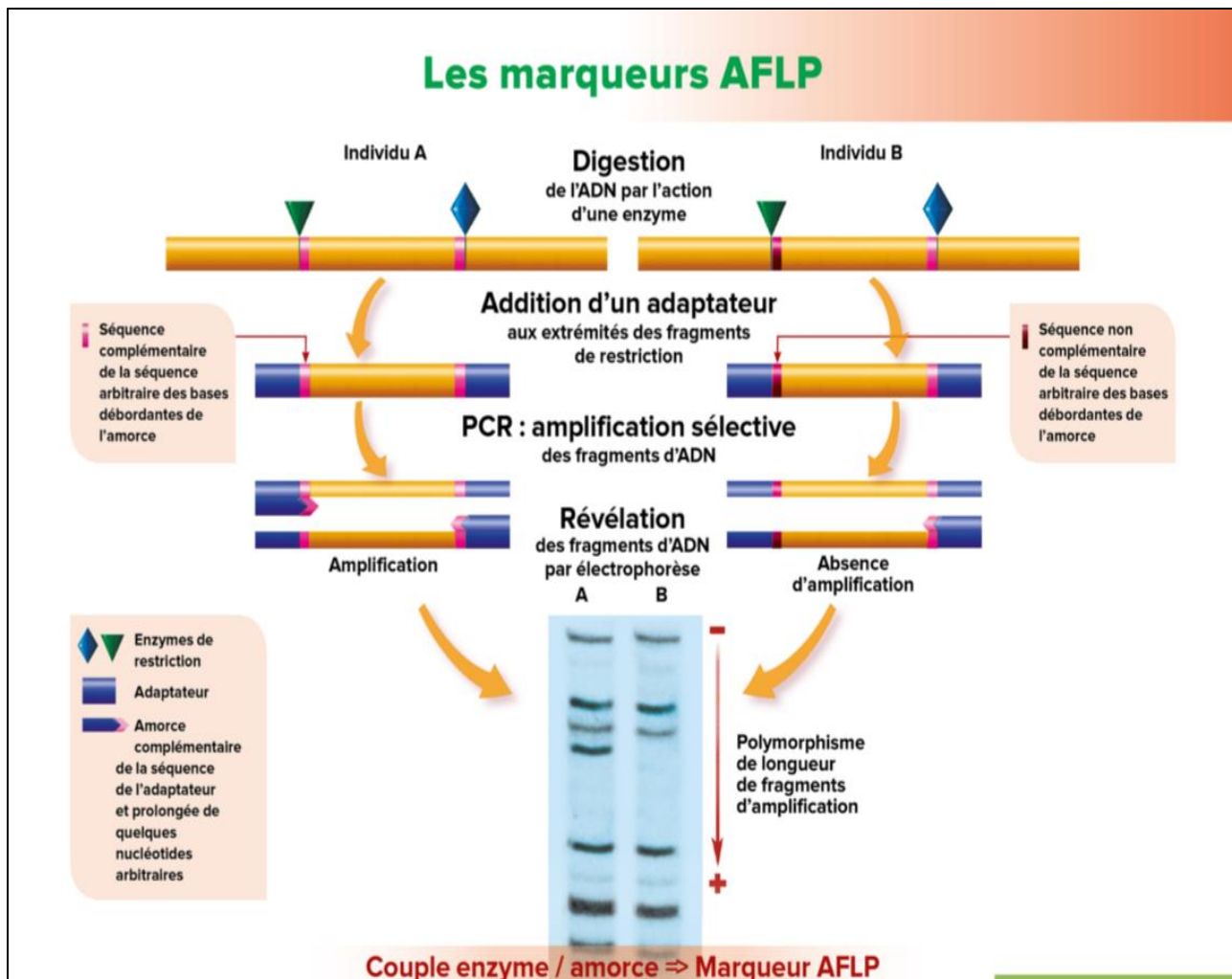
Cette technique a été largement utilisée pour la détection du polymorphisme génétique et la détermination des liaisons en analysant des individus de populations isolées.

Les AFLP ont été largement utilisés dans l'étude de plusieurs plantes cultivées, comme le cas de l'orge (Becker et al., 1995 ; Qi et al., 1998 ; Shan et al., 1999), le riz (Mackill et al., 1996)...etc.

Les marqueurs AFLP ont contribué à l'étude de la diversité génétique chez plusieurs espèces de tournesol (Ebrahimi, 2008).

Ces marqueurs ont permis de révéler quatre fois plus de polymorphisme que les marqueurs RAPD et ISSR et aussi de séparer les espèces du nouveau monde et ceux de l'ancien monde (Talhinhas et al., 2003).

Les marqueurs AFLP ont été aussi utilisés dans les études de relations phylogénétiques entre deux espèces de lupin *L.lupinus* et *L.cosentinii* et les résultats obtenus suggèrent que cette technique est très efficace pour la caractérisation du germplasma de lupin (Qi et al., 1998).



**Figure 13:** Polymorphisme de longueur des fragments d'amplification (AFLP) (Gnispedagogie).

#### 8.4.6. Marqueur de type SSRs (Simple Sequence Repeats) ou Microsatellites.

Le terme microsatellite a été inventé par Litt et Luty (1989), également appelé séquences simples répétées (SSR). Se sont des éléments d'ADN qui se répètent plusieurs fois à différents endroits (séquences de di-, tri- ou tétra- nucléotides répétés en tandem) chez tous les organismes, à la fois les eucaryotes et les procaryotes. Les séquences répétées sont souvent simples, de taille de 1 à 6 paires de bases et ils sont présents dans les deux régions codantes et non codantes. Ces régions flanquantes tendent à être conservées à l'intérieur de l'espèce (Settiet al. 2011).

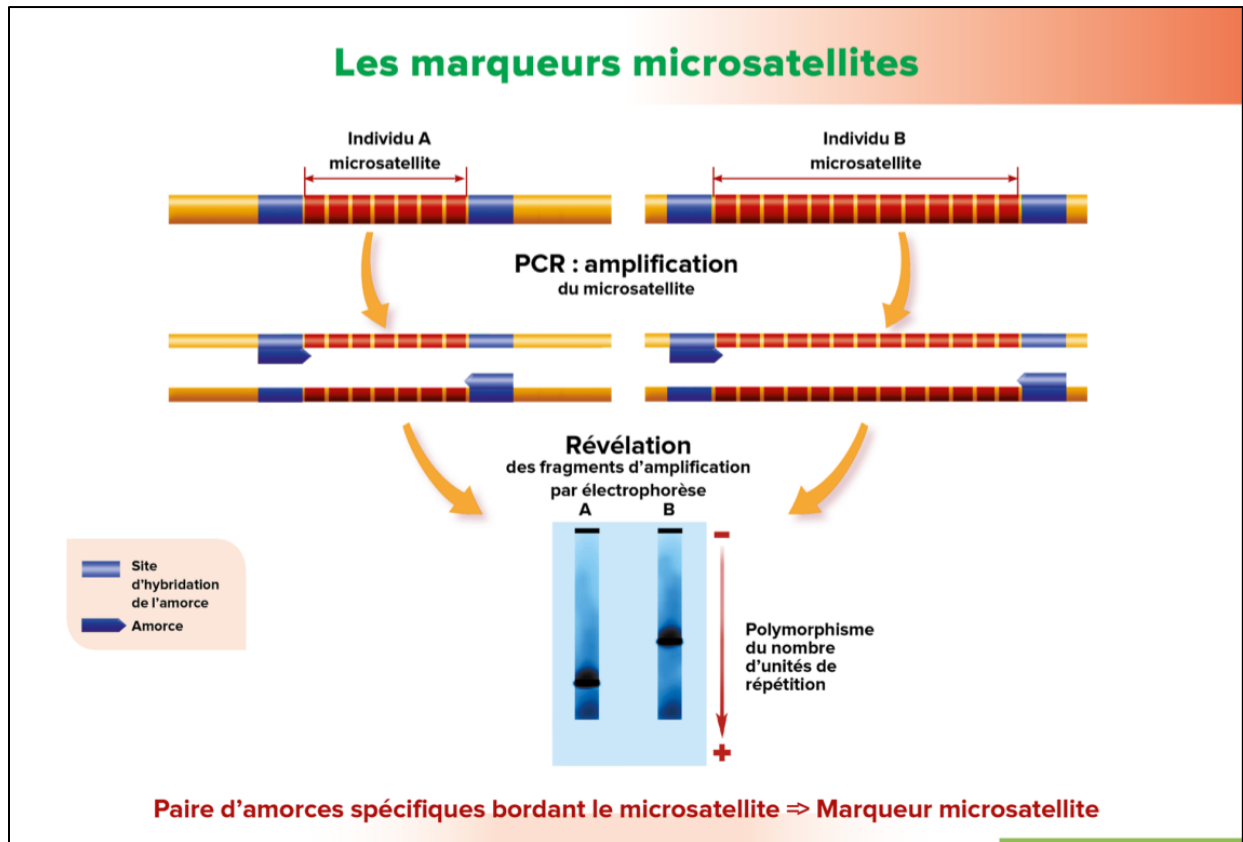
Les microsatellites présentent un taux de polymorphisme élevé, qui repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant ces derniers (Najimi et al. 2003).

Les polymorphismes sont identifiés en construisant des amorces PCR dans la région adjacente de la région microsatellite (Hajeer et al. 2000). C'est la paire d'amorces spécifique des bordures droite et gauche du



microsatellite qui constitue le marqueur.

L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide.



**Figure 14** : Polymorphisme de nombre d'unités de répétition (SSR) (Anonyme 012010).

études de la diversité génétique de nombreux agents phytopathogènes (Dutech et al. 2007, Bahri et al. 2009, Unartngam et al. 2011).

Ainsi que dans l'élaboration des cartes génétiques des plantes (Röder et al. 1995, Westman et Kresovich 1999).

Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, Co dominants et aisés d'utilisation), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde.

En effet, leur production doit passer d'abord par le clonage et le séquençage de ces éléments répétés (Najimi et al. 2003).

**Tableau 05 : Avantages et inconvénients des marqueurs SSR**

Marqueur	Avantages	Inconvénients
<b>SSR</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- les microsatellites sont des marqueurs Co dominants.</li> <li>- Ils sont très largement utilisés.</li> <li>- Il y a une grande fréquence de SSR dans le génome.</li> <li>- Les microsatellites sont bien répartis à travers tout le génome.</li> <li>- Ils sont reproductibles.</li> <li>- Les microsatellites sont faciles à manipuler.</li> <li>- On observe un polymorphisme élevé de SSR dans la population humaine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- la répartition des microsatellites est assez lourde car il faut cribler une banque génomique enrichie avec une sonde microsatellite, séquencer les clones positifs, synthétiser les amorces oligonucléotidiques et tester les paires d'amorces dans un échantillon d'individus.</li> </ul>

### **9. Utilisations des marqueurs.**

\_Les relations de proximité entre espèces ou populations sont abordées de deux façons différentes.

\_La phénétique est fondée sur les distances génétiques entre les unités taxonomiques et aboutit à la construction de dendrogrammes.

\_La cladistique est fondée sur l'identification des mutations successives et repose sur le principe de parcimonie qui minimise le nombre d'événements pour décrire un arbre phylogénétique.

\_Les marqueurs utilisés doivent être neutres pour retracer correctement l'évolution des taxons.

Plus les taxons sont proches génétiquement, plus les marqueurs utilisés doivent avoir un taux de mutation élevé pour révéler suffisamment de polymorphisme exploitable.

\_Les relations entre les taxons sont fondées sur leur divergence qui est croissante au cours du temps.

\_Dans le cas de la phénétique, tout marqueur adapté à la construction d'une matrice de distances entre les unités taxonomiques analysées est utilisable pour la construction des dendrogrammes.

\_Les marqueurs dominants et anonymes comme les RAPD sont inadaptés à la construction

d'arbres phylogénétiques fondés sur le principe de parcimonie, sauf situations très particulières (Backeljau et al.,1995).

La comparaison des principales techniques de marquage moléculaire est illustrée dans le tableau suivant, chaque technique de marquage moléculaire présente des avantages et des inconvénients.

**Tableau 06** : Comparaison entre différents types des marqueurs RFLP, AFLP et SSR (Daniel et al. 2006, De vienne 1999).

Marqueur	Avantages	Inconvénients
RFLP	<ul style="list-style-type: none"> <li>-La RFLP est une méthode fiable et facilement transférable entre laboratoire.</li> <li>-Il s'agit d'un marqueur codominant.</li> <li>-Aucune information sur la séquence n'est requise.</li> <li>-Elle est utilisable pour faire des cartes génétiques de liaisons.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-La RFLP nécessite une grande quantité d'ADN.</li> <li>-Elle n'est pas automatisable, vue les étapes de transfert et d'hybridation.</li> <li>-Certaines espèces possèdent un taux peu élevé de polymorphisme.</li> <li>-Un faible nombre de locus sont détectés par expérience.</li> </ul>
RAPD	<ul style="list-style-type: none"> <li>-L'AFLP permet un survol rapide de l'ensemble du polymorphisme du génome.</li> <li>-Elle est hautement reproductible.</li> <li>-Il n'y a pas besoin de connaître une séquence et de créer des sondes spécifique.</li> <li>-Elle permet la création facile et rapide de cartes génétiques.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-La génération d'une grande quantité d'information.</li> <li>-nécessite une analyse automatisée et la technologie informatique.</li> <li>-Ce sont des marqueurs dominants.</li> <li>- Les marqueurs AFLP sont souvent localisés aux centromères et aux télomères.</li> </ul>
SSR	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Les microsatellites sont des marqueurs codominant.</li> <li>-Ils sont très largement utilisés.</li> <li>-Ils y a une grande fréquence de SSR dans le génome.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-La préparation des microsatellites est assez lourde car il faut « cribler une banque génomique enrichie</li> </ul>

-Les microsatellites sont bien répartis à travers tout le génome.

avec une sonde du microsatellite, séquencer les clones positifs, synthétiser les amorces oligonucléotidiques et tester les paires d'amorces dans un échantillon d'individus ».

## 10. Polymorphisme et variabilité biologique:

*A. halimus* a été souvent citée comme une espèce très polymorphe (Ungar ., 1995 ; Kinet et al., 1998), probablement en relation avec sa grande amplitude écologique et à sa reproduction allogame dominante (Talamali et al., 2001). Abbad et al. (2004), ont confirmé l'existence, au sein de l'espèce *A. halimus*, d'un grand polymorphisme (phénotypique et génétique) et d'une différenciation qui est d'autant plus importante que les populations sont éloignées géographiquement et croissent sous un climat différent.

En effet, les analyses ont montré des taux de locus polymorphes et d'hétérozygotie moyenne assez élevés, exprimant un polymorphisme important des gènes. L'indice de fixation moyen des locus est très faible, ce qui exprime la présence en excès d'individus hétérozygotes dans les populations.

## 11. Diversité des *Atriplex*

Plusieurs auteurs ont montré que les *Atriplex* sont dotés d'un polymorphisme important qui se manifeste dans divers caractères, comme il a été décrit chez *Atriplex hortensis*, *Atriplex patula* et *Atriplex triangularis*. (Ungar, 1995) Par ailleurs, Francllet et Le Houërou (1971) ; Ben Ahmed. (1995) ; Kinet et al. (1998), ont mis en évidence (in situ et in vitro) le remarquable polymorphisme de l'*Atriplex* au niveau de la morphologie des structures végétatives et reproductrices ainsi que sa grande variabilité au niveau du comportement physiologique des individus, ainsi que dans la production de biomasse.

Concernant les feuilles, leur forme varie selon l'origine géographique de l'individu, et sur un même pied, elle est différente selon l'état physiologique de la plante ou la position de la feuille sur un même axe. Ce polymorphisme semble être une caractéristique des chénopodiacées (Kinet et al., 1998).

Les différentes espèces d'*Atriplex* montrent aussi une grande variabilité dans la réponse aux différents stress biotiques et abiotiques (Salaman et Ajmel, 1998).

Il est signalé que deux formes différentes de feuilles ont été décrites chez deux écotypes d'*Atriplex paludosa* par Osmond et al. (1980). Chez le premier, les feuilles sont recouvertes d'une dense couche de trichomes, tandis que le second présente des feuilles glabres. Concernant les trichomes leur forme peut être ovoïde comme chez *Atriplex nummularia* ou globuleuse comme chez *Atriplex halimus* et *Atriplex glauca* (Franclet et Le Houërou, 1971).

Selon Osmond et al. (1980), la taille des feuilles et leur épaisseur ne sont pas des caractères constants, mais varient en fonction de certains facteurs dont la salinité, la disponibilité de l'eau, la température et la nutrition.

Les *Atriplex* varient également dans leur mode de photosynthèse. 60% d'entre eux sont du type C4 (*Atriplex halimus*, *Atriplex nummularia*) et le reste de type C3 (*Atriplex hortensis*, *Atriplex patula*) (Osmond et al., 1980).

Un polymorphisme est observé par ailleurs au niveau de la ploïdie. En effet même si la majorité des *Atriplex* sont diploïdes (les deux tiers environ), la tétraploïdie n'est pas rare.

Chez *Atriplex canescens* la forme tétraploïde atteint 1 mètre de haut et de diamètre, alors que la forme diploïde se caractérise par une hauteur de 3 à 4 mètres et une envergure de 4 à 5 mètres. La germination des graines est en outre plus rapide chez les formes diploïdes (Osmond et al., 1980).

Quant aux graines, (Ungar, 1995) a enregistré la présence de deux types de graines, certaines sont petites, noires et dures, d'autres sont grandes, brunes et moins dures. Les graines noires sont caractérisées par une variabilité plus importante par rapport aux brunes, mais leur vitesse de germination est plus faible.

## **12. Diversité génétique:**

La diversité génétique d'une population est un facteur qui peut déterminer sa stabilité, sa capacité d'adaptation et ses possibilités pour survivre dans des conditions environnementales variables. Il existe de nombreux exemples de l'effet de la variation de l'habitat sur la diversité génétique et la structure génétique des populations (Prentice et al., 1995 ; Odat et al., 2004).

Sous différentes conditions environnementales, les facteurs de stress locaux peuvent «corriger» les structures génétiques, facilitant ainsi l'adaptation. Le degré de cette adaptation est largement déterminé par l'interaction entre la sélection et le flux de gènes entre les populations le long des gradients écologiques (Lenormand., 2002 ; Forester et al., 2016).

Les espèces végétales diffèrent sensiblement dans la façon dont la diversité génétique est répartie entre les populations et parmi les individus, celles qui se croisent principalement et vivent longtemps conservent la majeure partie de leur variabilité génétique au sein des populations. La variation génétique d'une espèce peut révéler plusieurs points tels que : des événements historiques liés à la colonisation postglaciaire (Chung et al., 2013), un changement ancien ou récent d'une population (Leimu et al., 2006), l'impact des facteurs environnementaux et des perturbations anthropiques, ainsi que le système de reproduction des espèces (Aparicio et al., 2002; Leimu et Mutikainen, 2005), l'hybridation (Phillipp et Siegismund, 2003) et la polyploïdisation (Rosenbaumová et al., 2004).

Dans les espèces végétales à distribution continue, la variation génétique dans les régions géographiques peut résulter de la présence d'obstacles au flux de gènes parmi les populations (par ex. une chaîne de montagnes) ou à la suite d'événements historiques à l'instar des glaciations (Hewitt, 1996, 1999).

Concernant le genre étudié, la taille moyenne du génome des espèces d'*Atriplex* est de  $3,29 \pm 1,41$  pg (Bennett et Leitch., 2011). La plus petite quantité d'ADN nucléaire ( $2C = 0,70$  pg) a été enregistré pour *A. fruticulosa* Jeps. (Belford et Thompson, 1981), et la plus grande (5,98 pg) pour *A. nummularia* Lindl. (Morgan et Westoby, 2005).

### **13. Marqueur moléculaire :**

**Aperçu et applications** Les marqueurs moléculaires sont un type de marqueur génétique composé de fragments d'ADN qui servent de repères pour suivre la transmission d'un segment de chromosome d'une génération à l'autre. Avant le développement du marquage moléculaire, les iso enzymes avaient été le cheval de bataille des généticiens (Tanksley et Orton, 1983), et avaient montré comment l'analyse génétique pourrait fournir un excellent aperçu de la diversité et des systèmes d'accouplement chez les plantes et les animaux .L'avènement de la technique du polymorphisme de longueur des fragments de restriction RFLP a permis de dépasser le nombre limité de loci d'isozymes et a ouvert le potentiel d'un plus grand nombre de loci dans les génomes nucléaires, chloroplastiques et mitochondriales (Byrne, 2018). Les premiers articles décrivant l'application de la PCR ; (Erlich et al., 1991) dans les RAPD (Hadrys et al., 199).

#### 14. Chez les *Atriplex*

Les marqueurs à base d'ADN offrent une alternative efficace pour étudier la diversité génétique et les relations entre les espèces (Gepts, 1993), à l'instar de l'ADN polymorphe amplifié aléatoire (**RAPD**) qui s'est avéré utile dans de nombreuses études génétiques (Trindade et Chaves, 2005).

En effet, une étude par Marqueurs RAPD basée sur la variabilité génétique *d'Atriplex* effectuée par Ortiz-Dorda et al. (2005), évaluant la structure génétique de plusieurs populations *d'Atriplex halimus*, a montré une nette différenciation de ces dernières, ainsi qu'une séparation considérable des plantes individuelles dans la même population. Récemment, de nouvelles techniques de marquage ont été développées en fonction de marqueurs ciblés sur les gènes. Un nouveau marqueur appelé polymorphisme SCoT (Start Codon Targeted) a été développé sur la base de la courte région conservée flanquant le codon de départ ATG dans les gènes végétaux, ces marqueurs sont généralement reproductibles et sont similaires aux RAPD et aux ISSR car la même amorce unique est utilisée comme amorce sens et sens inverse (Collard & Mackill., 2009). Ces marqueurs ont été utilisés dans l'étude d'Elframawy et al. (2016) qui a montré des différences dans la diversité génétique entre les populations d'*A. Halimus* appartenant à différents endroits. De leur côté, Bouda et al. (2019), se sont intéressés à la diversité génétique de populations *d'Atriplex halimus L.*, en utilisant des séquences de la région ITS d'ADNr.

La diversité génétique au sein de la population était élevée par rapport à d'autres espèces ayant des cycles biologiques similaires.

Sampson et Byrne (2012), ont démontré en utilisant les marqueurs microsatellites que les descriptions de la diversité génétique dans les espèces polyploïdes d'*A. nummularia* étaient possibles et peuvent révéler des relations entre les populations et les sous-espèces.

Dans le même chapitre, Kondrysová et al. (2017) stipulent que seize loci microsatellites polymorphes ont été développés pour *Atriplex tatarica*. Ces marqueurs seront précieux pour enquêter sur la structure génétique de la population, le système d'accouplement ainsi que le modèle phylogéographique de cette espèce. L'amplification interspécifique de ces marqueurs indique qu'ils peuvent être largement utiles dans des espèces d'Amaranthaceae. Correa et al. (2019), ont partiellement séquencé les génomes de deux espèces *d'Atriplex* (*A. deserticola* Phil. et *A. atacamensis* Phil.), Un total de 127086 microsatellites a été identifié dans l'ADN génomique *d'Atriplex deserticola* et un total de 134984 microsatellites dans celui *d'Atriplex atacamensis*.

Rappelons que d'après Walker et al. (2005), l'utilisation des marqueurs moléculaires permet d'étudier les espèces présumées hybrides Ainsi que d'utiliser l'analyse de paternité pour comprendre les schémas

d'accouplement et démontrer le rôle des dispersions du pollen, même dans des paysages fragmentés (Byrne et al., 2008; Millar et al., 2014; Llorens et al., 2012; Sampson et al., 2014).



## Conclusion

La présente étude qui s'intéresse à *Atriplex halimus* ainsi qu'aux marqueurs biochimiques et moléculaires a permis de mettre la lumière sur un point important qui est la rareté des travaux qui sont consacrés à l'évaluation du polymorphisme de l'espèce étudiée grâce aux dits marqueurs.

Par ailleurs, d'autres recherches, ont permis d'évaluer une importante diversité florale, foliale, palynologique...etc, ainsi que sur le plan intra et inter spécifique corroborant ainsi toutes les données bibliographiques.

En effet, il est nécessaire de réaliser des études génomiques afin de mieux comprendre la diversité qui caractérise cette espèce, et de mieux apprécier et évaluer la variabilité génétique ainsi que de trouver les marqueurs spécifiques et d'établir les relations phylogénétique entre les différentes espèces.

Il serait judicieux de s'intéresser d'avantage à l'étude des populations locales d' *Atriplex*

Les techniques de biotechnologie et de biologie moléculaire à l'instar des SNP et des microsatellites constituent des moyens supplémentaires pour l'étude des caractères des espèces, leur évolution et leur génétique des populations.

## Références Bibliographiques

- Abbad, A., Cherkaoui, M., & Benchaabane, A. (2003).** Morphology and allozyme variability of three natural populations of *Atriplex halimus* L. *Ecologia Mediterranea* (France).
- Abbad, A., Cherkaoui, M., Walid, N., El Hadrami, A. et Benchaabane, A. (2004).**
- Abdelkefi, A., Biborchi, A., Boussaid, M., Marrakchi, M., (1997).** Marqueurs isoenzymatiques et structures génotypiques de populations spontanées d'espèces du genre *Medicago*. 6ème journées scientifiques du réseau biotechnologies végétales AUPELF UREF, Orsay. p 447.
- Ahmed, H. Ben, Zid, E., El Gazzah, M., & Grignon, C. (1996).** Croissance et accumulation ionique chez " *Atriplex halimus*" L. *Cahiers Agricultures*, 5(5), 367–372.
- Andersson, MS., Schultze-Kraft, R., Peters, M., Hincapie, B., Lascano, CE., (2006).** Morphological, agronomic and forage quality diversity of the *Flemingia macrophylla* world collection *Field Crops Research* 96: 387-406
- Anonyme (sd.) <http://www.telabotanique.org> (Consulter 2017).**
- Anonyme 01 (2017) Consulté le 20 mai 2017.** Adresse URL : <http://www.gni-pedagogique.org/index> .
- Anonyme 01 (2017) Consulté le 20 mai 2017.** Adresse URL : <http://www.gni-pedagogique.org/index>
- Hajeer A, J. Worthington et John S (2000) SNP and Microsatellite Genotyping Markers for Genetic Analysis. *Bio techniques: Molecular Laboratory Methods Series*. Eaton Publishing Manchester UK, p195-230.
- Anonyme, 2015 :** Projet ICARDA 2013-2016
- Aparicio, S., Chapman, J., Stupka, E., Putnam, N., Chia, J. M., Dehal, P., & Gelpke, M. D. S. (2002).** Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes*. *Science*, 297(5585), 1301-1310.
- Backeljau T., De Bruyn L., De Wolf H., Jordaens K., Van Dongen S., Verhagen R., Winnepenninckx B., (1995).** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and parsimony methods. *Cladistics*: 11 , 119-30.
- Bahri B, Leconte M, de Valla vieille-Pope C, Enjalbert J (2009)** Isolation of ten microsatellite loci in an EST library of the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis* f.sp *tritici* . *Conserv Genet* 10: 1425–1428

- Bajji, M., Kinet, J.M., & Lutts, S. (1998).** Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. *Plant Science*, 137(2), 131–142.
- Becker, J., P. Vos, M. Kuiper., F., Salamini, M. Heun., (1995).** Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. *Mol. Gen. Genet.* 249:65–73.
- Belford, H. S., & Thompson, W. F. (1981).** Single copy DNA homologies in *Atriplex*. II. Hybrid thermal stabilities and molecular phylogeny. *Heredity*, 46(1), 109-122.
- Belkadi,(2003)**in Analyse de la diversité génétique de lignées interspécifiques Blé dur (*Triticum durum* Desf)/ *Aegilops geniculata* par les microsatellites (SSR) Présenté et soutenu par : Saoula Zohra Le : 21/06/2016
- Ben Ahmed, M. (1995).** Physiologie de la tolérance de l’*Atriplex halimus* L. au chlorure de sodium. DEA. *Physiol. Vég. Univ. Tunis*, 85.
- Ben Ahmed.h, Zid.E, EL Gazzah. M, et Gringnom.C.(1996)** croissance et accumulation ionique chez l’*Atriplex halimus* L. *Cahiers (Agriculture)* vol.5 décembre 2004 15(4) : 331-5.
- BENCHAABANE A. ,1997-**Organisation et utilisation des *Atriplex* à *Atriplex halimus* dans la région de Marrakech(Maroc). *Rev.Atriplex in vivo* N°5.Rés.Int.Orsay.Paris XI.
- BENDAANOUN M.,1981-**contribution à l’étude écologique de la végétation halophile, halo hygrophile et hygrophile des estuaires, lagunes, Deltas et Sebkh du littoral atlantique et méditerranéen et du domaine continental du Maroc. Thèse.Doct.Sci. Nat. Univ. Aix-Marseille III. 39p+annexes.
- Bennett, M. D., & Leitch, I. J. (2011).** Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. *Annals of Botany*, 107(3), 467-590.
- Benrebiha, F. Z. (1987).** Contribution à l’étude de la germination de quelques espèces d’*Atriplex* locales et introduites. Mémoire de Magister En Sciences Agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger, 5–20.
- Benrebiha,F.Z-1987** contribution à l’études la germination de quelque espèce D’atriplexlocalesintroduites, .ThèseINGd’état. Univ. tlemcen:17,18, +carte
- Berri R.** Contribution a la détermination de la biomasses consommable d’une halophyte: *Atriplex*.Thèse de doctorat.Univerité Kasdi Merbah, Ouargla.2008, pp. 15-19.

- Berri R.** Contribution a la détermination de la biomasses consommable d'une halophyte: Atriplex .Thèse de doctorat.Univerité Kasdi Merbah, Ouargla.2008, pp. 15-19.
- Bonnier G et Douin R. (1996)** . Ha grande flore en couleur in vitro :Bulletin de liaison du réseau de coopération sur l'Atriplex N°2 .octobre 1996 .
- Bostein, D., White, RL., Skolnick, M., Davis, RW.. (1980).** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet. 32: 314–331.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Dvies RW (1980)** Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. Am. J. Hum. Genet 32: 314
- Bouchoucha M et Ouazeta R.** Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité hypoglycémiante et anti-hyperglycémiante de l'extrait méthanolique d'Atriplex halimus.L . Mémoire de Master Université des Frères Mentouri Constantine-1-. 2018, pp. 37-50.
- Bouchoul kh et Hezla S.** Le comportement des trois genres des semences d'Atriplex (halimus , canescens, nummularia), a l'application des différentes doses de Na Cl.Mémoire de Master Académique en Sciences biologiques.2017, pp.14-16
- Bouda, S., Hernandez, L. E., & Haddioui, A. (2019).** Internal transcribed spacer sequences analysis of genetic variation among and within populations of Atriplex halimus from different bioclimatic zones in Morocco. Acta Botanica Hungarica, 61(3-4), 233-250
- Brunel, S., Teulat-Merah, B.,** Wagner, M.H., Huguet, T., Prosperi, J.M., et Durr, C., (2009). Using a model-based framework for analysing genetic diversity during germination and heterotrophic growth of Medicago truncatula. Annals of Botany 103, 1103-1117.
- Byrne, M. (2018).** A molecular journey in conservation genetics. Pacific Conservation Biology, 24(3), 235-243.
- Byrne, M. (2018).** A molecular journey in conservation genetics. Pacific Conservation Biology, 24(3), 235-243.
- Byrne, M., Elliott, C. P., Yates, C. J., & Coates, D. J. (2008).** Maintenance of high pollen dispersal in Eucalyptus wandoo, a dominant tree of the fragmented agricultural region in Western Australia. Conservation Genetics, 9(1), 97-105.

**Castroviejo M., Inbar M., Gomez - Villar A., Garcia- Ruiz J M., 1990:** Cambios en el cauce aguas abajo de una presa de retención de sedimentos », I Reunión Nacional de Geomorfología, Teruel : 457-468. 13.

**Chung, M. Y., Moon, M. O., López-Pujol, J., Chung, J. M., & Chung, M. G. (2013).** Genetic diversity in the two endangered endemic species *Kirengeshoma koreana* (Hydrangeaceae) and *Parasenecio pseudotaimingasa* (Asteraceae) from Korea: Insights into population history and implications for conservation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, 60-69

**Collard, B. C., & Mackill, D. J. (2009).** Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant molecular biology reporter*, 27(1), 86

**Colwyn, M. Thomas, Vos, Pleter., Zabeau, Marc., Jones, David.A., Norcott, Karen.A., Chadwick, Brian.P., et Jones, Jonathan .D.J., (1995).** identification of amplified fragment Vroh Bi, Irié., Du jardin, Patrick., Margeai, Guy., Baudoin, Jean Pierre., (1996). cycling during photosynthesis in water-stressed plants. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*, 139-154.

**Correa, F., Pérez-Díaz, J., Rojas, P., Torres, C., Paneque, M., Sagredo, B., & Bastías, A. (2019).** Dataset of genome identification and characterization of microsatellite markers loci in *Atriplex atacamensis* and *Atriplex deserticola*. *Data in brief*, 25, 104258.

**De Moraes, P.L.R., Nehme, C.J., Alves, M.C., Teresa, M., Derbyshire, M.T., Cavalheiro, A.J., (2007).** Chemical composition of flavonoids and styrylpyrones and the genetic variability of isozymes in natural populations of *Cryptocarya mandiocana* Meisner (Lauraceae). *Biochemical systematics and Ecology* 35: 233-244

**De vienne D (1998)** Les Marqueurs Moléculaires en Génétique et Biotechnologie Végétales. Ed. INRA, p204.

**De Vienne D (1999)** Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. Ed. INRA, p195

**De Vienne D (1999)** Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. Ed. INRA, p195. Doctorat. Université Baji Mokhtar, Annaba. 2011, pp.100.

**Dekkers, JCM., Hospital, F.,(2002).** The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Rev. Genet.* 3 (1), p. 22–32.

- Diallo. I. 2002.** Etude de la biologie de la variabilité génétique chez le jujubier .  
Thèse de doctorat de troisième cycle de biologie végétale. Université Cheikh AntaDiop de Dakar.P. 36.
- Duperat - M, 1997** Le guide des arbres de France. Ed sélection du Reader's Digest, 225 p
- Dupont F., Guignard J.L. 2007.** Abrèges botanique systématique moléculaire. 14révisée, Masson.
- Dutech C, Enjalbert J, Fournier E, Delmotte F, Barrès B, Carlier J, Tharreau D, Giraud T (2007)**  
Challenges of microsatellite isolation in fungi. Fungal Genetics and Biology, p47.
- Eagles, HA., Bariana, HS., Ogonnaya, FC., Rebetzke, GJ., Holamb y, GJ., Henry,**
- Ebrahimi, Asa., (2008).** Thèse de Doctorat . Contrôle génétique de la qualité des graines chez le tournesol (*Helianthus annuus* L.) soumis à la sécheresse. Université de Toulouse. p15. espèces végétal halophytes du genre *Atriplex* (*A. Halimus A. Nummularia A. canescence*). Thèse
- Elframawy, A., Deif, H., & El-Bakatoushi, R. (2016).** Genetic variation among fragmented populations of *Atriplex halimus* L. using start codon targeted (SCoT) and ITS1-5.8 S-ITS2 region markers.
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2011).** A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS one*, 6(5), e19379.
- Erlich, H. A., Gelfand, D., & Sninsky, J. J. (1991).** Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science*, 252(5013), 1643-1651
- Falque, M., Santoni, S., (2004).** Les marqueurs moléculaires, La génomique en biologie végétale, J.F. Morot-Gaudry et J.F. Briat (Eds), INRA Editions, Science update, INRA, Paris, pp 349-375
- Flowers T.J., Hajibagheri M.A et Clipson N.J.W.** *Journal of The Quarterly Review of Biology.*61.
- Forester, B. R., Jones, M. R., Joost, S., Landguth, E. L., & Lasky, J. R. (2016).** Detecting spatial genetic signatures of local adaptation in heterogeneous landscapes. *Molecular ecology*, 25(1), 104-120.
- Fourmann, M., Barret, P., Froger, N., Baron, C., Charlot, F., Delourme, R., Brunel, D. (2002).** From *Arabidopsis thaliana* to *Brassica napus*: development of amplified consensus genetic markers(ACGM) for construction of a gene map. *Theor Appl Genet* 105:1196–1206
- Francllet A. et Le-Houérou H.N., 1971** - Les *Atriplex* en Tunisie et en Afrique du Nord. *Doct. F.A.O.* Rome 1971. p 249 et p 189.

**Francllet A. et Le-Houérou H.N., 1971** - Les Atriplex en Tunisie et en Afrique du Nord. Doct. F.A.O. Rome 1971. p 249 et p 189.

**Francllet A. et Le-Houérou H.N., 1971** - Les Atriplex en Tunisie et en Afrique du Nord. Doct. F.A.O. Rome 1971. p 249 et p 189.

**Francllet, O.H. et le Houérou, H.N., 1971**, les Atriplex en Tunisie et en Afrique du Nord, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). Rome, 249-271.

**Francllet, O.H. et le Houérou, H.N., 1971**, les Atriplex en Tunisie et en Afrique du Nord, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). Rome, 249-271. Lenormand, T. (2002). Gene flow and the limits to natural selection. Trends in Ecology & Evolution, 17(4), 183-189.

**Franklet, A., LE Houerou, H.N., 1971** - Les *Atriplex* en Tunisie et en Afrique du Nord. Rapport technique n°07.PNUDTTUN11F.A.O,Rome ; 250 p.

**Gallais. A (2013)** : Evolution des outils pour l'amélioration des plantes . De la Domestication a la Transgénèse . Quae Edition . p184.

**Gepts, P. (1993)**. The use of molecular and biochemical markers in crop evolution studies. In Evolutionary biology (pp. 51-94). Springer, Boston, MA.

**Giancola, S., McKhann, H., Berard, A., Camilleri, C., Durand S., Libeau P., Roux F., Reboud, X., Gut I.G, Brunel D. (2006)**. Utilization of the three high-throughput SNP genotyping methods, the GOOD assay, Amplifluor and TaqMan, in diploid and polyploid plants. Theor Appl Genet 112:1115–1124.

**Glenn, E. P., & Brown, J. J. (1998)**. Effects of soil salt levels on the growth and water use efficiency of *Atriplex canescens* (Chenopodiaceae) varieties in drying soil. American Journal of Botany, 85(1), 10–16.

**Gomez, OJ., Blair, MW., Frankow-Lindberg, BE., Gullberg, U., (2004)**. Molecular and Phenotypic Diversity of Common Bean Landraces from Nicaragua. Crop Sci 44: 1412-1418

**Gouge - A, 2005-** Impact de la salinité sur la germination et la croissance des halophytes, mémoire de d'ingénieur en agronomie pastorale. Ed université de Djelfa, 75 p. 1986, pp.313-337.

**Grivet, D., (2002)**. Phylogéographie et évolution moléculaire comparée d'arbres forestiers à l'aide des marqueurs chloroplastiques. Thèse. Université de Nancy I. France.p29

**H. Lieth and A. Al Masoom(ed)** , Towards the rational use of the high salinity tolerant plants .

**Haddioui, A., & Baaziz, M. (2001)**. Genetic diversity of natural populations of *Atriplex halimus* L. in Morocco: An isoenzyme-based overview. *Euphytica*, 121(1), 99–105.

**Hadrys, H., Balick, M., & Schierwater, B. (1992)**. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular ecology*, 1(1), 55-63.

**Henry, J. R. (2000)**. An overview of the phytoremediation of lead and mercury.

**Hewitt, G. M. (1996)**. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological journal of the Linnean Society*, 58(3), 247-276.

**Hewitt, G. M. (1999)**. Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological journal of the Linnean Society*, 68(1-2), 87-112.

**Hospital F. (2001)**. Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. *Genetics* 158 (3), p. 1363-1379.

<https://www.florealpes.com..>

**Jenczewski, E., Prosperi, JM., Ronfort, J., (1999)**. Evidence for gene flow between wild and cultivated *Medicago sativa* (Leguminosae) based on allozyme markers and quantitative traits. *Am J Bot* 86: 677 *Journal of Agricultural Research*. 4 (7). 2016, pp.404-410 Kluwer Publishers Netherlands.1(1). 1993, pp. 403-422.

**Julier, B., Flajoulot, S., Barre, P., Cardinet, G., Santoni, S., Huguet, T., Huyghe, C., (2003)**. Construction of two genetic linkage maps in cultivated tetraploid alfalfa (*Medicago sativa*) using microsatellite and AFLP markers. *Bmc Plant Biol* 3:9.

**Kachout S., Ennajah A., Mechergui R., Ben Mansoura A., Ouerghi Z et Bouraoui N K.** Effect of

**Kinet, J.M., Ben Rebiha, F., Bouzid, S., Laihakar, S. et Dutuit, P. (1998)**. Le réseau *Atriplex*. Allier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions arides et semi arides. *Cah. Agric.*, Vol. 7 (6): 505-509.

**Kinet, J.M., Ben Rebiha, F., Bouzid, S., Laihakar, S. et Dutuit, P. (1998)**. Le réseau *Atriplex*. Allier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions arides et semi arides. *Cah. Agric.*, Vol. 7 (6): 505-509.



**Kondrysová, E., Krak, K., & Mandák, B. (2017).** Development, characterization, and cross-amplification of 16 microsatellite primers for *Atriplex tatarica* (Amaranthaceae) 1. Applications in Plant Sciences, 5(11), 1700094.

**LE HOUEROU ET PONTANIER, 1988**– Les plantations sylvopastorales dans la zone aride de Tunisie. Rev : Pastoralisme et développement, Montpellier. pp : 16-23.

**Le Houérou H. N. (1992)** 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.** Salt-tolerant plants for the arid regions of the Mediterranean isoclimatic zone In

**Le Houérou H.N.** The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the

**Le Houérou, H N. (1992).** The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin: a review. Agroforestry Systems, 18(2), 107–148.

leaf strategy in seed plants. Annals of Botany, 96(7), 1321-1330.

**Leimu, R., & Mutikainen, P. (2005).** Population history, mating system, and fitness variation in a perennial herb with a fragmented distribution. Conservation Biology, 19(2),349-356.

**Leimu, R., Mutikainen, P. I. A., Koricheva, J., & Fischer, M. (2006).** How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation?. Journal of Ecology, 94(5), 942-952.

**Llorens, T. M., Byrne, M., Yates, C. J., Nistelberger, H. M., & Coates, D. J. (2012).** Evaluating the influence of different aspects of habitat fragmentation on mating patterns and pollen dispersal in the bird-pollinated *Banksia sphaerocarpa* var. *caesia*. Molecular ecology, 21(2), 314-328

**Llorens, T. M., Byrne, M., Yates, C. J., Nistelberger, H. M., & Coates, D. J. (2012).** Evaluating the influence of different aspects of habitat fragmentation on mating patterns and pollen dispersal in the bird-pollinated *Banksia sphaerocarpa* var. *caesia*. Molecular ecology, 21(2), 314-328.

**Lutts, S., Lefèvre, I., Delpérée, C., Kivits, S., Dechamps, C., Robledo, A., & Correal, E. (2003).** Heavy metal accumulation by the halophyte species Mediterranean saltbush. Journal of Environmental Quality, 33(4), 1271–1279.

**Mâalem S.** Etude de l'impact des interactions entre le phosphore et le chlorure de sodium sur trois

**Mâalem S., Djaâlab G et Rahmoune C.** Improvement of the Seeds Germination of some Atriplex

**Maalem, S. (2002)** Etude écophysiological de trois espèces halophytes du genre Atriplex (A.canescens A. , halimus et A. nummularia) soumises à l'engraisement

**Maalem, S. (2002)** Etude écophysiological de trois espèces halophytes du genre Atriplex (A.canescens A., halimus et A. nummularia) soumises à l'engraisement.

**Mackill, D. J., Z. Zhang, E. D. Redona, and P. M. Colowit. (1996).** Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. *Genome*. 39, 969- 977 Mediterranean Basin( a review). *Journal of Agroforestry Systems*. 18(2).1992, pp. 107-148.

**Martinez, J. P., Ledent, J.-F., Bajji, M., Kinet, J. M., & Lutts, S. (2003).** Effect of water stress on growth, Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> accumulation and water use efficiency in relation to osmotic adjustment in two populations of Atriplex halimus L. *Plant Growth Regulation*, 41(163–73).

**Messaili, B. (1995).** Systématique des spermaphytes. Éd. Office des Publications.

**Millar, M. A., Coates, D. J., & Byrne, M. (2014).** Extensive long-distance pollen dispersal and highly outcrossed mating in historically small and disjunct populations of *Acacia woodmaniorum* (Fabaceae), a rare banded iron formation endemic. *Annals of botany*, 114(5), 961-971

**Morgan, H. D., & Westoby, M. (2005).** The relationship between nuclear DNA content and

**Moulet, O. Fossati, D. Mascher, F. et Schori, A. (2008).** Les marqueurs moléculaires comme outils dans la sélection des céréales. *Revue suisse Agric* .40 (3) :133\_138. Williams 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. *Nucl Acids Res*. 22:6531-6535.

**Mozafar A.Goodin J.R.1970** – Resiculatedhaus a mechanism for salt tolerance in Atriplexhalimus. *Plant physio* pp 45:62- 65.

**Mulas, M., & Mulas, G. (2004).** The strategic use of Atriplex and Opuntia to combat desertification. Sassari, Italia: Desertification Research Group, University of Sassari.

**Najimi B, El Jaafari S, Jlibène M, Jacquemin J.M, (2003)** Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 7: 17–35.

- Odat, N., Jetschke, G., & Hellwig, F. H. (2004).** Genetic diversity of *Ranunculus acris* L.(Ranunculaceae) populations in relation to species diversity and habitat type in grassland communities. *Molecular Ecology*, 13(5), 1251-1257.
- Optimisation et application** de la RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) dans un programme de sélection récurrente chez le cotonnier (*Gossypium* spp). *Biotechnol.Agron. Soc.Environ.* 1997 1 (2). 142-150.
- Ortiz-Dorda, J., Martínez-Mora, C., Correal, E., Simón, B., & Cenis, J. L. (2005).** Genetic structure of *Atriplex halimus* populations in the Mediterranean Basin. *Annals of Botany*, 95(5), 827–834.
- Ortiz-Dorda, J., Martínez-Mora, C., Correal, E., Simón, B., & Cenis, J. L. (2005).** Genetic structure of *Atriplex halimus* populations in the Mediterranean Basin. *Annals of Botany*, 95(5), 827-834.
- Osmond, C. B., Winter, K., & Powles, S. B. (1980).** Adaptive significance of carbon dioxide
- Ozanda P.(1983) . Flore de Sahara .PP.225-622 .2ème Ed .C.N.R.S.Paris .**
- OzendaP. 2004.** Flore et végétation du Sahara. 3ème édition, CNRS Editions, Paris.
- OzendaP.**Flore du Sahara. Paris : Centrenational de la recherche scientifique (CNRS), 1977 ; 622 p.6
- Philipp, M., & Siegismund, H. R. (2003).** What can morphology and isozymes tell us about the history of the *Dryas integrifolia*–*octopetala* complex?. *Molecular Ecology*, 12(8), 2231-2242.
- Plomion C (2003) SSR Microsatellites Répétition de séquences simples: (Simple SequenceRepeats)** .Principes des techniques de biologie moléculaire. Ed. INRA, p143-146.
- Pouget M.** Les relations sol végétations dans les steppes sud Algéroises travaux et document de l’office de la recherche scientifique et technique outre-mer.166.1980, pp. 555.
- Prat D., Faivre Rampant P et Prado E. (2006).** Analyse du génome et gestion des ressources génétiques forestières. Editions Quae, p 75-76. génétique forestières » . INRA Edition. p456
- Prentice, H. C., Lonn, M., Lefkovitch, L. P., & Runyeon, H. (1995).** Associations between allele frequencies in *Festuca ovina* and habitat variation in the alvar grasslands on the Baltic island of Oland. *Journal of Ecology*, 391-402.

- Qi X. P. Stan., P. Lindhout., (1998).** Use of locus-specific AFLP markers to construct a high density molecular map in barley. *Theor. Appl. Genet.* 96 376- 384.
- Quezel P et SantanaS.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Le Centre national de la recherche scientifique Paris.1962, pp. 286-290.
- QUEZEL P. et SANTA S., 1962–** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S. Paris. 2 vol. 1170p.
- Quezel P., Santa S. 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II,Ed.CNRS, Paris.
- Quezel,P.etSantana,S.1962 -** Nouvelleflorede l' Algérieetdesrégions désertiquesméridionale. EditionsCNRS.Paris. pp. 286-290.
- Rahmoune, C., Seridi, R., Paul, R., & Dreze, P. (2000).** Influence of Zn concentration in solution applied to leaves and roots on the absorption and translocation of Cd by leaves. *Dirasat. Agricultural Sciences*, 27(1), 72–77.
- RJ., Henschke, PH., Carter, M., (2001). Implementation of markers in Australian wheat breeding. *Aust. J. Agric. Res.* 52 (11–12), p. 1349–1356.
- Röder M.S, Plaschke J, König S.U, Börner A, Sorrells M.E, Tanksley S.D, Smith J.S.C, Kresovich S, Hopkins M.S, Mitchell S.E, Dean R.E, Woodman W.L, Lee M, Porter K (1995).** Genetic diversity among elite sorghum inbred lines assessed with simple sequence repeats. *Crop Sci* 40:226-232
- Litt M et Luty J.A, (1989)** A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a nucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene.*Am.J.Hum.*
- ROSAS M.R., 1989–**El genero *Atriplex* (Chenopodiaceae) en Chile. *Gayana Bot.*,46(1-2): 3-82.
- ROSAS M.R., 1989–**El genero *Atriplex* (Chenopodiaceae) en Chile. *Gayana Bot.*, 46(1-2): 3-82.
- Rosas, M. R. (1989).** The genus *Atriplex* (Chenopodiaceae) in Chile. *Gayana Botanica* (Chile).
- Rosenbaumová, R., Plačková, I., & Suda, J. (2004).** Variation in *Lamium* subg. *Galeobdolon* (Lamiaceae)—insights from ploidy levels, morphology and isozymes. *Plant Systematics and Evolution*, 244(3-4), 219-244
- Salaman ,G and Ajmel Khan ,M .1998.** Diurnal water relations of inland and coastal halophytic populations from Pakistan. *Journal of arid environments*; 40(3):295-305

**Sampson, J. F., Byrne, M., Yates, C. J.,** Gibson, N., Thavornkanlapachai, R., Stankowski, S., & Bennett, I. (2014). Contemporary pollen-mediated gene immigration reflects the historical isolation of a rare, animal-pollinated shrub in a fragmented landscape. *Heredity*, 112(2), 172-181.

**Sansaloni, C., Petroli, C., Jaccoud, D.,** Carling, J., Detering, F., Grattapaglia, D., & Kilian, A. (2011). Diversity Arrays Technology (DArT) and next-generation sequencing combined: genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of Eucalyptus. In *BMC proceedings* (Vol. 5, No. 7, p. P54). BioMed Central.

**Schlotterer, C., (2004).** The evolution of molecular markers - just a matter of fashion? *Nat. Rev. Genet.* 5: 63-69.

**Schmid KJ, Sorensen TR, Stracke R,** Torjek O, Altmann T, Mitchell-Olds T, Weisshaar B. (2003). Large-scale identification and analysis of genome-wide singlenucleotide polymorphisms for mapping in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Res* 13:1250–125.

Seed Weight and Salinity on the Germination of Garden Orache (*Atriplex hortensis* L.). *Academia*

**Serre J.L., (2006).** Génétique des populations. Edition Dunos, Paris.p56

**Santoni S., Faivre-Rampant P.,** Prado E et Prat D. (2000). Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahiers d'études et de recherches francophones / Agricultures*. Volume 9, Numéro 4, p 311-327

**Setti B, Bencheikh M, Henni D.E, Claire N (2011)** Advances of Molecular Markers Application in Plant Pathology Research. *European Journal of Scientific Research* 50:110-123.

**Shan, X., T. K. Blake, and L. E. Talbert., (1999).** Conversion of AFLP markers to sequence specific PCR markers in barley and wheat. *Theor. Appl. Genet.* 98, 1072- 1078

**Souayah, N., Khouja, M.L., Rejeb, M.N. et Bouzid, S. (1998)** Micropropagation d'un arbuste sylvo-pastoral, *Atriplex halimus* L. (*Chénopodiacées*) pp. 131-135. 65.

Species Submitted to the Salt Stress. *Université SheikLâarbiTbéss.* 6(9). 2010, pp.63-69.

**Talamali, A., Dutuit, P., Le Thomas, A. et Gorenflot, R. (2001).** Polygamie chez *Atriplex halimus* L. *Life sciences*, Vol. 324: 107-113.

**Talamli A., Bajji M., Le Thomas A., Kinet J- M. and Dutuit P., 2003-** Flower architecture and sex determination: how does *Atriplexhalimus* play with floral morphogenesis and sex genes? *New Physiologist*157, pp105-113

**Talamli, A., Dutuit P., Le Thomas A. and Gorenflot R., 2001-** Polygamie chez *Atriplexhalimus* L. (*Chenopodiaceae*). *C.R. Acad. Sci. PARIS, Sciences de la Vie*324, pp107-113

**Talhinhas P. , Neves-Martins J. Leitao J. (2003).** AFLP, ISSR and RAPD markers reveal high levels of genetic diversity among *Lupinus* spp. *Plant Breeding* Volume 122 Issue 6, Pages 507 – 510.

**Tanksley, S., & Orton, T. (1983).** Isozymic variation and plant breeders' rights. *Iso Plant Genet Breed*, 1, 425.

**Tenailon, MI., Sawkins, MC., Long AD., Gaut, RL., Doebley, JF., Gaut, BS., (2001).** Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.). *Proc Natl Acad Sci USA* 98:9161–9166.

**Trindade, M. D. G., & Chaves, L. J. (2005).** Genetic structure of natural *Eugenia dysenterica* DC (*Myrtaceae*) populations in northeastern Goiás, Brazil, accessed by morphological traits and RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology*, 28(3), 407-413.

**Ungar, I. A. (1995).** Seed germination and seed-bank ecology in halophytes. In 'Seed development and germination'.(Eds J Kigel, G Galili) pp. 599–628.

Variabilités phénotypique et génotypique de trois populations naturelles d'*Atriplex halimus*. *C.R. Biologies*. Vol. 327: 371-380.

**Vedele, Françoise., Et Loudet, Olivier., (2001).** Ecole Thématique Biologie Végétale – 2001.p6.  
-Cui, Z., Carter, TE, Jr., Burton, JW., Wells, R., (2001).

**Phenotypic Diversity of Modern Chinese and North American Soybean Cultivars.** *Crop Sci* 41: 1954-1967

**Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M.,& Zabeau, M. (1995).** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23(21), 4407-4414.

**Walkers et al ,2014 ; Walker et Lutts ,2014.- -Walker D.J. et Lutts S., 2014-** The tolerance of *Atriplex halimus* L. to environmental stresses. *Emir. J. Food Agric.* 26 (12): 1081- 1090.

**Westman A.L. et Kresovich S (1999)** Simple sequence repeats (SSR)-based marker variation in *Brassica nigra* genebank accessions and weed populations. *Euphytica* 109: 85-92.

**Williams, John G.K., Kubelik, Anne. R.,** Livak, Kenneth. J. Rafalski, J. Antoni., et Tingey, Scott. V., (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Oxford Journals, Life Sciences, Nucleic Acids Research*, Volume18, Issue22 Pp. 6531-653

**Yahiaoui F. Z., Labani A.,** Terras M., Boudjemaa M., Haddouche M.I., Adda-Hanifi N.N et Anteur D. Etude de l'impact de l'introduction de trois espèces d'*Atriplex halimus*, *Atriplex canescens* et *Atriplex nummularia* sur les paramètres physico-chimique du sol en zone steppique cas de la région de (Sud-Ouest Algérien). *Le Journal European Scientifique*. 10(26). 2014, pp. 186-203.

**Zhu, YL, Song QJ, Hyten DL, Van Tassell CP,** Matukumalli LK, Grimm DR, Hyatt SM, Fickus EW, Young ND, Cregan PB. (2003). Single-nucleotide polymorphisms in soybean. *Genetics* 163:1123–1134

**El Shatnawi M.D.K.J et Turuk M.** Dry matter accumulation and chemical content of saltbush (*Atriplex halimus*) grown in Mediterranean desert shrublands. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 45(3).2002, pp. 139-144