

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش – الجزائر-
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH –ALGER

Thèse:

En vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT en gestion forestière et biodiversité

THEME

**Diversité génétique et conservation du genévrier
thurifère (*Juniperus thurifera* L.) en Algérie**

Présenté par: TAIB Asma

Soutenu le: 07-01-2021

Jury:

Président: M. Khelifi L.

Professeur-ENSA El-Harrach, Alger

Directeur de thèse: M. Morsli A.

Professeur- ENSA El-Harrach, Alger

Co-directeur de thèse: Mme. Dering M.

IDK- Institute of Dendrology, Academy of
Sciences, Kornik (Pologne)

Examineurs:

M. Mefti M.

Professeur- ENSA El-Harrach, Alger

M. Sbadji M.

MCA- ENSA El-Harrach, Alger

M. Beghami Y.

Professeur - Université de Batna 1

2019-2020

Remerciements

J'exprime mes sincères remerciements à Mr. MORSLI A., Prof. à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) et mon Directeur de thèse, qui a dirigé ce travail avec beaucoup d'intérêt, qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et mon profond respect pour ses précieux conseils, son aide et sa disponibilité.

Je remercie, Mr. KHELIFI L., Prof. à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Un vif remerciement à Mr. MEFTI M., Prof. à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), d'avoir accepté d'examiner notre travail de recherche.

Un chaleureux remerciement à Mr. BEGHAMI Y., Prof. à l'Université de Batna 1, de nous avoir honoré de sa présence et d'avoir accepté d'examiner notre modeste travail.

Un profond remerciement à Mr. SBABDJI M., M.C.A. à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner notre travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement Mme. Dering M., IDK- "Institute of Dendrology, Polish Academy of Sciences" et mon co-directeur de thèse pour tous ses conseils, son aide et sa gentillesse durant mon séjour chez elle et au long de la réalisation de ce travail, qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance la plus sincère.

Je remercie chaleureusement Mr. Walas L. pour tous les efforts qu'il a fourni pour la réalisation de ce travail et je remercie également tout le personnel de "Institute of Dendrology, Polish Academy of Sciences" pour leur accueil chaleureux.

Mes remerciements les plus profonds vont aussi à :

Mme. Zemih N. pour son soutien et encouragement et Mr. Lellouchi M. pour son aide lors des sorties sur terrain, Ingénieurs de laboratoire au niveau du département Foresterie et Protection de la Nature ; M^{me}. Mokhtari et M^{me}. Benhouhou. J'adresse également mes profonds remerciements à tous les enseignants et personnel du Département de Foresterie et Protection de la Nature ; et en dernier les forestiers de la région de Bouhmama.

A mes parents et frères, à tous mes ami(e)s : Dihia, Ibtissem, Nadia, Nabila, Abir, Nawel, Chafika, Nessma et Youcef. Je tiens à remercier toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Table des matières

Table des matières :

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale: 1

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I.	Caractéristiques générales de <i>Juniperus thurifera</i> :	6
1.	Caractères botaniques et biologiques :	6
2.	Taxonomie de <i>Juniperus thurifera</i> :	7
3.	Ecologie de <i>Juniperus thurifera</i> :	9
4.	Localisation géographique:	9
5.	Intérêt de <i>Juniperus thurifera</i> :	11
6.	Régénération naturelle de <i>Juniperus thurifera</i> :	11
II.	Analyse génétique :	12
1.	Polymorphisme :	13
2.	Techniques d'extraction de l'ADN :	13
3.	PCR (Polymérase Chain Réaction) :	13
4.	Marqueurs moléculaires :	14
5.	Diversité génétique des marqueurs moléculaires :	18
6.	Paramètres de différenciation entre populations au niveau moléculaires :	18
7.	Analyses multivariées des marqueurs génétiques :	19
8.	Barrières génétiques entre les populations :	21
III.	Analyse géographique :	22
1.	Base des données climatiques « WorldClim » :	23
2.	Base des données climatiques « CHELSA » :	23
IV.	Régénérations <i>ex-situe</i> de <i>Juniperus thurifera</i> :	24
1.	Prétraitements des graines :	24
2.	Culture <i>in vitro</i> :	26

Chapitre II: Matériels et méthodes

I.	Analyse génétique et géographique :	29
1.	Zone d'étude :	29
2.	Extraction de l'ADN de <i>Juniperus thurifera</i>	30
3.	Amplification et séquençage de l'ADN:	30
4.	Analyse des données :	31
II.	Etude de la régénération <i>ex-situe</i> de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> :	35

Table des matières

1. Etude biométrique et la qualité des galbules et des graines :	35
2. Induction de la germination <i>ex-situe</i> :	36
3. Analyse des données :	38
Chapitre III: Résultats et interprétations	
I. Analyse génétique et géographique :	39
1. Diversité génétique et différenciation :	39
2. Modèle géographique de différenciation:	39
3. Modélisation de la distribution de <i>Juniperus thurifera</i> :.....	45
II. Etude de la régénération <i>ex-situe</i> de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> :	55
1. Etude biométrique :	55
2. Qualités des galbules et des graines de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> :	56
3. Prétraitements des graines de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> :.....	58
4. Culture d'embryon isolé de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> :.....	60
Chapitre IV: Discussion	
I. Analyse génétique et géographique :	65
1. Différenciations phylogéographiques d'Afrique du Nord concernant le <i>Juniperus thurifera</i> subsp. <i>africana</i> :.....	65
2. Pléistocène/Holocène changements dans les gammes d'espèces: divergence possible, guidé par l'adaptation ?	67
II. Régénération <i>ex situ</i> de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> :	70
1. Les prétraitements sont-ils efficace à la germination des endospermes de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> ?.....	71
2. Culture d'embryon isolé de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> :.....	76
Conclusion générale :	81
Références bibliographiques :	84
Les annexes	

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- % : Pourcentage
- µl : Microlitre
- 2,4-D : 2,4-dichlorophenoxyacetic acid
- ACP : Analyse en composantes principales
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- AFLP : Amplified fragment-length polymorphism
- AFLP : Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés
- AIB : Acide indole butyrique
- ASA : Acide ascorbique
- AUC : Aire sous la Courbe ROC
- BAP : 6-benzylaminopurine
- BIC : Le critère d'information bayésien
- BP : Avant aujourd'hui (*Before Present*)
- C° : Degré Celsius
- CA : Charbon actif
- CCSM4 :Community Climate System Model
- CHELSA : Climatologies at High resolution for the Earth's Land Surface Areas
- CTAB : Hexadecyltrimethylammonium bromide
- DAPC : Analyse Discriminante des Principaux Composants
- DCR : Milieu de culture Gupta et Durzan, 1985
- DTT : Dithiothréitol
- g : Gramme
- g/l : Gramme / litre
- GA₃ : Acide gibbérellique
- G_{ST} : Indice de mesure de la différenciation génétique
- h : Heure
- H₂O : L'eau
- H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
- Hs : Hétérozygotie au sein des populations
- IBD : isolation by distance
- Ka : Millions d'années
- Kb : kilo bases
- L : Litre

Liste des abréviations

- M : Mole
- Ma : Million d'années
- MCMC : Markov Chain Monte Carlo
- mg : Milligramme
- mg/l : Milligramme/ litre
- min : Minute
- ml : Millilitre
- mM : Mili mole
- N : Nombre d'allèles
- N_a : Nombre moyen d'allèles
- N_e : Nombre effectif d'allèles
- P : Probabilité
- P_a : Nombre d'allèles privés
- PC : Principale composante
- PCR : Polymerase Chain Reaction
- pH : Potentiel d'hydrogène
- RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA
- RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
- ROC : Receiver Operating Characteristic
- SSR : Simple Sequence Repeats
- TDZ : Thidiazuron (hormone de croissance)
- U : unité
- UICN : Union internationale pour la conservation de la nature
- W/m^2 : Watt par mètre carré

Liste des figures

Liste des figures :

Figure 1: Arbre du genévrier thurifère (<i>Juniperus thurifera</i>) dans les montagnes des Aurès..7	
Figure 2: Distribution générale de <i>Juniperus thurifera</i> dans la région méditerranéenne..... 10	10
Figure 3: Localisation géographique des populations de <i>Juniperus thurifera</i> en Algérie. 10	10
Figure 4: Principe de la PCR (Polymérase Chain Réaction)..... 14	14
Figure 5 : Principe de la technique AFLP. 16	16
Figure 6: Localisation des populations de <i>Juniperus thurifera</i> soumises à une analyse génétique et structure génétique des populations sur la base de six loci nSSR: (A) diagrammes à barres obtenus à partir d'une DAPC avec des barrières génétiques obtenues avec l'algorithme de Monmonier ; (B) la proportion où appartient chaque individu dans les six groupe (cluster) supposées (K = 6) selon une approche bayésienne estimée par STRUCTURE; (C) estimation du nombre optimal de groupes génétiques suivant la méthode ΔK d'Evanno. Carte réalisée par QGIS..... 43	43
Figure 7 : Représentation d'un graphique d'ordination pour les deux premiers axes des composants principaux résultant d'une DAPC pour chaque individu, les ellipses indiquent leur affectation aux groupes génétiques inférées. Le graphique en bas à droite indique la variance expliquée par les principaux axes des composants utilisés pour le DAPC (gris foncé)..... 44	44
Figure 8. Gamme théorique actuelle de <i>Juniperus thurifera</i> , estimée à l'aide de MaxEnt à partir des données de WorldClim; A, peuplements européens et africains; B, peuplements exclusivement africains; C, peuplements exclusivement européens..... 49	49
Figure 9. Gamme théorique actuelle de <i>Juniperus thurifera</i> , estimée à l'aide de MaxEnt à partir des données de CHELSA; A, peuplements européens et africains; B, peuplements exclusivement africains; C, peuplements exclusivement européens..... 50	50
Figure 10: Étendue théorique de <i>Juniperus thurifera</i> dans le passé, estimée à l'aide de MaxEnt à partir des données de WorldClim; A, Eémien (environ 120-140 ka BP); B, LGM (il y a environ 22 000 ans), tous les peuplements; C, LGM, peuplements européens..... 52	52
Figure 11: Gamme théorique de <i>Juniperus thurifera</i> dans le futur est estimée à l'aide de MaxEnt à partir des données de CHELSA; A, peuplements européens et africains; B, peuplements exclusivement africains; C, peuplements exclusivement européens. Le scénario de changement climatique RCP 2.6 a été utilisé pour le modèle CCSM4. Carte réalisée avec QGIS..... 53	53

Liste des figures

Figure 12 : Influence de 19 variables bioclimatiques sur la distribution actuelle de <i>Juniperus thurifera</i> selon l'analyse en composantes principales (ACP) basée sur 280 données d'occurrence d'espèces.....	55
Figure 13 : Graphique d'ordination pour les deux premiers axes des composants principaux résultant d'une DAPC pour chaque individu, les ellipses indiquent leur affectation aux groupes morphologique inférées.	56
Figure 14: Qualité des galbules de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> en fonction des provenances étudiées.....	56
Figure 15: Qualité des graines de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> en fonction des thuriferaie	57
Figure 16 : Etat sanitaire des galbules et graines de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i>	58
Figure 17: Développement des semis de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> issus après des prétraitements.	59
Figure 18 : Taux de germination des embryons de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> cultivés sur le milieu DCR.....	60
Figure 19 : Temps moyen de germination des embryons de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> cultivés <i>in vitro</i>	61
Figure 20 : Développement des vitroplants de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> en fonction des milieux de culture.	62
Figure 21: Nombre moyen des feuilles de vitroplants de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> en fonction des milieux de culture	63
Figure 22 : Etapes de développement d'un embryon de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> mise en culture dans le milieu DCR.....	63
Figure 23 : Taux de callogenèse et nécroses des vitroplants de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> . cultivés sur milieu DCR.	64

Liste des tableaux

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Travaux réalisés sur la systématique de <i>Juniperus thurifera</i>	8
Tableau 2. Les travaux réalisés sur la germination des graines du genre <i>Juniperus</i> en utilisant les prétraitements.....	25
Tableau 3. Travaux réalisés sur la régénération <i>in vitro</i> du genévrier thurifère en Algérie.....	26
Tableau 4 : Localisation géographique des populations du genévrier thurifère utilisées pour l'analyse génétique.	29
Tableau 5 : Marqueurs microsatellites nucléaires (nSSR) utilisés (<i>Teixeira et al., 2014</i>).	31
Tableau 6. Localisation des 06 populations de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i>	35
Tableau 7 : Synthèse des prétraitements réalisés pour induire la germination des endospermes blanchâtres de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i>	36
Tableau 8 : Localisation des populations étudiées de <i>Juniperus thurifera</i> , et résumé des statistiques de la variabilité génétique et AMOVA basé sur k-moyennes pour le nombre optimal de groupe (k = 4 et k = 9).	40
Tableau 9 : Estimations par paire de F_{ST} parmi les populations étudiées de <i>Juniperus thurifera</i>	41
Tableau 10: Résumé des analyses AMOVA basé sur K-moyenne réalisée en GenoDive, nombre optimal de groupe (k) indiquée par deux méthodes.	42
Tableau 11: Analyse de la variance moléculaire (AMOVA) estimé entre les régions géographiques (Europe, le Maroc et l'Algérie) et les groupes révélés par l'analyse en cluster (k= 4).	45
Tableau 12 : Contribution des variables bioclimatiques dans la distribution actuelle théorique de <i>Juniperus thurifera</i> (WorldClim).	46
Tableau 13: Contributions des variables bioclimatiques dans la distribution théorique actuelle de <i>Juniperus thurifera</i> (CHELSA).	47
Tableau 14: Charges factorielles des variables bioclimatiques de deux premières composantes principales (PC1-PC2) révélés par l'analyse en composantes principales (PCA).	54
Tableau 15 : Taux de germination et le temps moyen de germination (TMG) des endospermes de <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> stratifié à froid.	59

Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale:

Contrairement au Nord de la Méditerranée, les modèles de diversité et de différenciation génétique des espèces ligneuses dans la partie sud qui comprend l'Afrique du Nord sont plutôt mal explorés (Nieto Feliner, 2014; Bouahmed et *al.*, 2019). Cependant, des études axées sur l'histoire de l'évolution des espèces ligneuses de l'Afrique du Nord montrent que le caractère distinctif entre les populations algériennes, marocaines et tunisiennes émerge de manière récurrente. Dans les études sur la variabilité de l'ADNcp (ADN du chloroplaste) de *Quercus canariensis* (Petit et *al.*, 2002) et de *Quercus ilex* (Lumaret et *al.*, 2002) et de la diversité d'ADNmt (ADN Mitochondrial) de *Pinus pinaster* (Burban et Petit, 2003), les populations algériennes ont démontré un niveau d'haplotypes différents de celles des populations marocaines ; une conclusion similaire est tirée pour *Olea europea* (Besnard et *al.*, 2002). En outre, les populations marocaines de *Cedrus atlantica* et *Alnus glutinosa* sont également génétiquement distinctes des populations algériennes (Terrab et *al.*, 2008a; Lepais et *al.*, 2013). Les divergences révélées dans *Alnus glutinosa* inclut également des différences dans le niveau de ploïdie, comme les espèces marocaines affichant la tétraploïdie par rapport à la diploïdie affichée par les populations algériennes et européennes.

Juniperus thurifera L. (génévrier thurifère) se disperse en Europe et en Afrique du Nord, mais reste très fragmenté (Gauquelin et *al.*, 2002; Aymerich et Villar, 2013; Villar, 2013). La plus grande zone de distribution couvre les montagnes de la Péninsule Ibérique, suivie par les régions du Haut Atlas et Moyen Atlas, avec une sous-population séparée dans l'Anti-Atlas au Maroc (Gauquelin et *al.*, 1999; Aymerich et Villar, 2013; Villar, 2013). La distribution de cette espèce s'étend en Espagne par la colonisation des champs abandonnés (Desota et *al.*, 2010). Au-delà de la Péninsule Ibérique, l'espèce est considérée comme rare en Europe et peut se trouver dans les Alpes du Sud, les Pyrénées et la Corse. En ce qui concerne la gamme africaine des populations marocaines sont extrêmement dégradées (Auclair, 1993; Gauquelin et *al.*, 1999, 2012), mais les populations les plus isolées et confinées de cette espèce sont les populations algériennes (Gauquelin et *al.*, 1999; Gauquelin et *al.*, 2012).

En Algérie, le génévrier thurifère est localisé uniquement dans six endroits, dans les montagnes des Aurès, qui sont la continuation orientale de la chaîne des montagnes de l'Atlas saharien et sont considérés comme l'une des 39 zones clés pour la biodiversité du nord algérien (Beghami, 2013; Benhouhou et *al.*, 2018). Les zones les plus peuplées indiquent l'existence des peuplements relativement denses composées de 3500 à 8000 individus matures (UCIN, 2001). En plus de la contraction des populations du génévrier thurifère en Afrique qui

Introduction générale

est due au climat, son déclin est strictement lié à la pression humaine. En premier lieu, il a été diminué en raison de la surexploitation et de la récolte du bois utilisé comme combustible depuis plusieurs millénaires (Gauquelin et *al.*, 1999). En second lieu, le maintien d'un niveau élevé d'élevage et la culture traditionnelle des pâturages dans les pays méditerranéens, qui se traduit par le surpâturage, est également un facteur important affectant le déclin des espèces en Algérie et au Maroc (Barbero et *al.*, 1990). Le surpâturage et la coupe des branches ont un effet négatif sur la capacité de régénération de cette espèce (Gauquelin et *al.*, 1999). À l'heure actuelle, toutes les populations algériennes souffrent d'un manque de régénération naturelle et les individus âgés prévalent dans la plupart des populations ce qui diminue probablement leurs capacités de reproduction.

La distribution très fragmentée de *Juniperus thurifera* L. correspond à sa différenciation morphologique et génétique, ce qui a conduit à la subdivision en taxons intra-spécifique. La division taxonomique majeure suit la répartition des espèces Ibéro-Africaines, elle est influencée par l'effet isolant du détroit de Gibraltar (Rodriguez-sanchez et *al.*, 2008; Boratyński et *al.*, 2009; Jaramillo-Correa et *al.*, 2010; Lavergne et *al.*, 2013; Dering et *al.*, 2014; Nieto Feliner, 2014). La spécificité morphologique et génétique des populations d'Europe et d'Afrique du Nord a conduit à la reconnaissance de deux sous-espèces : *Juniperus thurifera* subsp. *thurifera* et *Juniperus thurifera* subsp. *africana* (Maire) Romo et Boratyński (Gauquelin et *al.*, 1988; Jiménez et *al.*, 2003; Teixeira et *al.*, 2014). Au sein de l'espèce Européenne, les variétés géographiques sont décrites, à savoir, *Juniperus thurifera* var. *gallica* dans les Alpes et les Pyrénées, *Juniperus thurifera* var. *hispanica* (Auclair, 1993) en Espagne et *Juniperus thurifera* var. (chimovar.) *corsicana* Gauquelin, Idr. Hass. & P. Lebreton en Corse (Vela et Schäfer, 2013). Une suggestion de séparer les populations algériennes sous le nom de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* Vela & P. Schaf., une nouvelle variété est faite par Vela et Schäfer en 2013, sur la base des critères géographiques et morphologiques. Le caractère distinctif des stands algériens est confirmé par Zeraib et *al.* (2014), dans les études chimiotaxinomiques. Cependant, le caractère génétique intermédiaire d'une seule population d'Algérie analysée par Terrab et *al.* (2008b), a suggéré qu'il était plus étroitement lié génétiquement aux peuplements européens.

Selon l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN), *Juniperus thurifera* L. est classé comme étant moins préoccupants, cela peut être raisonnable dans le cas des populations Espagnoles qui occupent de vastes zones (UICN, 2019). Cependant, en Afrique du Nord, les populations du genévrier thurifère sont fragmentées et la régénération est réduite (Villar, 2013). En Algérie, le genévrier thurifère est considéré comme un taxon

Introduction générale

vulnérable et pourrait devenir rare à court terme (Auclair, 1993; Terrab et *al.*, 2008b; Ouhammou et *al.*, 2013), la régression peut être une réponse au réchauffement climatique où les espèces ont recours à deux stratégies pour survivre : s'adapter au nouveau climat local ou migrer vers des habitats plus favorables. Or la vitesse et l'intensité des changements climatiques anticipés d'ici la fin du siècle dépasseraient la capacité d'adaptation de certaines espèces forestières (Lamhamedi et *al.*, 2017). En particulier, les études sur les populations algériennes sont importantes, car elles peuvent fournir des informations sur les ressources génétiques des espèces et révéler si ces populations forment une lignée génétique distincte qui doit être reconnue comme une unité de conservation séparée. L'emplacement très marginal des populations algériennes dans les montagnes des Aurès qui empêchent pratiquement le flux des gènes provenant d'autres parties de la portée géographique de l'espèce peut constituer une menace pour sa survie à long terme, en particulier en termes du changement climatique en cours (Guiot et Cramer, 2016). De plus, les réponses génétiques aux changements environnementaux liés au climat seront probablement basées sur la diversité génétique permanente, qui exige le maintien de la forte variabilité intra-population (Orr et Unckless, 2014).

L'analyse génétique est entreprise pour examiner les différences entre les populations algériennes de *Juniperus thurifera* L. en référence aux stands marocains et européens, les études précédentes étaient peu convaincantes (Terrab et *al.*, 2008b; Vela et Schäfer, 2013; Zeraib et *al.*, 2014). Deux questions sont posées : i) Est-ce que la répartition spatiale de la diversité génétique de *Juniperus thurifera* subsp. *africana* correspond aux ruptures génétiques Est-Ouest signalées pour certaines espèces d'Afrique du Nord? ii) Est-ce que la différenciation génétique intraspécifique peut avoir des implications taxonomiques sur les populations algériennes ?

Pour prédire l'impact des changements climatiques et évaluer les risques potentiels, la modélisation de la distribution des espèces (SDM) est réalisée. Récemment, cette méthode est largement utilisée dans les simulations des changements futurs dans les modèles de distribution des espèces induites par le changement climatique et a été reconnu comme un outil nécessaire qui peut soutenir efficacement les études génétiques de conservation et la planification des opérations de conservation (Wan et *al.*, 2016; Bouahmed et *al.*, 2019; Walas et *al.*, 2019). La mise en œuvre d'actions de conservation nécessite une compréhension approfondie de la flore, mais également de sa répartition historique et actuelle dans la région concernée, ainsi que de son écologie, de sa variation génétique et de sa démographie. Toutes

Introduction générale

ces données sont essentielles pour déterminer le degré de menace auquel chaque taxon est confronté et ainsi établir des priorités pour la conservation (Valderrábano et *al.*, 2018).

En dépit de son importance pour la biodiversité des zones de montagne, le thurifère a une importance économique particulièrement dans le domaine thérapeutique. En effet, il possède des vertus anti-inflammatoires, une activité antimicrobienne et antifongique avérée (Mansouri et *al.*, 2010; Lesjak et *al.*, 2011; Gauquelin et *al.*, 2012; Ahani et *al.*, 2013).

Le genévrier thurifère produit des graines de façon sporadique et la plupart d'entre elles sont vides, dû à des facteurs environnementaux ou génétiques (ou probablement les deux) qui interfèrent avec le processus de reproduction, ce qui provoque son échec. De plus, dans toutes les populations, les arbres femelles représentent un maximum de 20% de la taille de la population. Puisque le succès de régénération le plus élevé est sous les arbres femelles, un nombre insuffisant de ces arbres dans une population est un autre facteur qui affecte négativement le processus de régénération (De Peña et *al.*, 2012). En plus, les attaques parasitaires des galbules et des graines réduisent de manière drastique le potentiel de régénération naturelle du genévrier thurifère (Roques et *al.*, 2013). La cuticule est la première barrière attaquée par les parasites (Dodd et Poveda, 2003). Certains auteurs comme García (2001) et Wesche et *al.* (2005), rapportent que la qualité des galbules de *Juniperus communis* diminue dans les régions froides et sèches, seulement une petite quantité des galbules qui contiennent des grains susceptibles de germer. Un incendie accidentel dans les montagnes de Rié en France a provoqué l'élimination des ravageurs a eu un effet bénéfique sur la régénération naturelle du thurifère (Roques et *al.*, 2013), de là une étude de la qualité des galbules du *Juniperus thurifera* L. algérienne est entreprise. Les graines viables du thurifère présentent des difficultés de germination causées par une double dormance tégumentaire et embryonnaires (Badri, 2003; Ferradous et *al.*, 2013; Matías et *al.*, 2013); l'inactivité des structures internes des graines empêchent l'émergence des cotylédons et les radicules (Tauer, 2010). Les traitements préalables des graines comme la scarification mécanique, l'immersion dans l'eau chaude et froide, ou bien l'immersion dans des régulateurs de croissance (GA₃, BAP), stratification chaude et froide, traitements par la fumée (Tigabu et *al.*, 2007; Tauer, 2010; Daneshvar et *al.*, 2016) sont des méthodes efficaces pour la lever de dormance des graines de *Juniperus thurifera* (Ferradous et *al.*, 2013), *Juniperus procera* (Lemessa et *al.*, 2017), *Juniperus sabina* (Tylkowski, 2010), *Juniperus communis* (Mccartan et Gosling, 2013) et *Juniperus polycarpos* (Negi et Sharma, 2017). Les prétraitements vont-ils avoir des effets positifs sur la lever de dormance des graines de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*?

Introduction générale

La dernière partie de ce travail concerne la micropropagation du genévrier thurifère, il faut savoir que la micropropagation est utilisée dans plusieurs espèces des conifères pour surmonter les problèmes de germination.

L'induction de la germination du genévrier thurifère peut se faire en utilisant la culture d'embryons isolés (Morsli et al., 2015). Cette technique est très utilisée dans la régénération *in vitro* des arbres comme chez *Juniperus cedrus* (Harry et al., 1995), *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* et *macrocarpa* (Cantos et al., 1998), *Pistacia vera* L. (Benmahiou, 2009) et *Argania spinosa* L. (Ziani, 2014). En raison de manque des travaux sur la régénération artificielle du genévrier thurifère que ce soit *in vitro* ou bien *in vivo* nous avons entamés dans la présente étude la germination *in vitro* en utilisant la culture d'embryon isolé et la germination *in vivo* en testant l'effet des prétraitements sur les graines du genévrier thurifère. Les méthodes de régénération des graines du genévrier thurifère sont entreprises pour lever la dormance des graines et induire la germination.

Dans la présente étude, une analyse génétique et géographique des populations du *Juniperus thurifera* méditerranéenne sont réalisés pour déterminer la différence génétique entre les populations et les zones refugia appropriés. La régénération est une étape importante pour la survie du genévrier thurifère algérienne, pour cela nous nous sommes focalisés sur la régénération *ex situ*.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Caractéristiques générales de *Juniperus thurifera* :

1. Caractères botaniques et biologiques :

Le genévrier thurifère est un arbre ou arbuste qui peut atteindre 20 m de hauteur, mais la hauteur la plus fréquente est de 3 à 8 m, avec un tronc monopodial ou ramifié près du sol (Fig.1), l'écorce souvent grisâtre présente des fissures et des stries longitudinales. Nombreuses branches étalées ou ascendantes à feuillages sempervirent en écailles charnues, aiguës, entières ou faiblement denticulées, appelées feuilles squamiformes, de type cupressoïde (Gauquelin, 1999; Badri, 2003; Farjon, 2010; Farjon et Filer, 2013; Adams, 2014; Abderrezek, 2017).

A jeune âge les feuilles sont sous forme des petites feuilles en alènes (Badri, 2003). Les écailles portent sur la face dorsale une glande sécrétrice qui confère au genévrier thurifère son odeur particulière (Montès, 1999; Ouhammou et *al.*, 2013).

Le genévrier thurifère est un phanérophyte dioïque, bien que des pieds monoïques sont observés dans les Alpes françaises, en Corse, en Espagne, au Maroc et en Algérie ; héliophile, orophile de la famille des cupressacées (Gauquelin et *al.*, 2002; Adams et *al.*, 2003; Badri, 2003; Farjon, 2010; Farjon et Filer, 2013; Ouhammou et *al.*, 2013; Villar, 2013; Zeraib, 2018; Rodriguez-García et *al.*, 2019). Les fleurs mâles sont réunies en chatons terminaux, de forme ellipsoïdale de 1 à 5, et réunies en inflorescences à la partie terminale des ramules (Montès, 1999; Abderrezek, 2017). Leur floraison se déroule au mois de février au mois d'avril (Badri, 2003). Les cônes femelles appelée aussi galbules sont sub-globuleuse à 4-6 écailles, charnues de couleur bleu noir ou bleuâtres à maturité, contiennent 2 à 4 graines suivant les variétés, elles sont ellipsoïdes sub-trigones, arrondies au niveau de la base seulement.

Les galbules sont produites à nombre très élevé, leur maturité est atteinte au bout de deux ans (Montès, 1999; Badri, 2003; Farjon, 2010; Gauquelin et *al.*, 2012). Le thurifère se développe sur tous les substrats, en milieu rocailleux et sur les éboulis fixés, essentiellement aux étages montagnards et oroméditerranéens, en bioclimat sub-humide et surtout semi-aride, au niveau des pelouses écorchées à xérophytes épineux, il s'associe localement au chêne vert et au cèdre, en fonction des localités (Gauquelin et *al.*, 1999; Quezel et Gast, 1998).



Figure 1: Arbre du genévrier thurifère (*Juniperus thurifera*) dans les montagnes des Aurès.

2. Taxonomie de *Juniperus thurifera* :

Les 615 espèces de conifères existants sont classées selon 8 familles dont 541 appartiennent aux trois plus grandes familles *Pinaceae*, *Podocarpaceae* et *Cupressaceae* (Farjon, 2010). La famille des *Cupressaceae* comprend 30 genres et 135 espèces. *Juniperus* est l'un des genres les plus divers des conifères (67 espèces), il englobe un grand nombre d'espèces (Adams et *al.*, 2003; Farjon, 2010; Adams, 2014). Parmi ces espèces, nous retrouvons le *Juniperus thurifera* qui est classé comme suit (Quézel et Santa, 1962; Gaussen, 1968; Badri, 2003; Beghami, 2013):

- Règne : *Planta*
- Embranchement : Spermatophytes
- Sous-embranchement : Gymnospermes
- Ordre : Coniferales
- Famille : *Cupressaceae*
- Genre : *Juniperus*
- Espèce : *Juniperus thurifera*
- Nom commun : genévrier thurifère
- Nom berbère : Aiwâl, Hazenzna, Taoualt et Araâr

Au sein du taxon *Juniperus thurifera*, il existe une différence intraspécifique, sur des bases à la fois géographiques et morphologiques qui ont permis aux botanistes de distinguer plusieurs variétés : dans les Alpes et les Pyrénées (var. *gallica*), en Espagne (var. *hispanica*) et en Afrique du nord *Juniperus thurifera* var. *africana* (Auclair, 1993; Badri, 2003; Vela et

Schäfer, 2013). Le *Juniperus thurifera* L. de l'Afrique du Nord a subi beaucoup de changements de nomenclature. Il a été longtemps considéré comme variété : *Juniperus thurifera* L. var. *africana* puis espèce distincte *Juniperus africana* (Maire), une autre étude à classer le thurifère africaine comme sous espèce : *Juniperus thurifera* subsp. *africana* (Adams, 2014).

Une analyse génétique des populations du genévrier thurifère du bassin méditerranéen par l'analyse AFLP à montrer que le thurifère des Aurès est une population intermédiaire entre le genévrier thurifère du Maroc et le genévrier thurifère européenne (Terrab et al., 2008b), ce qui a poussé Vela et Schäfer (2013) à étudier la systématique de cette espèce en se basant sur des critères morphologique, ses derniers ont suggéré de distinguer le genévrier thurifère algérien en variété distincte (*Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*). Un résultat qui est confirmé par une analyse génétique de Taib et al. (2020).

Tableau 1 : Travaux réalisés sur la systématique de *Juniperus thurifera*.

Provenance	Étude réalisée	Résultats	Références
Européenne et marocaine	Étude morphologique	Nouveau découpage systématique	Gauquelin et al., 1988
Espagne et Maroc	Analyse d'ADN polymorphe amplifié (RAPD)	Trois groupes de populations où les populations marocaine été classés dans un groupe à part	Jiménez et al., 2003
Européenne et marocaine	Étude morphologique	Une différence entre <i>Juniperus thurifera</i> subsp. <i>thurifera</i> et <i>Juniperus thurifera</i> subsp. <i>africana</i>	Romo et Bortynski, 2007
Européenne, marocaine et algérienne	Analyses génétique par polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP)	Une suggestion de ressemblance génétique entre les populations algérienne et les populations Européenne	Terrab et al., 2008b
Européenne, marocaine et algérienne	Etude morphologique	Suggestion d'une nouvelle variété : <i>Juniperus thurifera</i> var. <i>aurasiaca</i> .	Vela et Schäfer, 2013
Européenne et marocaine	Etude morphologique	Confirmation de l'existence de deux sous-espèces: <i>Juniperus thurifera</i> subsp. <i>thurifera</i> et <i>Juniperus thurifera</i> subsp. <i>africana</i>	Bortynski et al., 2013

3. Ecologie de *Juniperus thurifera* :

Le genévrier thurifère est classé dans les étages de végétations supro-montagnardes et oroméditerranéennes, semi-arides, subhumides voire localement humides (Coussy et *al.*, 2013; Ouhammou et *al.*, 2013), c'est une espèce héliophile xérothermique qui résiste à la sécheresse et une température qui peut atteindre jusqu'à 40 °C, et des températures basses allant jusqu'à -25 °C, aux gelées hivernales, à l'évapotranspiration importante, aux vents, à l'insolation intense et aux fréquents orages estivaux (Gauquelin, 1999; Rivas-Martínez et *al.*, 2002). Le genévrier thurifère semble indifférent au type du sol, poussant généralement sur des sols très rocheux et squelettiques.

En Algérie, le thurifère est en association avec *Fraxinus dimorpha*, *Quercus ilex*, *Hertia cheirifolia*, *Lotus corniculatu*, *Juniperus oxycedrus* et *Medicago turbinata* dans les altitudes qui s'étendent de 1369 à 1742 m d'altitude. Par contre, dans les hautes altitudes (1910 - 2068 m) il pousse avec *Cedrus atlantica*, *Centaurea tougourensis*, *Cartamus pinnatus*, *Dianthus serrulatus*, *Lysimachia monelli* et *Cytisus balansae* (Farjon, 2010; Beghami, 2013).

4. Localisation géographique:

Juniperus thurifera se localise entre 200 et 3150 m d'altitude, son aire de répartition est fragmentée. Elle ne se retrouve qu'en Péninsule Ibérique, les Pyrénées, les Alpes du Sud-Est, l'île de Corse, le Maroc (31000 ha dans le moyen et grand Atlas) et dans les Aurès, en Algérie (Gauquelin et *al.*, 1998; UCIN, 2001; Jiménez et *al.*, 2003; Coussy et *al.*, 2013; Villar, 2013). Le maintien et la préservation du *Juniperus thurifera* sont différents au Nord et au Sud de son aire de répartition. Au Sud, les peuplements sont menacés de disparition vue leurs usages multiples et persistants ainsi qu'une faible régénération. Par Contre au Nord, il est peu menacé et dynamique (Montès, 1999; Romo diez et Boratyński, 2005; Coussy et *al.*, 2013). Le genévrier thurifère couvre une superficie qui varie de quelques centaines d'hectares (en Algérie et en Italie) à environ 150 000 ha (en Espagne et au Maroc) (Montès, 1999; Zeraib, 2018).

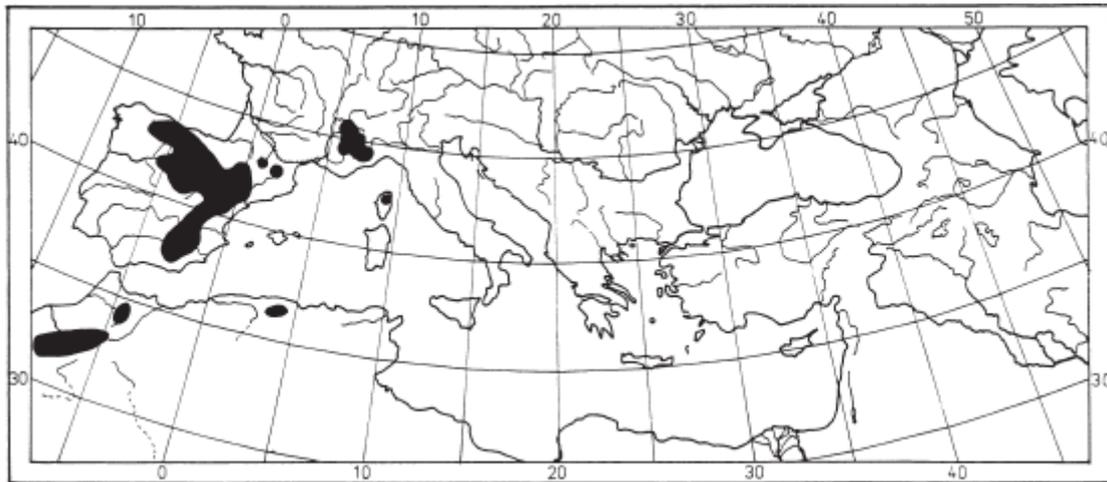


Figure 2: Distribution générale de *Juniperus thurifera* dans la région méditerranéenne (Romo diez et Boratyński, 2005).

En Algérie, le genévrier thurifère est extrêmement rare et se localise seulement dans la région des Aurès où il forme des peuplements clairs (Beghami, 2013; Abderrezek, 2017; Khater, 2018). Le thurifère se répartit selon l'altitude en cinq peuplements : peuplement de Ain El-Beida (T'Kout) situé entre 1300 et 2000 m d'altitude dont le nombre de pied est d'environ 4000, peuplement de Oued Abdi (ZANA) entre 1.300 m et 2.100 m d'altitude comprenant environ 8000 sujets, peuplement de Tibhirine et Ichmoul sur les versants Nord entre 1400 m et 1800m, peuplement de S'gag où le thurifère côtoie le cèdre jusqu'à 2100 m d'altitude, peuplement Chélia et Tafrent à 1800 m d'altitude (UCIN, 2001; Beghami, 2013; Abderrezek, 2017). Le nombre d'arbre du genévrier thurifère dans le peuplement Chélia est de 31 (Communication Beghami, 2019).

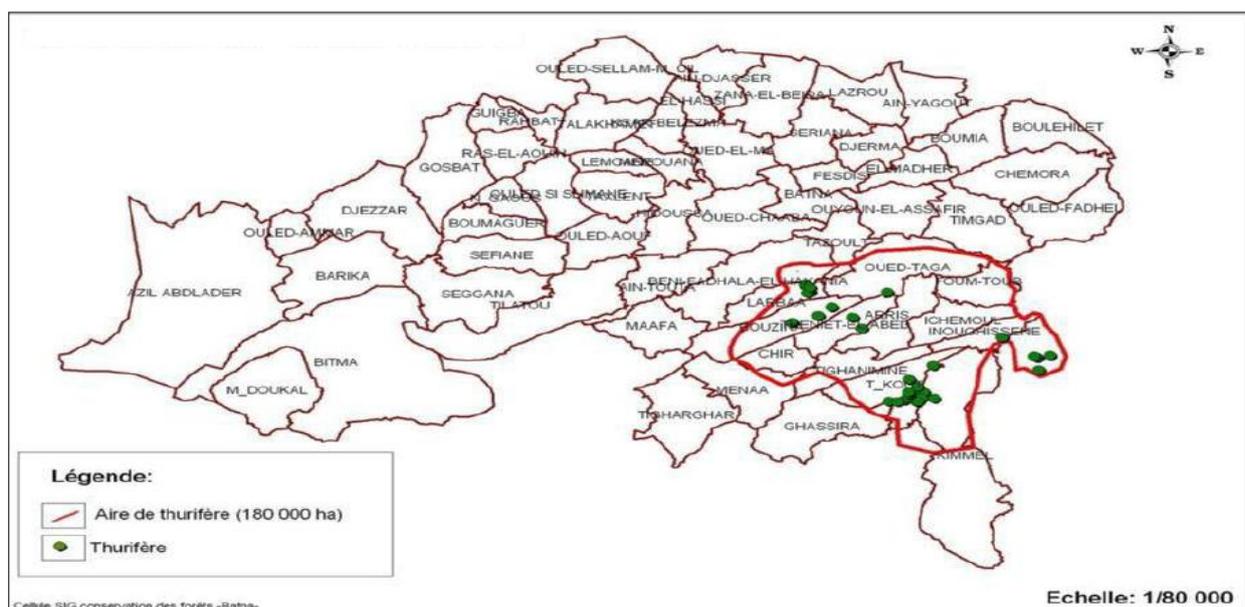


Figure 3: Localisation géographique des populations de *Juniperus thurifera* en Algérie (Conservation des forêts de Batna, 2018).

5. Intérêt de *Juniperus thurifera* :

Le thurifère est une espèce qui tolère les conditions environnementales très difficiles, il est capable de reconquérir non seulement les terres de parcours, mais aussi les champs abandonnés (Villar, 2013). Cette espèce peut conquérir des espaces qu'aucune autre espèce ne peut le faire (Gauquelin et *al.*, 2012), elle est très promotrice pour le reboisement des zones montagneuses (Gauquelin, 1999). Il est réputé par son bois d'œuvres de bonne qualité en raison de sa grande densité, dureté et une grande résistance aux intempéries. Il est utilisé pour la construction des toitures, charpentes, portes. La finesse de grain de son bois justifie son usage en ébénisterie pour divers meubles comme les armoires. Il est aussi utilisé comme bois de chauffage (Auclair, 1993; Quezel et Gast, 1998; Gauquelin, 1999; Gauquelin et *al.*, 2012; Coussy et *al.*, 2013).

Les galbules du genévrier thurifère sont reconnues pour leurs vertus anti-inflammatoires lors de soins bucco-dentaires, elles arrêtent les saignements de la gencive (Gauquelin et *al.*, 2012). Les feuilles sont décortiquées et utilisées comme abortifs ou en cataplasme contre les migraines, maux de tête, insolation et contre les hémorroïdes et aussi leurs odeurs forte élimine les parasites chez les animaux (Quezel et Gast, 1998).

La distillation du bois de genévrier permet de produire du goudron qui est peu analogue à l'huile de cade extraite du genévrier oxycèdre utilisé en médecine vétérinaire (Gauquelin, 1999; Coussy et *al.*, 2013). Les huiles essentielles des rameaux du *Juniperus thurifera* possèdent une activité antimicrobienne et antifongique qui peut être attribuée à leurs composés majoritaires qui sont des pinènes (β -pinène 36,25 %) (Mansouri et *al.*, 2010; Zeraib, 2018).

6. Régénération naturelle de *Juniperus thurifera*:

La régénération naturelle du genévrier thurifère est quasi absente dans les peuplements naturels du Nord-Africain, à l'exception de quelques régénérations observées en Algérie et au Maroc, ses jeunes plantules disparaissent généralement sous l'effet de la sécheresse (Badri, 2003; Beghami, 2013; Khater, 2018). L'absence de germination est due essentiellement aux activités humaines à l'intérieur du peuplement (pâturage, coupe illicite et incendie), les attaques parasitaires qui provoquent une baisse énorme du taux des graines susceptibles de germer et la double dormance qui caractérise les graines de genre *Juniperus* (El Alaoui El Fels et *al.*, 1999; El Alaoui El Fels et *al.*, 2013; Ferradous et *al.*, 2013). La dormance est l'incapacité d'une graine viable et saine de germer dans des conditions optimales (Baskin et Baskin, 2004; Stoehr et El-Kassaby, 2011). Généralement, il existe deux types de dormance :

dormance embryonnaire et dormance tégumentaire. Pour la dormance embryonnaire, les facteurs endogènes empêchent la germination tel que l'acide abscissique; dans la dormance tégumentaire, les structures extérieures de l'embryon, telles que le mégagamétophyte ou l'enveloppe de la graine empêchent l'émergence de la radicule (Baskin et Baskin, 2004; Stoehr et El-Kassaby, 2011). Les graines de *Juniperus thurifera* ont un double dormance (Abderrezek, 2017).

La viabilité des populations végétales dépend de leur capacité à se reproduire avec succès, la production de graines viables est un stade primordial pour réussir la régénération (Mezquida et al., 2016; Rodriguez-García et al., 2019), cette viabilité reste faible chez le genre *Juniperus* en raison de l'échec de la pollinisation par le vent et les prédateurs des graines (Mezquida et Olano, 2013; Mezquida et al., 2016; Rodriguez-García et al., 2019). Les espèces qui produisent un grand nombre de graine sont les plus attaquées par les arthropodes des cônes et des graines (Roques et al., 2013; Mezquida et al., 2016). Parmi, les ravageurs qui attaquent les galbules et les graines du *Juniperus thurifera* sont : *Megastigmus thuriferana*, *Trisetacus quadrisetus*, *Contarinia* sp., *Pammene oxycedrana*, *Argyresthia reticulata* et *Nanodiscus transversus* (El Alaoui El Fels et al., 2013).

La faible pollinisation peut conduire à l'avortement précoce et les pertes d'embryons ovulaires après la fécondation (Gruwez et al., 2013; Rodriguez-García et al., 2019). Les cônes du genévrier thurifère décortiqués sont en plusieurs états : vides; des graines contenant des embryons desséchés ; des graines lignifiées de couleur marron ; où des graines à embryon viables (Ferradous et al., 2013; Ould Maamar et Saadi, 2015).

II. Analyse génétique :

Les populations naturelles sont composées d'organismes génétiquement différents, les espèces dont les populations fragmentées et peu peuplées présentent souvent une diversité génétique faible et une différenciation au sein de la population (Serre, 2006; Marzouki et al., 2009). Le genévrier thurifère une espèce exclusivement tétraploïde du genre *Juniperus*, les tétraploïdes sont les individus qui présentent quatre lots de chromosomes (Romo et al., 2013; Teixeira et al., 2014; Gavalda, 2015). La polyploïdie est rare chez les lignées des gymnospermes, elle présente un moteur de la diversification, de l'évolution et de l'adaptation écologique des plantes (Romo et al., 2013; Gavalda, 2015; Farhat, 2019).

L'analyse moléculaire de l'ADN (acide désoxyribonucléique) implique une série de procédures détaillées allant de l'isolement de l'ADN à l'analyse des résultats (Grout, 1995). L'avancé clé en génétique moléculaire est le développement de la réaction en chaîne par

polymérase (PCR) suivi par la découverte des locus microsatellites et du séquençage de l'ADN (Sunnucks, 2000).

1. Polymorphisme :

Les espèces forestières sont extrêmement polymorphes (Kremer, 1994), les différences génétiques entre les individus, autrement dit le polymorphisme génétique des populations est défini comme l'existence dans une population, de plusieurs états alternatifs de l'ADN, ou d'allèles, en une position définie du génome, ou locus. Les polymorphismes sont alors conçues comme un patrimoine, un capital adaptatif, un gage de survie de l'espèce aux variations de l'environnement, leurs mesures après le développement des techniques d'analyse moléculaire a permis de fournir une estimation de la diversité génétique globale existant non seulement entre individus d'une même population, mais aussi entre populations (Schibler et al., 2000; Serre, 2006; Veuille, 2016).

2. Techniques d'extraction de l'ADN :

L'ADN est présent dans tous les tissus, les manipulations sur cette molécule nécessitent au préalable son extraction (Riquet et Pitel, 2000). L'isolement de l'ADN d'une plante est possible en utilisant plusieurs méthodes, (1) le protocole classique avec un tampon de CTAB; (2) l'isolement avec MagnoPrime rapide et (3) l'isolement avec MagnoPrime Uni (Scobeyeva et al., 2018). Les méthodes les plus anciennes d'isolement de l'ADN à partir des plantes nécessitent de grandes quantités de tissu, la méthode hexadécyltriméthylammonium bromide (CTAB) est la plus utilisée en raison de son rendement élevé en ADN à partir des petites quantités de tissus et elle est moins coûteuse. Cette méthode est utilisée pour les espèces monoïques et dioïques avec certaine modification (Doyle et Doyle, 1990; Serre, 2006).

3. PCR (Polymérase Chain Réaction) :

La PCR est une technique très utilisée en biologie moléculaire, elle permet à la fois de cibler le ou les fragments de l'ADN que nous pouvons étudier et d'augmenter leur quantité de manière exponentielle pour déterminer le génotype de la plante (Henry, 1997; Helmreich, 1999; Riquet et Pitel, 2000). Cette technique permet de multiplier des séquences spécifiques de l'ADN en jouant sur les propriétés d'*hybridation* et de *dénaturation* des brins complémentaires de l'ADN en fonction de la température, elle permet aussi de déterminer les modifications dans les échantillons (Riquet et Pitel, 2000; Kordrostami et Rahimi, 2015). La PCR est une technique rapide, nécessite peu d'ADN, simple et spécifique (Henry, 1997; Riquet et Pitel, 2000).

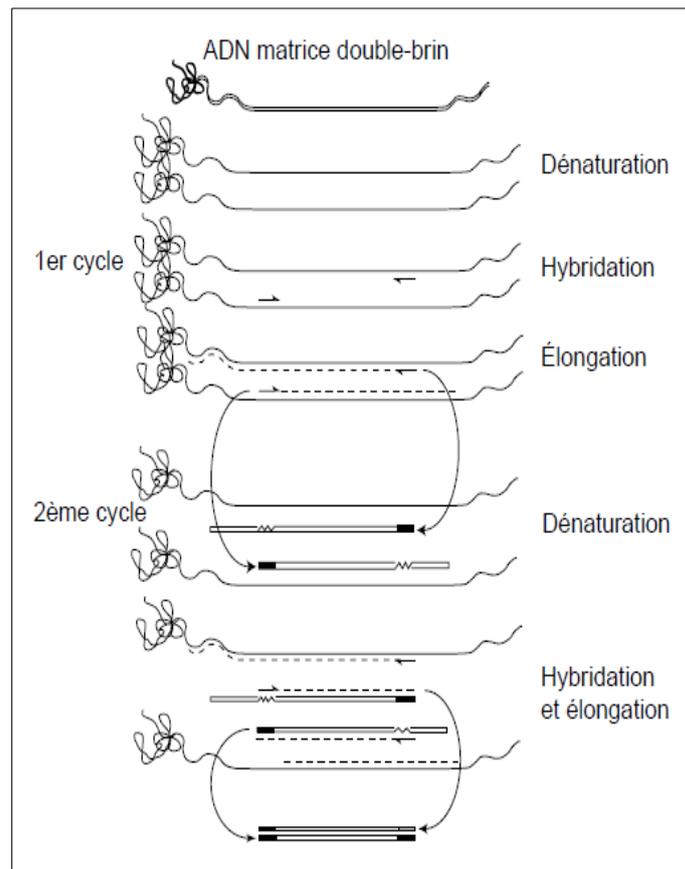


Figure 4: Principe de la PCR (Polymérase Chain Réaction) (Riquet et Pitel, 2000).

4. Marqueurs moléculaires :

Les marqueurs moléculaires d'ADN sont des séquences sélectivement neutres, car ils sont généralement situés dans des régions non codantes, présentant un polymorphisme selon les individus (Jones et *al.*, 1997; Kordrostami et Rahimi, 2015). Ils ont comme principe de caractériser certaines séquences génétiques réparties de façon appropriée dans le génome des variétés étudiées (Meunier, 2011). En général, les marqueurs d'ADN sont des fragments d'ADN indiquant des mutations ou des variations (Lateef, 2015).

Un marqueur idéal est polymorphe, discriminant, multiallélique, codominant, indépendant du milieu, neutre, réparti uniformément dans tout le génome, reproductible d'une expérience à l'autre, économique et manipulable à grande échelle (Tagu et Moussard, 2006; Kordrostami et Rahimi, 2015). Les marqueurs codominants offrent théoriquement l'accès à la structure génotypique complète des individus (Meeûs, 2012).

La technologie des marqueurs moléculaires n'a cessé d'évoluer, des RFLP basés sur l'hybridation aux RAPD, AFLP et SSR basés sur la PCR, et enfin aux SNP à haut débit. Plus récemment, le génotypage à très haut débit par séquençage (GBS) est mis en place (Mir et *al.*, 2013; Lateef, 2015).

4.1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism):

Le polymorphisme de longueur des fragments de restriction est l'une des premières techniques d'analyse de l'ADN, le RFLP est un marqueur moléculaire basé sur l'hybridation (Henry, 1997; Kordrostami et Rahimi, 2015). Il est de type mutation, insertion et délétion qui modifie les sites de restriction, mais les événements qui les génèrent sont aussi stables que les mutations donnant lieu à toute autre forme de variation allélique (Jones et *al.*, 1997; Pitel, Riquet, 2000). L'enzyme de restriction coupe des séquences spécifiques de l'ADN de taille différente qui seront séparées par électrophorèse (Henry, 1997). Les variations entre les individus reposent sur les différences éventuelles de longueur des fragments obtenus après digestion de l'ADN génomique par une enzyme de restriction (Pitel et Riquet, 2000; Marjoram et Tavaré, 2006).

Les principaux avantages des marqueurs RFLP sont la codominance, une reproductibilité élevée, l'absence d'informations des séquences préalables et une spécificité de locus élevée (Jones et *al.*, 1997; Lateef, 2015).

4.2. AFLP (Amplified Fragment-Length Polymorphism):

Les marqueurs AFLP (polymorphisme de longueur de fragment amplification) sont des fragments de restriction qui sont amplifiés par la technique de la réaction en chaîne par polymérase (PCR), la réplication des échantillons de l'ADN ce fait après l'addition des adaptateurs aux fragments (Arif et *al.*, 2011; Lateef, 2015).

L'AFLP est une technique de marqueur multi-locus qui combine les techniques d'amplification PCR sélective de la restriction et de la digestion par restriction des fragments de l'ADN. La première étape de la génération des AFLP consiste à double digérer l'ADN génomique avec deux enzymes de restriction. L'utilisation d'enzymes de coupe fréquente générerait trop de fragments pour l'électrophorèse sur gel. Ensuite, une courte séquence spécifique d'ADN est liée à une extrémité du fragment et une séquence différente est ajoutée à l'autre. Ces séquences, ainsi que les sites de restriction adjacente, servent comme sites de liaison pour les amorces de PCR. Les amorces sont conçues pour correspondre aux deux différentes séquences ajoutées et elles portent également des courtes extensions de 1 ± 3 nucléotides pour provoquer une amplification sélective de ces fragments avec une séquence complémentaire de 1 ± 3 nucléotides (Jones et *al.*, 1997; Pitel et Riquet, 2000; Lateef, 2015).

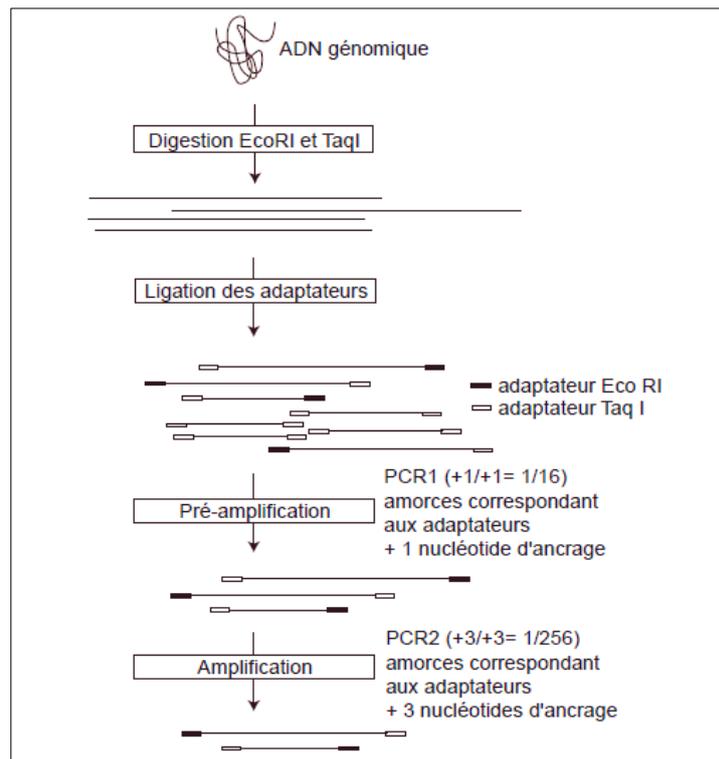


Figure 5 : Principe de la technique AFLP (Pitel et Riquet, 2000).

4.3. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA):

Utilisés pour construire des cartes génétiques chez les végétaux (Pitel et Riquet, 2000; Arif et *al.*, 2011). Leur principe repose sur l'utilisation d'une amplification PCR d'amorces d'une dizaine de bases, de séquence aléatoire et pouvant s'hybrider en plusieurs endroits du génome. Si l'amorce utilisée est complémentaire de deux sites distants de moins de 1 kb et situés sur l'un et l'autre brin de l'ADN matrice, un fragment spécifique de ce locus sera amplifié. Nous obtenons ainsi un profil multibandes (10 à 20 bandes) pour chaque individu. Le protocole standard permet d'amplifier facilement les marqueurs RAPD aléatoires. Aucune information génétique préalable sur l'espèce en question n'est requise et la méthode est relativement simple et peu coûteuse. Un inconvénient des RAPD est que la PCR de faible stringence requise dans la procédure entraîne un taux d'erreur de génotypage élevé et une reproductibilité du génotypage inférieure à celle des marqueurs à locus uniques (Arif et *al.*, 2011).

4.4. Microsatellites ou des répétitions de séquences courtes (SSR) :

Les microsatellites sont des séquences d'ADN répétées en tandem dont l'unité de répétition est comprise entre une et cinq paires de bases, détectés par amplification initiale en utilisant une réaction en chaîne de la polymérase (PCR). Ils peuvent être classés en trois familles (Jarne et Lagoda, 1996; Chapuis et Estoup, 2007; Meeûs, 2012):

- Répétitions pures (ex : CACACACACACACACACA),
- Répétitions composées (ex : CACACACACAGAGAGAGAGA),
- Répétitions interrompues (ex : CACATTCACACATTCATTCA),

Les microsatellites, monolocus, multialléliques, neutre, codominants et hérités de manière mendélienne, sont devenus les marqueurs de prédilection en génétique (Jarne et Lagoda, 1996; Gupta et Varshney, 2000; Pitel et Riquet, 2000). Les marqueurs SSR nécessitent des informations de séquence préalable pour concevoir des amorces nécessaires pour la réalisation d'un PCR (Arif et *al.*, 2011; Meeûs, 2012).

Les loci microsatellites sont fortement polymorphiques dans les populations naturelles, avec une hétérozygotie moyenne (Jarne et Lagoda, 1996). Les marqueurs microsatellites sont abondants et répartis assez uniformément dans les génomes eucaryotes. La popularité de ces marqueurs est due à leur facilité d'amplification par PCR, à leur nature codominante et à leurs niveaux généralement élevés de diversité allélique à différents locus et de leur capacité à distinguer les individus étroitement apparentés (Jones et *al.*, 1997; Arif et *al.*, 2011; Meeûs, 2012; Lateef, 2015).

L'amplification inter-espèces des régions microsatellites orthologues fournit des informations précieuses sur les processus mutationnels et évolutifs affectant ces loci (Collada et *al.*, 2004).

Les avantages des marqueurs SSR sont les suivants (Kordrostami et Rahimi, 2015):

- La méthode est relativement simple et peut-être automatisée ;
- La plupart des marqueurs sont monolocus et montrent un héritage mendélien ;
- Les marqueurs SSR sont très informatifs ;
- Un grand nombre de paires d'amorces SSR publiques sont disponibles ;
- Coût effectif par génotype et amorce.

Ils sont utilisés en tant que marqueurs pour estimer des distances génétiques intraspécifique, la cartographie, l'identification des cultivars, la protection du matériel génétique, la détermination de l'hybridité, l'analyse de la variation du pool de gènes et en tant que marqueurs de diagnostic pour les caractères de valeur économique (Jones et *al.*, 1997; Bruvo et *al.*, 2004). Le calcul des distances génétiques entre les individus permet de déduire des niveaux d'apparenter ou déterminer le parentage, qui représentent souvent une base importante pour l'analyse évolutionniste ou écologique ultérieure de traits phénotypiques. Les calculs de distance sont basés d'habitude sur la proportion d'allèles partagées (Bruvo et *al.*, 2004).

5. Diversité génétique des marqueurs moléculaires :

Au niveau allélique, les paramètres de diversité sont généralement utilisés (Kremer, 1994):

- Le nombre d'allèles ou variants alléliques identifiés dans la population,
- Le nombre efficace d'allèles correspond au nombre d'allèles en tenant compte de leurs différences de fréquence.

Ces paramètres sont généralement estimés au niveau d'un seul locus à partir des marqueurs génétiques codominants. Dans le cas de plusieurs loci, la moyenne est prise sur tous les loci (Kremer, 1994). Le logiciel GenoDive mise en œuvre par Meirmans et Van Tienderen (2004), est utilisé pour le calcul des paramètres de diversité fondamentaux. Il dispose d'une interface utilisateur intuitive et sans encombrement, derrière laquelle se trouvent de puissants outils statistiques. Le logiciel GenoDive propose de nombreux types de test statistiques, dont certaines ne sont pas disponibles dans aucun autre logiciel de génétique des populations. Les tests statistiques incluses dans GenoDive sont entre autres: une analyse flexible de la variance moléculaire, une estimation des coefficients standardisés de différenciation des populations, un regroupement des populations k-moyennes en utilisant l'anneau simulé, des tests d'équilibre Hardy-Weinberg, calcul de l'indice hybride pour les individus et différents types de tests de Mantel et autres (Meirmans, 2019).

6. Paramètres de différenciation entre populations au niveau moléculaires :

Les études génétiques des populations polyploïdes sont entravées par les difficultés d'interprétation des données moléculaires, le problème est aggravé chez les allopolyploïdes en raison de la présence des isoloci génétiquement distincts et qui partagent souvent des allèles, ce qui empêche toute évaluation statistique de l'écart par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg ou au niveau de diversité génétique (Obbard et *al.*, 2006). La loi de Hardy-Weinberg proposée en 1908 sert de base à une immense partie des études de génétique des populations, une hypothèse qui suggère que dans une population de dimension infinie, où les unions se font au hasard, où il n'existe ni migration, ni sélection contre un phénotype particulier et où le taux de mutations est constant, les proportions des différents génotypes restent constantes d'une génération à l'autre (Philip, 2011; Meeûs, 2012). La présence des isoloci a fait que la structuration génétique est décrite par les statistiques F au niveau allélique (F_{ST}) (Kremer, 1994).

Le F_{ST} , quantifie la différenciation génétique entre les groupes et fournit des informations importantes sur les processus évolutifs qui influencent la structure de la variation génétique au sein et entre les populations et entre elles, et il figure parmi les statistiques descriptives les

plus utilisées en génétique des populations et de la génétique évolutive (Jarne et Lagoda, 1996; Obbard et *al.*, 2006).

Nei (1973), a proposé un analogue du F_{ST} de Wright, appelé, indice de mesure de la différenciation génétique (G_{ST}) qui est défini de la manière suivante au niveau d'un locus :

$$G_{ST} = 1 - H_S/H_T$$

où H_S est la moyenne (sur toutes les populations) des diversités génétiques intrapopulations; H_T est la diversité génétique sur l'ensemble des populations considérées comme une population unique (diversité totale) (Kremer, 1994).

7. Analyses multivariées des marqueurs génétiques :

Les populations naturelles ont des histoires démographiques complexes, leurs tailles et leurs distributions changent avec le temps, conduisant à des processus de fission et de fusion qui laissent des signatures sur leur composition génétique. Les données moléculaires aident à découvrir les processus démographiques et adaptatifs complexes qui ont agi sur les populations naturelles. La grande variabilité des marqueurs moléculaires et l'évolution de l'outil informatique ont favorisé le développement des méthodes statistiques basées sur le concept de vraisemblance (Csilléry et *al.*, 2010).

7.1. Statistique bayésiennes :

Les statistiques bayésiennes sont utilisés lorsqu'il n'y a pas de distinction logique entre les paramètres du modèle et les données (Beaumont et Rannala, 2004). La popularité des méthodes bayésiennes peut être expliquée par la facilité relative avec laquelle les problèmes de probabilité complexes peuvent être résolus par l'utilisation de la technique de Markov Chain Monte Carlo (Beaumont et Rannala, 2004). Markov Chain Monte Carlo (MCMC), décrit une classe de méthode qui repose sur la simulation d'un type particulier des processus stochastiques (Markov Chain), pour étudier les propriétés d'une distribution de probabilité complexe qui ne peut pas être facilement étudié à l'aide des méthodes d'analyse. Elle est basée sur la vraisemblance, une technique statistique bayésienne itérative qui génère des échantillons à partir de la distribution postérieure. Des algorithmes MCMC bien conçus convergent vers la distribution postérieure, qui est indépendante par rapport à la position de départ (Beaumont et Rannala, 2004; Csilléry et *al.*, 2010).

L'une des approches les plus appliquées pour étudier la structure génétique des populations biologiques est l'inférence de la structuration de la population avec des méthodes de regroupement bayésienne. Ces méthodes sont particulièrement intéressantes car elles permettent d'identifier des groupes génétiques après une analyse génétique, la méthode

bayésienne peut être appliquée à différents types de marqueurs (microsatellites, RFLP...) (Pritchard *et al.*, 2000; Liu et Zhao, 2006; Jombart *et al.*, 2010). La dépendance des méthodes de regroupements bayésiennes sur des modèles explicites qui reposent sur des hypothèses qui sont souvent difficiles à vérifier peuvent restreindre leur applicabilité (Jombart *et al.*, 2010).

L'identification des groupes d'individus génétiquement homogènes est un problème de longue date en génétique des populations. Un algorithme bayésien implémenté dans le logiciel STRUCTURE permet d'identifier de tels groupes (Pritchard *et al.*, 2000; Evanno *et al.*, 2005), ce logiciel est utilisé pour déduire la structure génétique de la population. Il est spécifiquement conçu pour les données génotypiques et aborde le problème par une modélisation minutieuse des fréquences des allèles, des origines des allèles des individus et des origines des génomes individuels (Lee *et al.*, 2009).

7.2. Analyse en composantes principales (ACP) :

L'analyse en composantes principales est une technique classique multivariée de réduction et de dimension linéaire non paramétrique (Liu et Zhao, 2006; Paschou *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2009; Kakai *et al.*, 2016), c'est un outil puissant pour l'identification de la structure de la population (Patterson *et al.*, 2006; Price *et al.*, 2006; Paschou *et al.*, 2007).

L'efficacité de l'analyse en composantes principales est sa capacité à identifier les structures génétiques pour des ensembles des données très importantes et l'absence de toute hypothèse sur le modèle génétique de la population concernée, détermine aussi la variabilité globale entre les individus et peut gérer des données à l'échelle du génome pour des milliers d'individus ; mais cette méthode ne fournit pas une évaluation du groupe pour obtenir une image claire de la variation entre population (Liu et Zhao, 2006; Paschou *et al.*, 2007; Jombart *et al.*, 2010).

7.3. Analyse discriminante des principaux composants (DAPC) :

L'analyse discriminante des composants principaux (DAPC), est une méthode multivariée conçue pour identifier et décrire des groupes d'individus génétiquement apparentés. Lorsque les principaux groupes font défaut, le DAPC utilise les k-moyennes et une sélection de modèle pour déduire les groupes génétiques (Jombart *et al.*, 2010). C'est une nouvelle approche méthodologique qui repose sur la transformation des données en utilisant l'ACP comme une étape préalable à l'analyse discriminante, ce qui assure que les variables soumises à l'analyse discriminante sont parfaitement décorrélées et que leur nombre est inférieur à celui des individus analysés. Sans que cela implique une perte d'information génétique et peut être appliquée à de très grands ensembles des données. Le DAPC a démontré leur efficacité dans l'extraction d'informations à partir de marqueurs génétiques en raison de leur capacité à

résumer les informations génétiques multivariées en quelques variables synthétiques (Jombart et *al.*, 2009, (Jombart et *al.*, 2010).

Le DAPC est implémenter dans le package « *adegenet* » dans le logiciel R, *adegenet* est utilisé pour l'analyse multivariée des marqueurs génétiques (Jombart, 2008; Taib et *al.*, 2020).

7.4. Méthode K-moyennes :

Le partitionnement des données est une tâche importante en analyse des données, elle divise un ensemble de données en plusieurs sous-ensembles (groupes/clusters) caractérisés idéalement par une forte similarité à l'intérieur, la méthode la plus populaire est celle des k-moyennes. C'est un simple algorithme de classification automatique et traite de larges ensembles de données (Oja, 2007; Guellil et Zaoui, 2009).

La méthode de k-moyennes a pour principe de former des groupements d'individus, en choisissant aléatoirement un ensemble de centre fixé a priori et de chercher itérativement la partition optimale. Chaque individu est affecté au centre le plus proche en utilisant la distance euclidienne. Après l'affectation de toutes les données, la moyenne de chaque groupe est calculé, elle constitue les nouveaux représentants des groupes (Lelu, 2008; Guellil et Zaoui, 2009).

8. Barrières génétiques entre les populations :

Les événements orogéniques et les oscillations climatiques ont la capacité de créer des nouvelles barrières géographiques entre les populations et de limiter le flux des gènes (Xu et *al.*, 2017). L'association entre les distances génétiques et géographiques peuvent être testées par des méthodes d'autocorrélation spatiale ou de régression, qui donnent quelques indices sur la forme possible du paysage génétique, les analyses de corrélation échouent lorsqu'elles tentent d'identifier où existent des barrières génétiques (Manni et *al.*, 2004).

Une approche de la géométrie informatique est plus appropriée, tel que l'algorithme de différence maximale de Monmonier (Manni et *al.*, 2004). Une technique qui peut être utilisée pour établir l'association statistique entre la géographie et la variation génétique, cette technique peut identifier des regroupements sans fournir des informations sur les discontinuités existantes (Patten et Smith-Patten, 2008), mais permet une meilleure interprétation des processus micro-évolutifs (Manni et *al.*, 2004). Pour fournir une représentation plus réaliste des barrières dans un paysage génétique, un test de signification au moyen d'une analyse matricielle bootstrap est utilisé et les barrières génétiques sont plus robustes. Cette méthode améliorée de Monmonier est très fiable (Manni et *al.*, 2004).

III. Analyse géographique :

Pour survivre et coloniser des milieux très divers, les espèces doivent s'adapter aux fluctuations de l'environnement (Loudet, 2019). Un changement dans la répartition géographique de nombreuses espèces devraient être l'une des principales conséquences du changement climatique mondiale en cours (Lepais et *al.*, 2013). L'intensité de ce changement de répartition dépendra en grande partie de la réaction des populations situées en marge de la répartition d'une espèce, ce qui a incité les recherches théoriques et empiriques de la dernière décennie à se concentrer sur la dynamique des populations de pointe, situées à haute latitude à la pointe de la colonisation (Lepais et *al.*, 2013).

Les objectifs les plus importants de la biogéographie sont la description de la répartition géographique de la diversité biologique et génétique et l'inférence de la manière dont de tels modèles observés sont apparus au sein de l'espèce ou du genre et aussi comprendre quand et comment se sont développés les modèles modernes de diversité, ils s'appuient en outre sur l'analyse des données moléculaires (Jaramillo-Correa et *al.*, 2010; Mao et *al.*, 2010).

La théorie de la tectonique des plaques offrait une explication apparemment plausible et potentiellement universelle de la manière dont les organismes atteignent leur distribution moderne. Les schémas modernes pourraient être expliqués en considérant les positions changeantes des continents depuis le Crétacé. Outre les changements tectoniques, les schémas de répartition mondiaux peuvent être affectés par les changements climatiques depuis que le réchauffement prononcé s'est manifestée au mi-paléocène (il y a 59 millions d'années) jusqu'au refroidissement progressif et le rétablissement d'une importante calotte glaciaire sur l'Antarctique (Richardson et *al.*, 2004).

La variation géographique des caractères à base génétique fournit des preuves irréfutables de la variation spatiale dans les régimes de sélection. Les populations peuvent être isolées ou partiellement isolées lorsque la capacité de dispersion maximale n'est pas atteinte (Lehtonen et *al.*, 2009). La distribution géographique des variations génétiques ou phénotypiques peut fournir des informations précieuses sur le processus d'adaptation (Sedghifar et *al.*, 2016). Les preuves paléocéologiques suggèrent que les conditions climatiques et écologiques étaient assez similaires dans les régions principales du sud de l'Europe et de l'Afrique du Nord au cours du Pliocène et du Pléistocène, ce qui a entraîné des similitudes dans la composition des espèces des deux régions.

La dessiccation du bassin méditerranéen au cours du Miocène et la connexion de l'Afrique du Nord et de l'Europe en deux endroits : Gibraltar et le détroit de Sicile. Ces

connexions ont facilité la migration entre l'Afrique du Nord et la péninsule Ibérique et entre l'Italie et l'Afrique du Nord et ont homogénéisé la faune et la flore du début du Pliocène des deux côtés de la Méditerranée occidentale. Le regarnissage de la mer Méditerranée, entraînant la séparation éventuelle de l'Europe et de l'Afrique du Nord en Méditerranée occidentale, sont un élément déclencheur important de nombreux processus de différenciation entre les populations d'Europe et d'Afrique du Nord et la spéciation de nombreux taxons (Husemann et *al.*, 2014).

1. Base des données climatiques « WorldClim » :

Pour une étude climatique dans des environnements montagneux et zones à forts gradients climatiques, des données climatiques à très haute résolution sont essentielles. Une résolution spatiale fine ($\leq 1 \text{ km}^2$) est nécessaire pour capturer la variabilité environnementale qui peut être en partie perdue à des résolutions plus basses (Hijmans et *al.*, 2005).

Lors de la mise en place de la plateforme **WorldClim** une compilation des moyennes mensuelles du climat mesurées aux stations météorologiques mondiales, régionales, nationales et locales, principalement pour la période 1950-2000. Les données sont interpolées à l'aide de « l'algorithme de spline » et crée des surfaces climatiques mondiales (zones terrestres uniquement, à l'exception de l'Antarctique) pour les précipitations mensuelles et les températures minimales, moyennes et maximales, avec une résolution spatiale de 30 arcs (communément appelé résolution 1 km) (Hijmans et *al.*, 2005).

2. Base des données climatiques « CHELSA » :

Les données CHELSA (Climatologies at High resolution for the Earth's Land Surface Areas) sont des estimations de la température et des précipitations à une résolution élevée de 30 arc sec. L'algorithme de température est basé sur une réduction d'échelle statistique des températures atmosphériques, par contre l'algorithme de précipitation intègre des prédicteurs orographiques comprenant les champs de vent, l'exposition à la vallée et la hauteur de la couche limite. Les données climatologiques de CHELSA ont une précision similaire à celle des autres produits pour la température, mais ses prévisions des régimes de précipitations sont meilleures. Les données de CHELSA sont visualisés à l'aide d'un logiciel SIG standard tel que: SAGA GIS, ArcGIS, QGIS, DIVA et GRASS-GIS (Karger et *al.*, 2017).

IV. Régénérations *ex-situe* de *Juniperus thurifera* :

1. Prétraitements des graines :

La germination des graines est une étape clé du cycle de vie des plantes, elle est influencée par de nombreux facteurs environnementaux, notamment la température, la lumière, le temps après la diffusion et la teneur en humidité du sol. Parmi ceux-ci, la température est le principal facteur de régulation de la dormance et le taux de germination (Pinna *et al.*, 2014).

La dormance de la graine signifie que les graines sont vivantes, mais ne germe pas et ne produit pas de plant dans des conditions de germination favorables. Les graines dormantes ont besoin de quelque chose de plus que de l'eau et des températures admissibles avant de commencer à germer, en raison de la présence des inhibiteurs de germination telle que les inhibiteurs chimiques empêchant la croissance, barrières physiques empêchant l'absorption ou le mouvement de l'eau, des gaz ou des hormones endogènes dans la graine. Ou bien, l'embryon de la graine n'est pas complètement développé (Soltani, 2003; Baskin et Baskin, 2004; Daneshvar, 2015).

La scarification, la stratification et l'imbibition des graines dans l'eau sont des méthodes efficaces pour lever la dormance des graines de plusieurs espèces. La scarification est une méthode par laquelle le tégument ou l'enveloppe de la graine est brisée, rayée ou altérée de manière à rendre le tégument plus perméable à l'eau et aux gaz. La stratification est une méthode dans laquelle des périodes de températures froides et chaudes et des milieux humides sont utilisées pour mettre fin à la dormance de l'embryon et aider à amorcer la germination. Les durées recommandées pour les traitements de stratification humide varient entre 0 à 150 jours pour la plupart des espèces des conifères. En règle générale, les graines imbibées sont stratifiées à des températures voisines à 5°C pendant la période nécessaire pour chaque espèce qui peut être assez longue (Soltani, 2003; Tauer, 2010; Stoehr et El-Kassaby, 2011).

Tableau 2. Les travaux réalisés sur la germination des graines du genre *Juniperus* en utilisant les prétraitements.

Espèces	Traitements	Résultats	Auteurs
<i>Juniperus procera</i>	Les graines sont stratifiées à 5°C ou 10°C	80 % de germination après stratification à 5°C	Tigabu et al., 2007
<i>Juniperus procera</i>	Immersion des graines dans l'eau pendant 24h, stratifiées à une température de 5°C pendant 75 jours	Le taux de germination est de 48 % pour les graines immerger dans l'eau et de 62 % pour les graines stratifiées	El-Juhany et al., 2009
<i>Juniperus sabina</i>	stratification chaud-froid durant différentes périodes	Le taux de germination varié de 10 à 45 %	Tylkowski, 2010
<i>Juniperus scopulorum</i>	Chaud (22°C), à froid (4°C); ainsi que deux stratifications chaudes et froides combinées	24,7 % de germination dans le traitement à chaud et au froid	Tauer, 2010
<i>Juniperus phoenicea</i>	Immersion des graines dans l'eau (24h) puis stratification à froid pendant 1 à 3 mois	Le taux de germination n'a pas dépassé les 9,5 %	Al-Ramamneh et al., 2012
<i>Juniperus thurifera</i>	Stratification au froid (4 °C) pendant six mois	Le taux de germination est de 15 %	Ferradous et al., 2013
<i>Juniperus macrocarpa</i>	Stratification à chaud et à froid	Taux de germination n'a pas dépassé les 20 %	Pinna et al., 2014
<i>Juniperus polycarpus</i>	1/Stratification à froid (1°C) pendant 4, 8, 12 et 16 semaines. 2/ Stratification chaud-froid où les graines ont d'abord été stratifié à chaud pendant 4, 8, 12 et 16 semaines, puis stratifié à froid	La stratification à froid à donner 12 %-42 % de germination et pour stratification chaud-froid a donné lieu à 40 %-72 % de germination	Daneshvar, 2015
<i>Juniperus polycarpus</i>	Stratification à froid (1°C) pendant 4, 8, 12 et 16 semaines; stratification chaude à 20°C pendant 4, 8, 12 et 16 semaines, suivies de stratification à froid	stratification chaude pendant 16 semaines, suivies de stratification à froid induit 72 % de germination en 12 jours	Daneshvar et al., 2016
<i>Juniperus procera</i>	Stratification à froid (-10°C) des graines pendant 4 ans	Le taux de germination varie entre 47 % et 83,5 %	Lemessa et al., 2017
<i>Juniperus polycarpus</i>	Stratification à froid pendant 45 et 60 jours dans différents substrats	Le taux de germination à varier entre 23,33 % et 70 %	Negi et Sharma, 2017

2. Culture *in vitro*:

La culture *in vitro* est un corpus de méthodes faisant intervenir d'une part des éléments d'asepsie (stérilisation du matériel, désinfection des explants) et d'autre part, la mise en place d'un environnement parfaitement contrôlé (Zryd, 1988; Montès, 1999). Les techniques des cultures *in vitro* sont toujours un outil de prédilection pour la production en masse de plusieurs espèces fruitières et ligneuses. C'est la technique la plus répandue actuellement et de nombreuses espèces sont multipliées par cette méthode (Debergh et Zimmerman, 1991). La culture *in vitro* est influencé par plusieurs paramètres tels que le choix du milieu de culture, l'agent gélifiant, le pH du milieu, les différents additifs du milieu de culture, la lumière, la température, l'humidité et les tissus végétaux utilisés (Bonga et Von Aderkas, 1992; Bhatia et al., 2015).

La culture d'embryons zygotiques est l'une des techniques de culture *in vitro*, elle s'est révélée être une méthode intéressante pour propager des espèces difficiles à régénérer. Elle permet de supprimer la dormance des graines et de réduire considérablement le temps de culture (Haslam et Yeung, 2011; Bhojwani et Dantu, 2013). Les embryons matures et immatures peuvent être donc utilisés en culture d'embryons isolés, le stade d'excision de l'embryon évite l'avortement des embryons immatures qui ne parviennent pas à germer, par contre la culture d'embryon mature est utilisé afin d'éviter l'inhibition de la germination par les composés phénoliques (Pierik, 1997; Thorpe et Yeung, 2011). La technique de culture d'embryons est influencée par la composition du milieu de culture et l'isolement de l'embryon (Bhojwani et Dantu, 2013).

Tableau 3. Travaux réalisés sur la régénération *in vitro* du genévrier thurifère en Algérie.

Type d'explant	Milieus utilisé	Auteurs
Embryons isolés	DCR/ WHITE	Tahar, 2013
	DCR/ WHITE	Ould Maamar et Saadi, 2015
	DCR/ WHITE	Morsli et al., 2015
	DCR/ WHITE	Mahmoudi, 2016
Graines	MS/ WPM	Khater, 2018 et Khater et Benbouza, 2018

2.1. Milieux de cultures :

Le milieu de culture comprend de l'eau, de la gélose, du sucre et des éléments minéraux. Éventuellement un mélange des vitamines et des substances organiques diverses et enfin les régulateurs de croissance. Pour faciliter le choix du milieu de culture il est recommandé d'adopter un milieu déjà utilisé par d'autres auteurs (Margara, 1982).

2.2. Régulateurs de croissance :

Cinq principales classes des régulateurs de croissance des plantes sont reconnues, à savoir les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'acide abscissique et l'éthylène. Ce dernier contrôle chaque processus de développement dans les plantes. En culture *in vitro* les régulateurs de croissance synthétique sont additionnés aux milieux de culture, la réponse des tissus à ces hormones sont très complexe ce qui a conduit à suggérer que si les tissus ne sont pas dans un état réceptif, ils ne répondront pas correctement aux régulateurs de croissance exogène, peu importe en quelles concentrations et combinaisons les régulateurs de croissance sont appliqués. Nous pouvons dire que la culture *in vitro* est souvent impossible sans régulateurs de croissance (Bonga et Von Aderkas, 1992; Pierik, 1997).

Qu'il soit nécessaire d'ajouter une auxine et/ou une cytokinine à un milieu nutritif pour obtenir une extension et/ou une division des cellules, cela dépend entièrement du type d'explant et de l'espèce végétale. Par exemple, les explants qui produisent eux-mêmes suffisamment d'auxine n'ont pas besoin d'auxine supplémentaire pour l'extension et/ou la division des cellules. Il existe également des explants qui produisent suffisamment de cytokinines et qui n'ont pas besoin d'ajouter de cytokinines supplémentaires au milieu (Pierik, 1997).

2.3. Antioxydants :

Le brunissement des cultures est souvent un problème, il entraîne une réduction des taux de croissance et éventuellement la mort des tissus. Pour éviter le brunissement des milieux et tissus causés par les substances toxiques et les composés phénoliques, des antioxydants sont utilisés tels que le charbon actif et l'acide ascorbique (Margara, 1982; Bonga et Von Aderkas, 1992). Les antioxydants ont aussi un rôle de protection contre le stress oxydatif (Dučić et al., 2003).

Le charbon actif est ajouté au milieu principalement pour assombrir les milieux et adsorber les exsudats indésirables. Il adsorbe les composés phénoliques, métabolites toxiques, de nombreuses auxines, les cytokinines et l'acide abscissique, mais pas l'acide gibbérellique (Bonga et Von Aderkas, 1992; Pan et Staden, 1998; Calic-Dragosavac et al., 2010). Son addition peut avoir des effets bénéfiques ou nocifs sur les cultures, mais son utilisation

est devenu une nécessité pour régler le problème d'oxydation particulièrement chez les conifères lors de la phase d'initiation de culture *in vitro* (Mazinga et al., 2014). Le charbon actif est fréquemment utilisé durant l'induction de la germination des graines (Calic-Dragosavac et al., 2010).

En revanche, l'acide ascorbique (ASA) est une substance très anciennement découverte, elle était connue sous le nom de la vitamine C. L'acide ascorbique est un micronutriment essentiel qui sert de puissant antioxydant et de cofacteur spécifique nécessaire à l'activité des dioxygénases impliqués dans la synthèse de l'éthylène, des gibbérellines et de l'acide abscissique, respectivement dans les graines (Arrigoni et De Tullio, 2000; De Tullio et Arrigoni, 2003; Hanneschlaeger et Pohl, 2018).

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Analyse génétique et géographique :

1. Zone d'étude :

Dans le but de caractériser la variabilité génétique des populations algériennes et marocaines du genévrier thurifère, tout en les comparant aux populations européennes, un dépistage des polymorphismes au niveau des locus microsatellites nucléaires (nSSRs) est réalisé à partir des feuilles des deux populations algériennes (Chélia et Tafrent), quatre populations marocaines (montagne de moyen et de Haut Atlas), trois populations espagnols et deux populations françaises (Corse). Pour la population de Chélia 10 arbres sont échantillonnés sur les 32 arbres existants (Communication de Beghami 2019) et 24 arbres de Tafrent, la collecte des rameaux est faite d'une manière aléatoire. Concernant le reste des populations, des rameaux sont fournies par le laboratoire de systématique et de géographie de l'Institute de Dendrologie de Kórnik (Pologne), ces derniers ont fait l'objet d'une analyse biométrique des feuilles et des galbules réalisées par Boratyński et *al.* (2013). Les feuilles sont collectées sur 10 à 25 individus (Tableau 4) répartis de manière aléatoire dans chaque population; au total 255 individus sont échantillonnés.

Tableau 4 : Localisation géographique des populations du genévrier thurifère utilisées pour l'analyse génétique.

Abréviations	Populations	Localisation	Nombre d'individus
SP_1	Espagne, León, Montes de Luna	42.7836111N 05.7550000E	25
SP_2	Espagne, Soria, Sierra de Cabreja, Ucero	41.7166667N 03.0500000E	25
SP_3	Espagne, Cuenca, Seraña de Cuenca, between La Toba et Buenache de la Sierra	40.1666667N 01.6999999E	25
FR_1	France, Corse, Niolo, Monte Cinto	42.3680556N 08.9630555E	21
FR_2	France, Corse, Calacuccia, Golo Valley	42.3419444N 09.0030550E	25
MO_1	Maroc, Moyen Atlas, Jbel Bou Iblane, Talzemt	33.6000000N 04.1666667E	25
MO_2	Maroc, Moyen Atlas, Aguelmame Sidi-Ali	33.0783333N 05.0250000E	25
MO_3	Maroc, Haut Atlas, Jbel Azourki, Tizi-n-Ilissi, Iglauouane	31.7000000N 06.3499999E	25
MO_4	Maroc, Haut Atlas, Tessaout (Toufrine)	31.4500000N 06.4666667E	25
AL_1	Algérie, Aurès, Chelia	35.3100183N 06.6262565E	10
AL_2	Algérie, Aurès, Tafrent	35.2162530N 06.6227980E	24

2. Extraction de l'ADN de *Juniperus thurifera* :

L'ADN génomique est extrait des feuilles séchées en utilisant la méthode CTAB (Doyle et Doyle, 1990), modifiée. La poudre homogène des tissus végétales de chaque arbre est mise dans des tubes Eppendorf de 2 ml, nous ajoutons 1 ml d'ATAMB buffer et 70 µl de DTT (Dithiothréitol). Les 255 tubes Eppendorf sont mis dans l'incubateur à 65°C pendant 2h. Après refroidissement, nous ajoutons 400 µl de dichlorométhane puis nous mixons le tout. Toutes ces étapes sont réalisées sous hotte chimique. Les tubes Eppendorf qui contiennent le mélange sont centrifugés à 14000 tours/min pendant 15 minutes à 4°C. Le liquide surnageant jaunâtre est prélevé dans un nouveau tube eppendorf de 1,5 ml, un volume de 300 µl d'isopropanol conservé à -20°C est ajouté à chaque eppendorf puis mixé et placé dans le congélateur à -20°C pendant une nuit. Les tubes Eppendorf sont récupérés et transférés dans une centrifugeuse. Le surnageant est éliminé et nous laissons sécher les tubes Eppendorf qui contiennent un anneau d'ADN pendant 3 à 4 minutes. Nous ajoutons 1 ml d'éthanol 70 % dans les tubes Eppendorf qui contiennent de l'ADN et centrifugés pendant 15 min. La dernière étape consiste à enlever l'éthanol des tubes eppendorf puis les sécher durant une nuit. Par la suite, nous ajoutons 100 µl de l'eau distillée stérile dans chaque tube et on les conserve au congélateur (-20°C).

3. Amplification et séquençage de l'ADN:

Afin de quantifier l'ADN, il est nécessaire de préparer des solutions qui contiennent un mélange de 30µl d'ADN et de 50 à 100 µl de l'eau distillée stérile. La solution d'ADN est analysée dans le biophotomètre est récupérée et mise dans une palette. Un ensemble de six marqueurs microsatellites nucléaires (nSSR) développés à l'origine pour *Juniperus thurifera* qui sont hautement polymorphes selon Teixeira et *al.* (2014), seront utilisés : JT_01, JT_04, JT_30, JT_33, JT_40 et JT_46 (Tableau 5).

Deux PCRs multiplexes sont réalisés dans un volume final de 10 µl contenant environ 60 ng d'ADN matrice, 1U d'ADN polymérase de démarrage à chaud (Syngen Biotech, Pologne), 1µM de chaque paire d'amorces, 1x tampon de réaction, 2,5 mM de MgCl₂ et une eau ultra pure. La première réaction multiplexe impliquant les locus JT_01, JT_30 et JT_33 et la seconde avec les locus JT_04, JT_40 et JT_46 sont amplifiées dans un thermocycleur SensoQuest dans les conditions suivantes: une étape de dénaturation initiale de 15 min à 95°C suivie de 40 cycles de dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, l'annelage nécessite une température spécifique à chaque multiplex pendant 90 secondes (57°C pour le multiplex I et 55°C pour le multiplex II), et extension à 72°C pendant 60 secondes et une dernière étape

d'extension à 72°C pendant 10 min. Les produits de PCR sont analysés en utilisant un analyseur génétique AB 3130 (Thermo Fisher Scientific, USA) avec un système d'électrophorèse capillaire et un standard de taille interne, GeneScan™ 500 LIZ®. Les génotypes sont évalués à l'aide du logiciel GeneMapper 4.0 (Thermo Fisher Scientific, USA).

Tableau 5 : Marqueurs microsatellites nucléaires (nSSR) utilisés (Teixeira et al., 2014).

Locus	Séquences d'amorces 5' - 3'
JT_01	AATCCATCACATGCCATCTTT CCCTCATAAGAATCAATGAGATCC
JT_04	CCAAGGAATGATCTAACCTTTGAA TGGGATGCATATCTTATCTTCCT
JT_30	AATCCCCTATCCTTGCCAGT TCAACAATATCAGCAAGTAATGAGA
JT_33	GAGCTTCCTTTGTAGATTTTGGG GTAAGAAGACACCACTCAGTCGAT
JT_40	GGCCGCATGATCCACT TCGTAACGTAATGACATGTATAGTGC
JT_46	TGAGATCACCTACTTCTAGTGGA CCACCAAGGGCATAGAGTTC

4. Analyse des données :

4.1. Diversité génétique :

Juniperus thurifera est une espèce tétraploïde (Romo et al., 2013; Zeraib et al., 2014) qui a des conséquences pratiques importantes sur la notation des génotypes et l'analyse statistique ultérieure des génotypes de SSR (Dufresne et al., 2014; Meirmans et al., 2018). L'attribution des génotypes est très ambiguë en raison de la difficulté à résoudre le nombre des copies d'allèles dans les polyploïdes. Cette question méthodologique conduit à des situations dans lesquelles les génotypes ne peuvent pas être vraiment déduits à partir des phénotypes; par conséquent, ni les fréquences alléliques ni les fréquences génotypiques ne peuvent être estimées, ce qui est nécessaire pour mettre en œuvre des inférences basées sur la génétique des populations (Clark et Jasieniuk, 2011; Dufresne et al., 2014). De plus, la fixation de l'hétérozygotie est une caractéristique commune, car des isoloci génétiquement différents peuvent partager les mêmes allèles, ce qui empêche toute évaluation statistique de l'écart par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg ou au niveau de diversité génétique (Obbard et al., 2006).

Le logiciel GenoDive 2.0b23 (Meirmans et Van Tienderen, 2004), qui permet l'analyse génétique des populations polyploïdes en corrigeant l'ambiguïté du nombre des copies d'allèles est utilisé pour le calcul des paramètres de diversité fondamentaux tels que le nombre d'allèles (N), le nombre moyen d'allèles (N_a), nombre effectif d'allèles (N_e), nombre

d'allèles privés (P_a) et d'hétérozygotie au sein des populations (H_s). Les allèles manquants dans les génotypes étaient remplis avec l'option « *fréquences alléliques globales* ».

La différenciation génétique globale entre les populations est évaluée à l'aide de l'indice de fixation, G_{ST} (Nei, 1987) et testée avec 9999 permutations. Enfin, la différenciation des populations par paires (F_{ST}) est calculée à partir d'une analyse de la variance moléculaire (AMOVA), qui est exactement équivalente à la statistique de Weir & Cockerham (1984), et son importance est testée avec 9999 permutations.

4.2. Modèles géographiques de différenciation :

Différentes méthodes d'analyses multivariées appliquées aux polyploïdes sont utilisées pour détecter la structure des populations (Meirmans et al., 2018). Tout d'abord, une analyse de k -moyennes basées sur AMOVA (Meirmans, 2012) réalisée dans le logiciel GenoDive. Cette méthode est basée sur le calcul de la somme des carrés entre les groupes et divise les individus en un nombre de groupes (k) de telle sorte que la somme des carrés entre les groupes soit maximisée sur la base d'un algorithme qui simule l'anneau. L'analyse est effectuée sur l'ensemble des données générées pour k -moyennes de 2 à 9, en utilisant 20 répétitions de l'algorithme qui simule l'anneau, avec 50000 étapes MCMC (Markov Chain Monte Carlo).

Pour estimer le nombre le plus probable des groupes (k optimal), nous avons utilisé le critère d'information bayésien (BIC) et les méthodes de pseudo-F-statistique de Caliński & Harabasz (1974). Les résultats du regroupement biologiquement justifiés sont discutés, conformément à la recommandation de Meirmans (2012).

Deuxièmement, pour déduire le schéma géographique de différenciation génétique et détecter un mélange génétique potentiel, une analyse discriminante des principaux composants (DAPC) (Jombart et al., 2010) qui se trouve dans le paquet '*adegenet*' dans le logiciel R 3.4.3 (Jombart, 2008; R Core Team, 2013) est utilisée. Cette analyse multivariée n'est pas limitée par des hypothèses sur les modèles génétiques des populations et peut donc servir d'outil plus efficace pour démêler la structure complexe d'une population (Jombart et al., 2010). L'analyse est réalisée sur une base des données génétiques qui sont transformées en une matrice binaire de la présence et de l'absence de chaque allèle. DAPC est une procédure multivariée en deux étapes dans laquelle les données sont d'abord transformées par l'analyse en composantes principales (ACP) en tant qu'étape préalable à une analyse discriminante (DA). La fonction '*Find cluster*' est utilisée pour identifier le nombre optimal des groupes basés sur le critère d'information bayésien (BIC). Le nombre des composants principaux

(PCs) à conserver pour le DAPC est choisi en fonction du score α en utilisant la fonction '*optim.a.score*'; le DAPC est réalisé sur 12 composants principaux (PCs).

L'algorithme de différence maximale de Monmonier réalisée avec le logiciel BARRIER 2.2 (Manni et *al.*, 2004) est utilisée pour identifier les discontinuités génétiques entre les populations. Cette approche est confirmée pour être efficace dans les approches visant à l'identification des lignées interspécifiques (Xu et *al.*, 2017). L'analyse est réalisée en utilisant la matrice de distance génétique de Nei et les coordonnées géographiques de chaque population. La signification de chaque barrière déduite est évaluée par *bootstrap* avec 100 répliquions de matrice de distance génétique. Les programmes SEQBOOT et GENDIST mis en œuvre dans le paquet PHYLIP 3.696 sont utilisés pour obtenir des données multiples matrices pour *bootstrap*.

Enfin, une approche de classification bayésienne basée sur un modèle mis en œuvre dans le logiciel STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard et *al.*, 2000) est utilisée pour déterminer la structure génétique spatiale. Un modèle de mélange non-spatial avec des fréquences alléliques corrélées est utilisé. Pour faire face au niveau de ploïdie $4n$ qui génère l'ambiguïté du génotype, nous avons utilisé l'option récessive allèles tel que recommandé par le logiciel manuel et récent travail de Meirmans (2018). Dix répétitions indépendantes pour chaque nombre de groupe (K) allant de 1 à 12 sont réalisées avec un ensemble de *burn-in* de 100 000 étapes, suivi de 200 000 itérations MCMC. La plateforme CLUMPAK (Kopelman et *al.*, 2015) est utilisé pour aligner les essais répliqués et les probabilités d'affectation individuelles moyennes pour la valeur K le plus probable et d'estimer le nombre optimal des groupes selon la méthode de l' ΔK Evanno (Evanno et *al.*, 2005).

Pour déterminer la distribution hiérarchique de la variation génétique, l'AMOVA implémentée dans le logiciel GenoDive est réalisée pour deux configurations définies : parmi les régions géographiques (Europe, Maroc et Algérie) et les groupes révélés par l'analyse de regroupement réalisé par DAPC ($k = 4$). La signification est testée avec 9999 permutations et les distances sont calculées en utilisant le modèle des allèles infinis indépendants de la ploïdie (Rho). Pour tester l'isolement par distance (IBD), la matrice de distance géographique est corrélée aux distances génétiques (F_{ST}) en utilisant le test standard de Mantel mis en œuvre dans GenoDive et la signification est évaluée à 9999 permutations.

4.3. Modélisation de la distribution géographique de *Juniperus thurifera*:

Le modèle de distribution pour *Juniperus thurifera* est construit en utilisant l'approche d'entropie maximale réalisée dans le logiciel MaxEnt 3.4.1 (Phillips et *al.*, 2004; Elith et *al.*, 2011). Les données sur les distributions des populations naturelles de *Juniperus thurifera* et

leur positionnement géographique sont obtenus et vérifiées à partir de la littérature et des observations personnelles (Annexe 02). Un total de 280 points géographiques est validé pour l'analyse. Les variables bioclimatiques sont récupérées à partir de la base des données WorldClim (Hijmans et *al.*, 2005) et CHELSA 1.2 (Karger et *al.*, 2017) pour construire des modèles présentant une distribution actuelle et potentiel de l'espèce en fonction des conditions climatiques favorables (1960-1990) et celle du dernier maximum glaciaire (LGM; 22 ka BP).

Il est démontré que la base des données CHELSE fournit des estimations plus précises en termes des précipitations que WorldClim, car l'algorithme d'estimation des précipitations est basé sur une réduction d'échelle statistique des températures atmosphériques qui fournissent des climatologies améliorées, en particulier dans le paysage montagneux (Karger et *al.*, 2017). La résolution spatiale de 19 variables bioclimatiques (Hijmans et *al.*, 2005) (Tableau 12 et 13) est utilisée pour modéliser la gamme des espèces courante qui était de 30 arc-sec et pour le scénario du dernier maximum glaciaire (LGM), le modèle du système climatique communautaire (CCSM4) avec une résolution de 2,5 arc-min est utilisé (Gent et *al.*, 2011). De plus, pour prédire les changements futurs dans la distribution de la gamme des espèces, le scénario RCP 2.6 du changement climatique est testé pour le modèle CCSM4 à une résolution de 2,5 arc-min. Ce scénario suppose que, avant 2100 ans, la concentration atmosphérique de CO₂ atteindra 440 ppm et augmente le forçage radiatif de 2,6 W/m² et que l'augmentation de la température globale moyenne à la surface à la fin du 21^{ème} siècle (2081-2100) sera de 0,3°C à 1,7°C.

L'analyse *bootstrap* est effectuée avec 100 répétitions, le seuil de convergence est fixé à 10⁻⁵, et le nombre maximal de répétition est fixée à 10 000. L'option de départ 'amorce aléatoire' est appliquée, 20 % des données sont mises de côté comme points de test et dont la sortie est fixée à la logistique. Pour révéler les zones de persistance des espèces à long terme, nous avons aussi modélisé la gamme théorique Eemian (120-140 ka BP) de *Juniperus thurifère* en Europe et en Afrique. Cependant, la projection Eemian était disponible uniquement avec des données de WorldClim. Nous avons procédé à la modélisation des distributions actuelles et du dernier maximum glaciaire (LGM) en utilisant les données d'occurrence (1) conjointement pour les populations africaines et européennes, (2) pour les populations africaines seulement et (3) pour les populations européennes en utilisant uniquement les deux ensembles des données climatiques. En tant que critère de précision du modèle, La fonction d'efficacité du récepteur (courbe ROC) et la valeur de l'aire sous la courbe ROC (AUC) étaient utilisés (Wang et *al.*, 2007; Mas et *al.*, 2013). Les résultats des analyses sont visualisées dans QGIS 2.18.20 (QGIS, 2012).

De plus, l'influence relative de chaque variable bioclimatique sur la répartition actuelle de *Juniperus thurifera* est vérifiée par une ACP afin de caractériser les différences écologiques entre les populations Africaines et Européennes. L'analyse est effectuée sur 583 ensembles des données (Annexe 02), les données bioclimatiques sont extraites de la base de donnée CHELSA en utilisant le logiciel SAGA GIS (Conrad et al., 2015). La fonction "vif" du paquet « *usdm* » en R est utilisée pour calculer le VIF (variance facteur d'inflation). Dix variables climatiques, qui ont les valeurs les plus élevées de VIF (> 300) sont retirés de l'analyse afin d'éviter l'autocorrélation. L'ACP est exécutée en utilisant la fonction de « *prcomp* » mis en œuvre dans logiciel R. La présentation graphique des résultats de la modélisation sont réalisées à l'aide du système d'information géographique QGIS.

II. Etude de la régénération *ex-situe* de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*:

1. Etude biométrique et la qualité des galbules et des graines :

Les galbules matures étudiées proviennent des six thuriféraires algériennes de la région des Aurès (Tableau 6). La récolte des galbules est effectuée le 01/12/2014 et le 23/12/2015 (Taib; Ould Maamar et Saadi, 2015). Une fois la récolte faite les galbules matures (bleuâtres) et immatures (verdâtres) sont séparées selon leurs couleurs.

Pour l'étude biométrique la longueur et la largeur de 100 galbules sont mesurés suivie des mesures de 100 graines. Le nombre de graines par galbule est aussi calculé. Les mesures sont réalisées pour chaque population de *Juniperus thurifera* algérienne.

Le taux de parasitisme est calculé pour la totalité des galbules matures récoltées dans chaque thuriféraire. L'observation est faite sous une loupe binoculaire à grossissement x10. Les graines sont extraites des galbules matures par élimination des écailles charnues, puis scarifier mécaniquement pour définir l'état des endospermes.

Tableau 6. Localisation des 06 populations de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* (UCIN, 2001; Ould Maamar et Saadi, 2015).

Locations	Chélia (CHK)	Tafrent (TFK)	M'Sara (MS)	T'Kout (TKT)	Ras draâ (RDB)	Theniet El Abed "ZANA" (TAB)
Coordonnées géographiques	35°18'37.0"N 06°37'36.8"E	35°12'31.6"N 06°37'44.8"E	35°03'47.58"N 06°38'06.66"E	35°13'25.0"N 06°27'19.0"E	35°24'59.0"N 06°22'59.6"E	35°15'00.4"N 06°11'00.4"E
Altitude (m)	2069	1660	1430	1760	1700	1276

2. Induction de la germination *ex-situe* :

Les endospermes blanchâtres extraits des graines du genévrier thurifère récoltées dans le peuplement de ZANA, sont sélectionnés vue le nombre d'arbre femelle existant dans le peuplement, qui est de 1600 arbres (UCIN, 2001).

2.1. Prétraitements effectués sur les endospermes:

En raison de manque de régénération naturel dans le genre *Juniperus*, plusieurs études ont été menées sur l'effet positif des prétraitements sur la germination des graines (Daneshvar et al., 2016; Lemessa et al., 2017; Negi, Sharma, 2017). Pour cela, la présente étude a pour objectif de tester l'effet de certains prétraitements les plus probants sur la germination *in vivo* des endospermes blanchâtres de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*. Ainsi, des traitements sont mis en place, en utilisant 40 endospermes blanchâtres dans chaque traitement (chaque essai est répété deux fois). Les endospermes sont cultivés sur du coton à l'intérieur des boîtes de Pétri (Diamètre 90 mm). Les boîtes sont recouvertes de l'aluminium pour assurer l'obscurité, puis mises au réfrigérateur à une température de 4°C. L'humidité du coton est assurée durant toute l'expérimentation. Les endospermes sont stratifiés le temps qu'il faut pour la lever de dormance. Les traitements effectués sont mentionnés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Synthèse des prétraitements réalisés pour induire la germination des endospermes blanchâtres de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*.

Codes	H ₂ O					GA ₃		H ₂ O ₂	Stratifiés	Non stratifiés
	4°C		30°C	4°C	-12°C	4°C		24°C	4°C	25°C
	24h	48h	10min	10min	24h	24h	48h	12h		
A (Témoin)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
B	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
C	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
D	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
E	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-
F	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
G	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
H	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
I	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
J	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
K	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
L	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-

+ Traitement effectué

- Traitement non effectué

2.2. Induction de la germination *in vitro* des embryons isolés de *Juniperus*

thurifera var. *aurasiaca*:

L'étude de la régénération du genévrier thurifère a fait l'objet de nombreuses études sans pour autant déceler les facteurs limitant sa régénération. Selon Morsli et *al.* (2015), cette espèce est caractérisée par une double dormance des graines (tégumentaires et embryonnaires) et proposent la culture d'embryons isolés comme solution alternative pour induire une germination rapide. L'objectif de la présente étude est d'induire des germinations groupées et homogènes des embryons isolés dormantes en un temps réduit.

a) Désinfection des endospermes et isolement des embryons :

Les endospermes blanchâtres sont imbibés dans l'eau distillée pendant 12 heures à la température ambiante, puis sont désinfectés sous hotte à flux laminaire par un trempage dans un mélange d'hypochlorite de sodium (32°) et quelques gouttes de tween 20 pendant 15 minutes, suivis de 03 rinçages de l'eau distillée stérile (Ould Maamar et Saadi, 2015). Pour l'isolement des embryons, l'endosperme doit être soigneusement écarté. Ces derniers sont séchés sur papier filtre stérile puis sont mis sur le milieu de culture.

b) Mise en culture d'embryons isolés :

Le milieu de culture utilisé est le milieu DCR (Gupta et Durzan, 1985) additionné de 20 g/l de saccharose et solidifié par 7,5 g/l d'agar. Différents traitements sont testés afin de déceler le milieu optimal de germination des embryons et de croissance des vitrosemis. Le milieu de culture est additionné de 5 g/l de charbon actif ou 1 mg/l d'acide ascorbique seul ou en combinant les deux antioxydants. En plus de ces derniers, des régulateurs de croissance sont ajoutés aux milieux de culture à différentes concentrations : le DTZ (Thidiazuron) avec 0, 0,1, et 0,25 mg/l ; la BAP (Benzylaminopurine) est utilisées avec 0 ; 0,1 ; 0,25 et 0,5 mg/l ; pour l'AIB (l'acide indole butyrique) est utilisée avec 0 ; 0,1 ; 0,25 et 0,5 mg/l, quant à l'acide gibbérellique, les concentrations testées sont : 0 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 et 1 mg/l (Annexe 02).

Le pH du milieu de culture est ajusté entre 5.6 et 5.8 puis autoclavé pendant 20 min à une température de 121°C. Les cultures sont maintenues à l'obscurité dans la chambre de culture pendant 15 jours puis transféré à une photopériode de 8h d'obscurité et 16 h de lumière.

c) Acclimatation :

Les vitroplants ont fait l'objet d'un essai d'acclimatation. Les vitroplants sont séparés du milieu de culture à l'eau courante, et mis dans des pots qui contiennent un mélange de sable de rivière, terreau et de terre végétale préalablement stérilisé. Les vitroplants sont mis dans une boîte avec un couvert dans un phytotron à une température de 15°C et une photopériode (10h de lumière/14h d'obscurité). L'ouverture de la boîte se fait progressivement pendant 5

minutes jusqu'à son ouverture totale. La température augmente avec 3°C jusqu'à atteindre 20°C. Cette technique est adaptée d'un essai d'acclimatation des vitroplants du chêne à l'institut de dendrologie de Kornik.

3. Analyse des données :

Une analyse discriminante des principaux composants (DAPC) est réalisée avec le logiciel R 3.4.3 pour déterminer l'existence des groupes selon la morphologie des galbules et graines matures. Puis la qualité des galbules et des graines de *Juniperus thurifera* est déduite en déterminant le pourcentage des galbules parasitées et saines, le calcul des taux des graines vides et parasitées, en déterminant aussi le taux des endospermes blanchâtres et lignifiés.

Concernant les méthodes de régénération du genévrier thurifère, le taux de germination et le temps moyen de germination (TMG) des endospermes blanchâtres et embryons isolées sont calculés. Le TMG est calculé par la formule suivante :

$$\text{TMG (days)} = \Sigma (ti.ni) / \Sigma ni$$

Où *ti* est le nombre de jours à partir de la date de semis et *ni* le nombre de germination chaque jour (Al-Ramamneh et al., 2012; Daneshvar, 2015).

Le suivie des vitroplants nous a amené à calculer le taux de nécrose et callogenèse. Les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel R 3.4.3, le test de Leven est utilisé pour déduire l'effet des traitements sur le développement des vitroplants suivi du test de Duncun pour détecter les groupes homogènes entre les prétraitements utilisés et s'il y a une différence entre les temps moyens de germination et aussi utilisé pour déterminer les différences entre les effets des milieux de culture testés sur le développement des vitroplants. Les graphiques de cette partie sont élaborés par le logiciel Origine Pro 8.

Chapitre III : Résultats et interprétations

I. Analyse génétique et géographique :

1. Diversité génétique et différenciation :

Tous les locus utilisés sont polymorphes et le nombre d'allèles varie de 12 (JT_04) à 44 (JT_33), pour un total de 144 allèles détectés parmi les 255 individus analysés. En termes de diversité allélique, les populations algériennes sont moins variables ($N_a = 12,500$ et $N_e = 5,985$) que les populations européennes ($N_a = 13,166$; $N_e = 5,576$) et marocaines ($N_a = 13,500$; $N_e = 5,460$) (Tableau 8). Dans toutes les populations (sauf MO_1 et MO_4), des allèles privés sont détectés, mais le plus grand nombre (10) est observé dans les populations européennes. L'hétérozygotie au sein des populations (H_s) varie de 0,687 (FR_2) à 0,809 (AL_2), avec une valeur moyenne de 0,772.

Une comparaison entre la partie européenne de l'aire de répartition de *Juniperus thurifera* et les populations africaines montre que la population algérienne présente la valeur moyenne significative la plus élevée de la diversité intra-population ($H_s = 0,808$; $P = 0,133$), mais cette valeur n'était pas significativement supérieure que les autres valeurs (Tableau 8). La différenciation génétique globale entre les populations étant faibles mais hautement significatif ($G_{ST} = 0,026$; $p < 0,001$). En conséquence, les valeurs de F_{ST} par paires des populations allaient de 0,002 (entre les populations MO_1 et MO_3) à 0,059 (entre les populations FR_2 et AL_1) et sont significatives ($p \leq 0,001$) dans la plupart des populations (Tableau 9).

2. Modèle géographique de différenciation:

L'analyse de la classification des *k-moyennes* basée sur l'AMOVA a identifié $k = 4$ comme le nombre le plus probable des groupes (clusters) et la pseudo-F-statistique (tableaux 9 et 11) indique une nette discontinuité génétique entre les régions géographiques distinctes. En effet, les populations européennes, marocaines et algériennes forment trois groupes distincts. Une sous-structure est détectée au sein de la population européenne ; plus précisément, la population de corse (FR_2) qui se détache des populations espagnoles. Selon l'analyse BIC (critère d'information bayésien), les populations sont réparties en neuf groupes distincts ($k = 9$) sans structure géographique claire (Tableaux 8 et 10). Cette répartition indique une sous-structure supplémentaire des populations dans les principales régions de l'aire de répartition de l'espèce. La plupart des populations sont placées dans des groupes distincts; seules les populations (SP_3 et FR_1) et deux populations Marocaines (MO_1 et MO_3) partagent les mêmes groupes (groupe I et II, respectivement).

Tableau 8 : Localisation des populations étudiées de *Juniperus thurifera*, et résumé des statistiques de la variabilité génétique et AMOVA basé sur k-moyennes pour le nombre optimal de groupe (k = 4 et k = 9).

Code des populations	Nom des Populations	Localisation	AMOVA-basé <i>k</i> -means						
			N	N _a	N _e	P _a	H _s	<i>k</i> = 4	<i>k</i> = 9
SP_1	Espagne, León, Montes de la Luna	42.7836111N 05.7550000E	25	12,33	5,48	2	0,79	1	1
SP_2	Espagne, Soria, Sierra de Cabreja, Ucero	41.7166667N 03.0500000E	25	14,67	6,06	2	0,75	1	2
SP_3	Espagne, Cuenca, Seraña de Cuenca, entre La Toba et Buenache de la Sierra	40.1666667N 01.6999999E	25	12,83	5,54	2	0,76	1	6
FR_1	France, Corse, Niolo, Monte Cinto	42.3680556N 08.9630555E	21	14,17	5,91	2	0,78	1	6
FR_2	France, Corse, Calacuccia, Golo Valley	42.3419444N 09.0030550E	25	11,83	4,89	2	0,69	2	5
		Moyenne		13,166	5,576		0,754		
MO_1	Maroc, Moyen Atlas, Jbel Bou Iblane, E de Talzemt	33.6000000N 04.1666667E	25	13,67	5,49	0	0,76	4	8
MO_2	Maroc, Moyen Atlas, Aguelmame Sidi-Ali	33.0783333N 05.0250000E	25	12,50	4,90	1	0,76	4	9
MO_3	Maroc, Haut Atlas, Jbel Azourki, below Tizi-n-Ilissi, Iglauane	31.7000000N 06.3499999E	25	14,83	5,64	1	0,79	4	8
MO_4	Maroc, Haut Atlas, Tessaout (Toufrine)	31.4500000N 06.4666667E	25	13,00	5,81	0	0,78	4	3
		Moyenne		13,500	5,460		0,773		
AL_1	Algérie, Aurès, Chelia	35.3100183N 06.6262565E	10	10,17	5,79	1	0,81	3	4
AL_2	Algérie, Aurès, Tafrent	35.2162530N 06.6227980E	24	14,83	6,18	1	0,81	3	7
		Moyenne		12,500	5,985		0,810		

N - nombre d'individus; N_a - nombre moyen d'allèles; N_e – nombre effectif d'allèles; P_a - nombre d'allèles privés; H_s - hétérozygotie au sein des populations

Tableau 9 : Estimations par paire de F_{ST} parmi les populations étudiées de *Juniperus thurifera*.

Populations	SP_1	SP_2	SP_3	FR_1	FR_2	MO_1	MO_2	MO_3	MO_4	AL_1	AL_2
SP_1	--										
SP_2	0,011**	--									
SP_3	0,006 ^{NS}	0,005 ^{NS}	--								
FR_1	0,007 ^{NS}	0,009**	0,003 ^{NS}	--							
FR_2	0,032*	0,018**	0,011**	0,024*	--						
MO_1	0,012**	0,012**	0,003 ^{NS}	0,013**	0,015**	--					
MO_2	0,023*	0,027*	0,013**	0,029*	0,033*	0,009**	--				
MO_3	0,009**	0,020*	0,006 ^{NS}	0,020*	0,028*	0,002 ^{NS}	0,005 ^{NS}	--			
MO_4	0,015**	0,017*	0,007 ^{NS}	0,016*	0,018**	0,003 ^{NS}	0,005 ^{NS}	0,006 ^{NS}	--		
AL_1	0,035*	0,040*	0,032*	0,038*	0,059*	0,031*	0,034*	0,035*	0,032*	--	
AL_2	0,025*	0,024*	0,017*	0,019*	0,045*	0,021*	0,017**	0,025*	0,018*	0,020**	--

Niveau de signification * - $P \leq 0.001$; ** - $P \leq 0.05$; NS – non-significatif

Tableau 10: Résumé des analyses AMOVA basé sur K-moyenne réalisée en GenoDive, nombre optimal de groupe (k) indiquée par deux méthodes.

<i>K</i>	SSD(T)	SSD(AC)	SSD(WC)	pseudo- <i>F</i>	BIC	Rho
2	3121,694	57,520	3064,174	2,479	63,552	0,021
3	3121,694	104,915	3016,779	2,600	63,119	0,034
4	3121,694	141,475	2980,219	2,644*	62,692	0,041
5	3121,694	163,935	2957,759	2,401	62,908	0,045
6	3121,694	185,111	2936,584	2,279	62,758	0,045
7	3121,694	204,101	2917,594	2,186	62,227	0,044
8	3121,694	222,991	2898,703	2,204	60,647	0,046
9	3121,694	239,011	2882,683	2,186	57,971**	0,047

La DAPC a identifié $k = 4$ est le nombre de groupe le plus probable en se basent sur l'analyse BIC et confirme le schéma de différenciation révélé par l'analyse k -moyenne basées sur AMOVA. Un modèle géographique claire de différenciation avec partage modéré des pools des gènes entre les groupes inférés est détecté (Fig. 6A). Elle est également confirmée au niveau individuel sur le tracé d'ordination des deux premiers composants principaux sur 24 inclus (Fig. 7). En conséquence, toutes les populations de la partie européenne de l'aire de répartition de l'espèce (SP et FR) sont classées dans les groupes I et III avec des coefficients d'appartenance moyenne (44 % et 37 %, respectivement). La DAPC a indiqué une nouvelle subdivision des populations africaines en deux groupes avec un partage limité des pools de gènes. Les populations marocaines sont regroupées principalement dans les groupes IV et III (en moyenne de 63 % et 26 %, respectivement), tandis que les populations algériennes sont classées dans le groupe II (en moyenne de 65 %). Dans ce dernier groupe, la population la plus distincte était celle de Chélia (AL_1), constituée d'individus présentant des affinités génétiques limitées pour les différents groupes par rapport aux autres populations (groupe II, 83 %).

Selon le logiciel STRUCTURE, la meilleure k décrivant la structure génétique spatiale des populations analysées de *Juniperus thurifera* est $k = 6$ (Fig.6B, C). Ce résultat montre le caractère distinctif des populations algériennes des autres populations européennes et marocaines. Les populations algériennes forment plutôt un groupe homogène et la plupart du temps, ils sont attribués au groupe II avec échange modéré des gènes avec d'autres groupes (Fig.6B). Toutes les populations restantes sont plutôt entremêlées, mais un certain modèle général pourrait être conclu. Les populations Marocaines sont regroupées principalement dans les deux groupes III et IV. Les populations de la partie européenne montrent un mélange

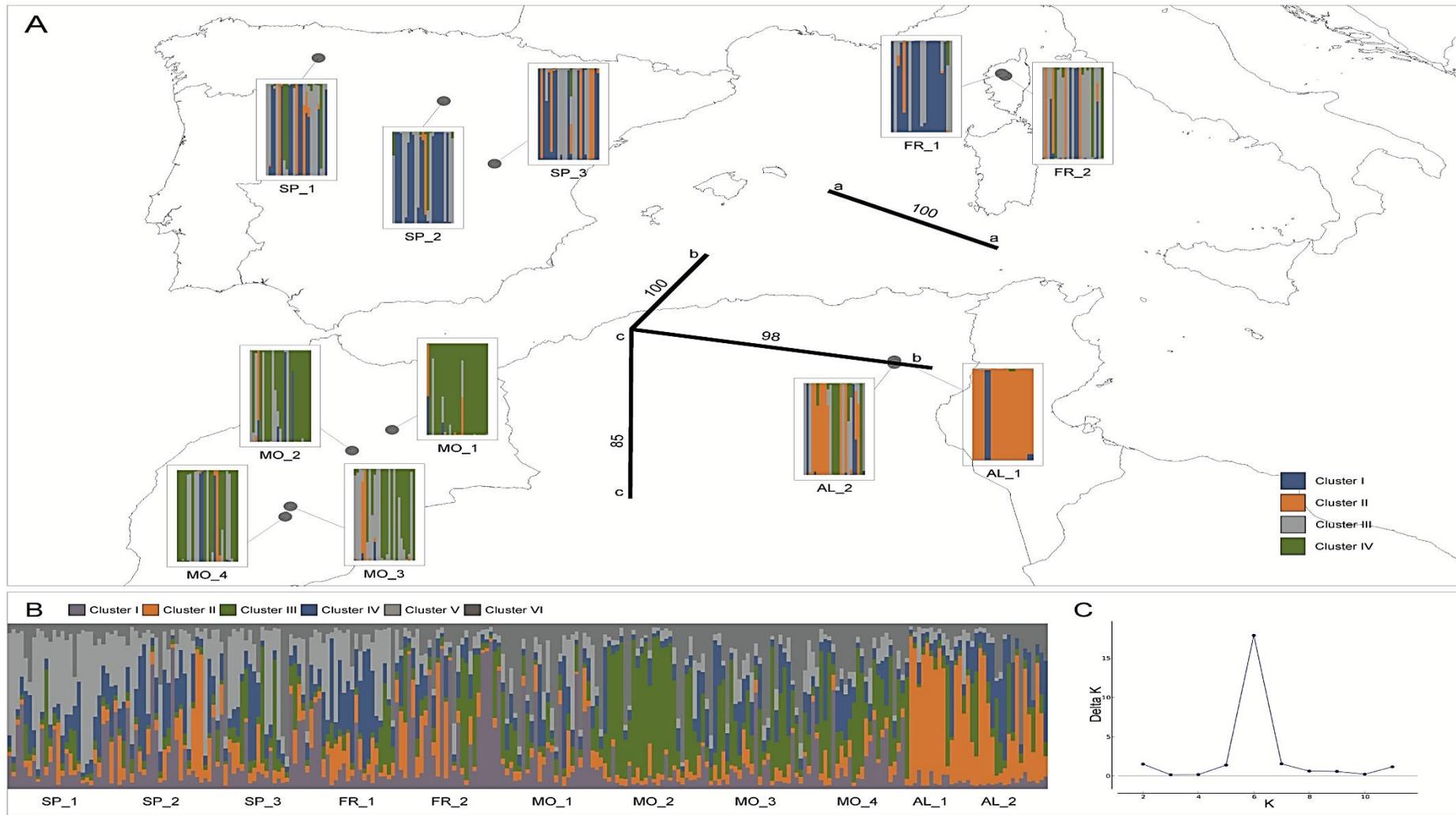


Figure 6: Localisation des populations de *Juniperus thurifera* soumises à une analyse génétique et structure génétique des populations sur la base de six loci nSSR: (A) diagrammes à barres obtenus à partir d'une DAPC avec des barrières génétiques obtenues avec l'algorithme de Monmonier ; (B) la proportion où appartient chaque individu dans les six groupe (cluster) supposées ($K = 6$) selon une approche bayésienne estimée par STRUCTURE; (C) estimation du nombre optimal de groupes génétiques suivant la méthode ΔK d'Evanno. Carte réalisée par QGIS.

génétique élevé, mais les populations espagnoles pour la plupart du temps sont dans les groupes I et V alors que la population de Corse est dans les groupes I et IV (Fig. 6B).

Selon l'analyse Barrière, trois limites génétiques fortement soutenues sont identifiées parmi les populations de *Juniperus thurifera* (Fig. 6A). Encore une fois, les populations algériennes semblent avoir un caractère très distinct, elles sont différentes de celle de l'Espagne, de Corse (valeur bootstrap 100 %) et marocaine (valeur bootstrap 85 %). En outre, la barrière divise aussi les deux populations d'Algérie (valeur de *bootstrap* de 98 %).

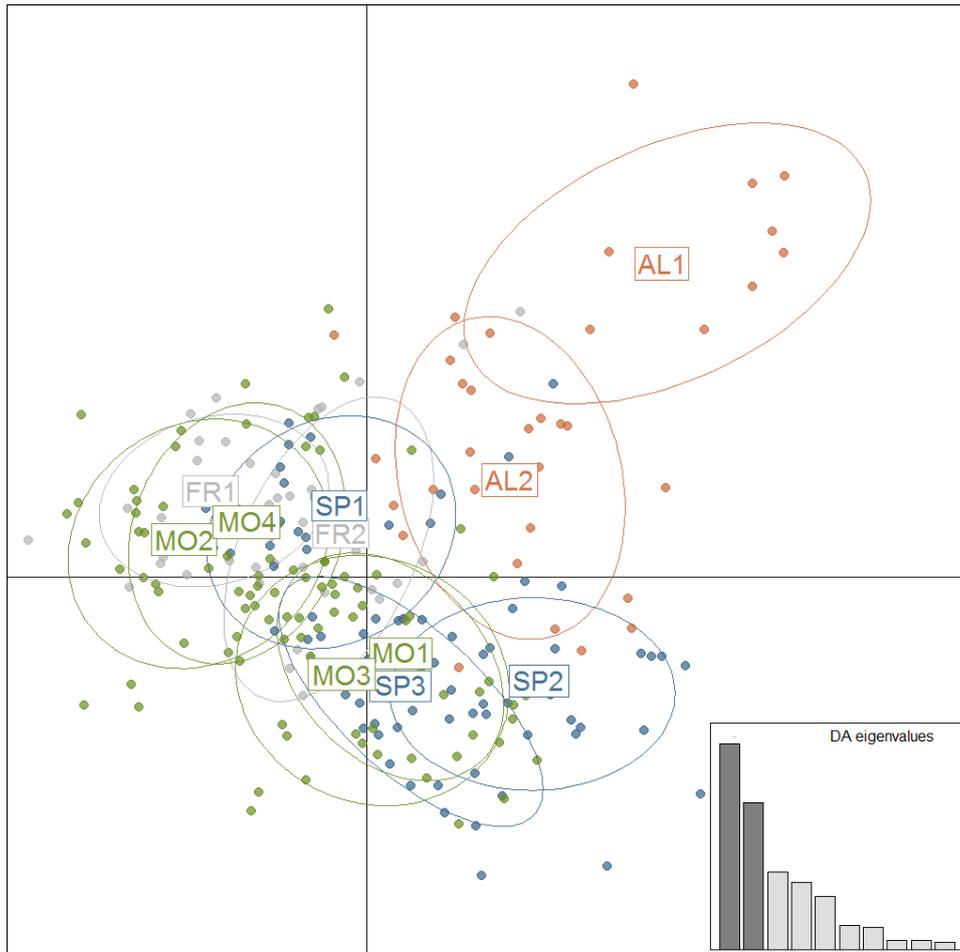


Figure 7 : Représentation d'un graphique d'ordination pour les deux premiers axes des composants principaux résultant d'une DAPC pour chaque individu, les ellipses indiquent leur affectation aux groupes génétiques inférées. Le graphique en bas à droite indique la variance expliquée par les principaux axes des composants utilisés pour le DAPC (gris foncé).

L'AMOVA montre que la majeure partie de la variation génétique (94 %) s'est produite au sein des populations, tandis que la variation attribuable aux régions géographiques et aux groupes génétiques définies par l'analyse en groupes représente respectivement 3,6 % et 4,5 % de la variation totale (Tableau 11). Un test Mantel a révélé une corrélation positive significative entre les distances génétiques et géographiques ($r = 0,334$, $P = 0,005$).

Tableau 11: Analyse de la variance moléculaire (AMOVA) estimé entre les régions géographiques (Europe, le Maroc et l'Algérie) et les groupes révélés par l'analyse en cluster (k= 4).

Source de variation	SSD	d.f.	MS	%Var	F-value	P-value
Parmi les régions						
Au sein de la population	2797,118	235	11,903	0,938	0,062	--
Parmi la population nichée dans les régions	161,158	8	20,145	0,026	0,027	0,000
Parmi les régions	99,813	2	49,907	0,036	0,036	0,000
Parmi les groupes (cluster) (k = 4)						
Au sein de la population	2797,118	235	11,903	0,938	0,062	--
Parmi la population nichée dans les groupes	123,257	7	17,608	0,017	0,018	0,001
Parmi les groupes	137,715	3	45,905	0,045	0,045	0,000

Abréviation : SSD - la somme de déviations de carrés, d.f. - le degré de liberté, MS - les carrés moyens, % Var - le pourcentage de variation totale, la P-valeur est basée sur 9 999 permutations

3. Modélisation de la distribution de *Juniperus thurifera* :

La précision du modèle MaxEnt pour les prévisions actuelles de distribution de *Juniperus thurifera* tenant compte des données climatiques fournis par WorldClim, exprimées par la AUC (l'aire sous la courbe ROC), a atteint 0,974 pour les peuplements européens et africains combinés, 0,983 pour les peuplements exclusivement européens et 0,990 pour les peuplements exclusivement africains, ce qui témoigne des performances élevées du modèle. De même une grande précision est obtenue avec les données CHELSA, 0,972 dans les deux peuplements africains et européens, 0,983 pour les peuplements européens exclusivement et 0,990 pour les peuplements d'Afrique.

Les principaux facteurs limitant l'aire de répartition actuelle des espèces modélisées conjointement à partir des données climatiques d'Europe et d'Afrique fournis par WorldClim sont : la température moyenne du trimestre le plus froid (BIO11-contribution relative: 28,6 %), la température minimale du mois le plus froid (BIO6- contribution relative: 22,8 %), la température moyenne du trimestre le plus sec (BIO9-contribution relative: 11,4 %) et les précipitations du trimestre le plus chaud (BIO18-contribution relative: 10,2 %) (Tableau 12).

L'ensemble des facteurs utilisés pour modéliser la répartition actuelle de la sous-espèce africaine n'était différent que par le nombre de variables bioclimatiques importantes (Tableau 12). Néanmoins, la variable BIO11 reste la plus importante (31,7 %), la deuxième variable critique est BIO18 (22,8 %) et les facteurs restants ont une influence marginale. Pour les populations européennes, certaines différences sont également apparues. Contrairement aux

résultats de l'analyse conjointe, la variable bioclimatique la plus importante est BIO6 (24,0 %), tandis que BIO11 c'est la deuxième variable la plus importante (17,1 %). En ce qui concerne les deux variables restantes, BIO9 est moins important (7,7 %) et BIO18 apporte une contribution relative comparable à celle de l'analyse conjointe (11,6 %).

Tableau 12 : Contribution des variables bioclimatiques dans la distribution actuelle théorique de *Juniperus thurifère* (WorldClim).

Variables		Tous (%)	Europe uniquement	Afrique uniquement
BIO1	Température moyenne annuelle	1,6	1,7	4,6
BIO2	Gamme diurne moyenne	0,2	0,7	0,6
BIO3	Isotherme	0,2	11,1	4,4
BIO4	Température saisonnière	0,7	1,8	0,3
BIO5	Température maximale du mois le plus chaud	0,3	0,3	3,0
BIO6	Température minimale du mois le plus froid	22,8	24,0	5,9
BIO7	Gamme annuelle des températures	0,3	0,2	0,2
BIO8	Température moyenne du trimestre le plus humide	9,0	7,1	6,0
BIO9	Température moyenne du trimestre le plus sec	11,4	7,7	1,0
BIO10	Température moyenne du trimestre le plus chaud	2,5	1,0	7,0
BIO11	Température moyenne du trimestre le plus froid	28,6	17,1	31,7
BIO12	Précipitations annuelles	3,2	1,0	4,4
BIO13	Précipitations du mois le plus humide	1,4	2,8	0,0
BIO14	Précipitation du mois le plus sec	2,1	4,2	7,6
BIO15	Précipitations saisonnières	2,7	4,2	0,1
BIO16	Précipitations du trimestre le plus humide	0,6	0,5	0,1
BIO17	Précipitations du trimestre le plus sec	2,1	2,9	0,1
BIO18	Précipitations du trimestre le plus chaud	10,2	11,6	22,8
BIO19	Précipitations du trimestre le plus froid	0,1	0,1	0,2

Les estimations effectuées avec la base de données CHELSA indiquent un ensemble différent des facteurs qui ont la plus forte contribution au modèle (Tableau 13). La différence la plus importante est dans la variable BIO14 (précipitation du mois le plus sec). Elle est définie comme la deuxième variable qui affecte la distribution des populations africaines (28,7 %), alors que les calculs basés sur les données de WorldClim l'ont marginalisé (Tableau 12). Cette variable bioclimatique a un impact très limité sur la distribution européenne (3,1 %), selon CHELSA. La BIO6 reste significatif et sa contribution relative est comparable dans l'analyse collective (21,7%) lors de l'utilisation des données de

WorldClim (22,8 %). Cependant, en utilisant CHELSA, la contribution de la variable BIO6 est plus importante pour les populations africaines (38,6 %) en comparaison aux populations européennes (10,3 %).

Contrairement à WorldClim, la modélisation avec CHELSA indique que la variable BIO1 (la température moyenne annuelle) est significative pour la gamme africaine (13,9 % de contribution), alors qu'il est défini comme étant marginal dans l'analyse avec WorldClim. La variable BIO11, qui est indiqué comme affectant la gamme africaine le plus selon l'analyse avec WorldClim (31,7 %), s'est révélée être important pour la modélisation européenne uniquement (17,6 %), et elle est négligeable pour les populations africaines uniquement (1,7 %). La même situation est observée avec BIO18, qui a une forte contribution relative pour les estimations uniquement européennes (16,7 %) et une faible contribution pour les estimations uniquement africaines (2,9 %) (Tableau 13).

Tableau 13: Contributions des variables bioclimatiques dans la distribution théorique actuelle de *Juniperus thurifera* (CHELSA).

Variable		Tous (%)	Europe uniquement	Afrique uniquement
BIO1	Température moyenne annuelle	8,3	7,6	13,9
BIO2	Gamme diurne moyenne	2,4	3,7	4,5
BIO3	Isotherme	8,7	3,1	0,4
BIO4	Température saisonnière	1,3	11,1	0,7
BIO5	Température maximale du mois le plus chaud	1,7	1,0	0,8
BIO6	Température minimale du mois le plus froid	21,7	10,3	38,6
BIO7	Gamme annuelle de température	2,3	5,6	0,6
BIO8	Température moyenne du trimestre le plus humide	4,8	2,8	0,2
BIO9	Température moyenne du trimestre le plus sec	1,2	0,9	1,6
BIO10	Température moyenne du trimestre le plus chaud	3,1	0,4	2,6
BIO11	Température moyenne du trimestre le plus froid	25,0	17,6	1,7
BIO12	Précipitations annuelles	0,2	0,3	0,1
BIO13	Précipitations du mois le plus humide	1,0	1,2	0,1
BIO14	Précipitations du mois le plus sec	0,3	3,1	28,7
BIO15	Précipitations saisonnières	0,5	1,0	0,3
BIO16	Précipitations du trimestre le plus humide	0,3	0,1	0,0
BIO17	Précipitations du trimestre le plus sec	0,3	13,0	2,2
BIO18	Précipitations du trimestre le plus chaud	16,8	16,7	2,9
BIO19	Précipitations du trimestre le plus froid	0,1	0,5	0,1

La gamme théorique de *Juniperus thurifera* modélisée conjointement pour les ensembles des données européennes et africaines couvre principalement la zone de la Péninsule Ibérique, avec les conditions les plus favorables dans le système central et la cordillère bétique à la lisière sud de la Péninsule Ibérique (Fig. 8A–C et Fig.9A-C). La même aptitude élevée (> 65%) était également indiquée pour les Alpes du sud-ouest. De nombreux enregistrements d'occurrence d'espèces sont disponibles dans ces zones. Des zones moins favorables pour *Juniperus thurifera* sont définies dans les Pyrénées. Il est intéressant de noter que le Massif Central semble posséder des habitats climatiquement appropriés pour le genévrier thurifère, mais aucune observation ne confirme son existence. En ce qui concerne l'Afrique, le Haut Atlas est le seul endroit qui peut fortement contribuer à la présence de *Juniperus thurifera*, alors qu'en Algérie, il n'y a que les montagnes des Aurès qui peuvent offrir des habitats appropriés.

Cependant, la modélisation séparée de la gamme pour les données africaines et européennes a révélé une modification profonde des distributions attendues (Fig. 8B, C). Sur la base de l'ensemble des données européennes, MaxEnt a appuyé les sites déjà observés de l'espèce dans la Péninsule Ibérique et les Alpes, mais l'aire de répartition africaine était considérée comme marginale (Fig. 9). En revanche, la modélisation de la distribution à l'aide d'occurrences africaines a fortement défendue l'occurrence d'espèces observée dans le Haut Atlas et la pertinence dans les montagnes des Aurès sont beaucoup plus faible.

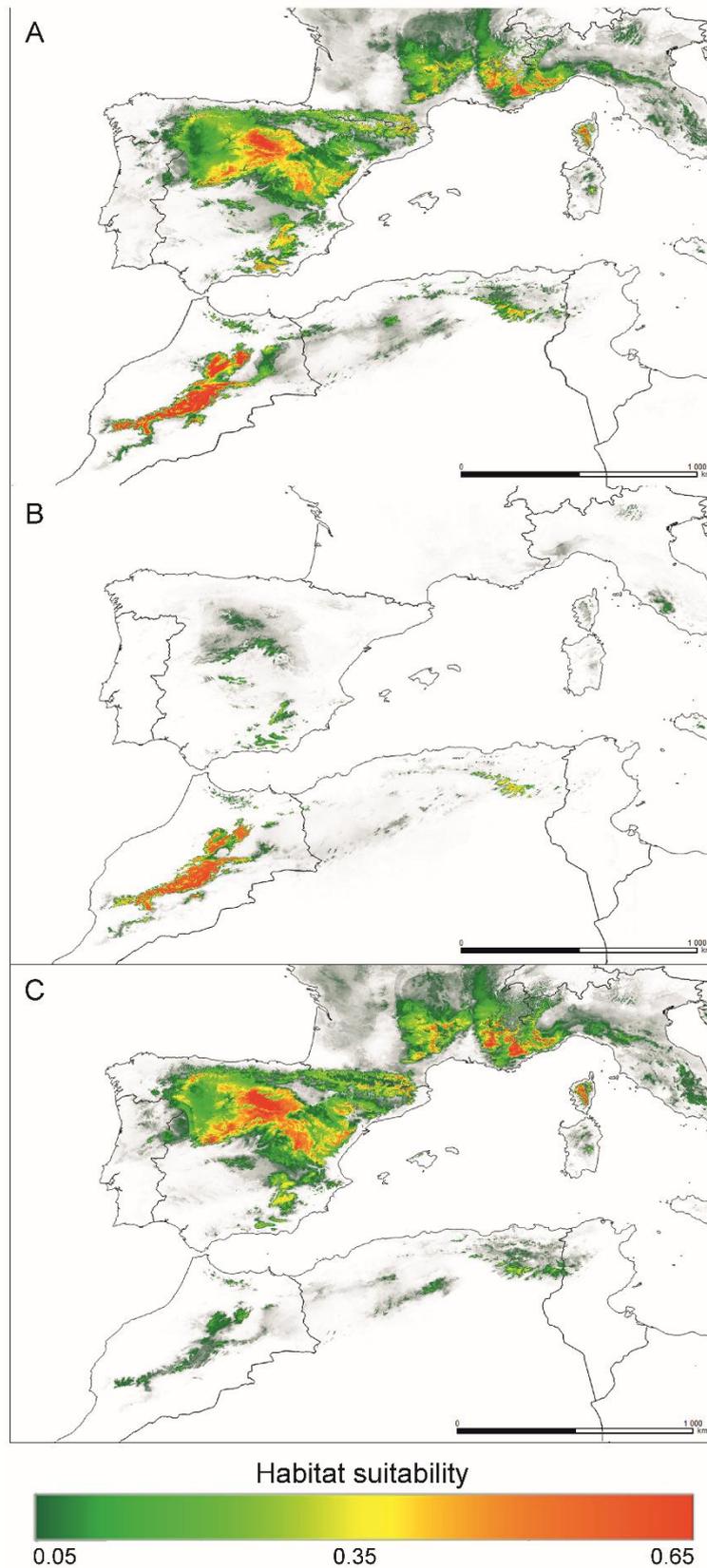


Figure 8. Gamme théorique actuelle de *Juniperus thurifera*, estimée à l'aide de MaxEnt à partir des données de WorldClim; A, peuplements européens et africains; B, peuplements exclusivement africains; C, peuplements exclusivement européens.

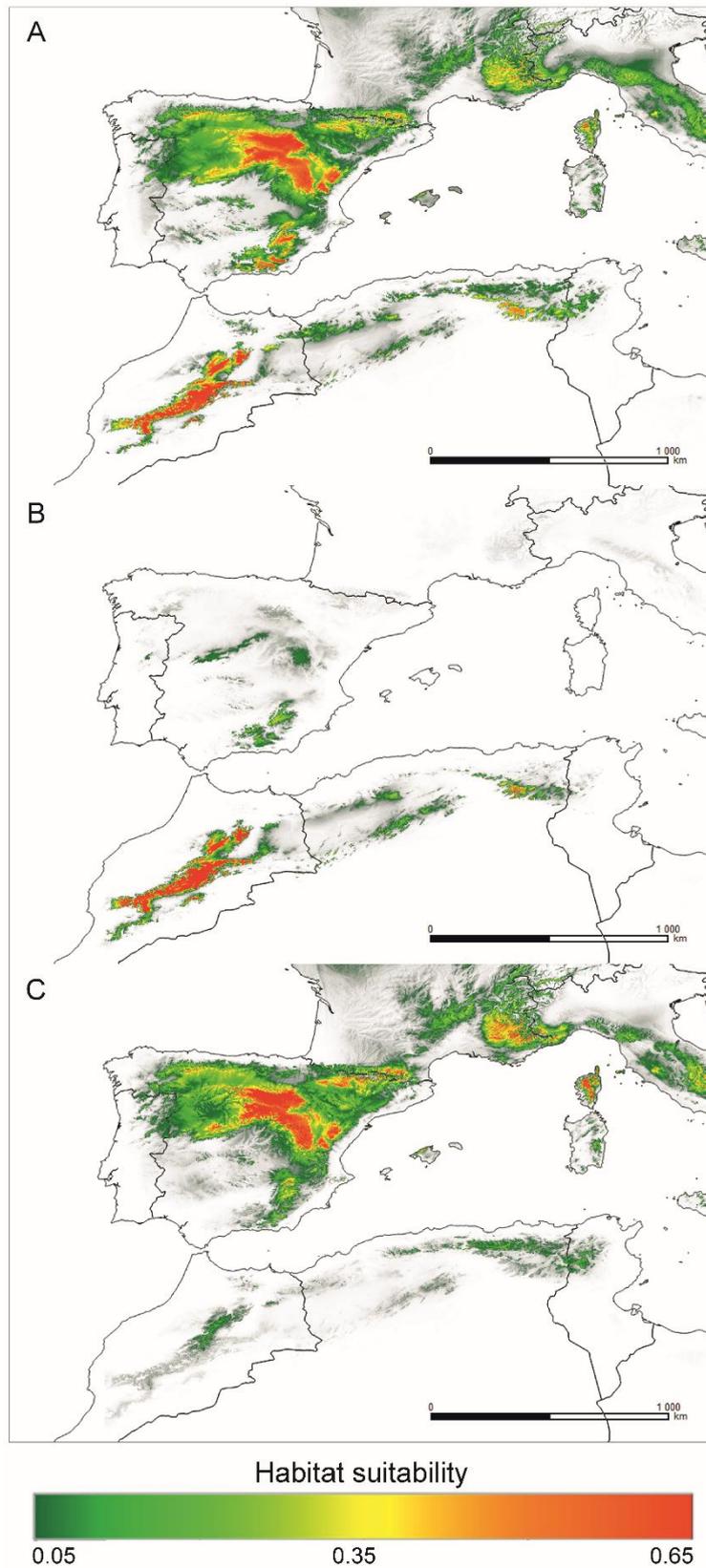


Figure 9. Gamme théorique actuelle de *Juniperus thurifera*, estimée à l'aide de MaxEnt à partir des données de CHELSA; A, peuplements européens et africains; B, peuplements exclusivement africains; C, peuplements exclusivement européens.

La modélisation conjointe de la dernière période interglaciaire (Eémien) pour les bases des données européennes et africaines suggèrent une réduction profonde de l'occurrence pour *Juniperus thurifera* (Fig. 10A). Seules les zones principales de l'aire de répartition actuelle dans la Péninsule Ibérique, les Alpes, le Haut Atlas et le moyen Atlas étaient indiquées comme étant adaptées au climat mais avec un support très faible (environ 5%).

L'analyse du dernier maximum glaciaire (LGM) basé sur WorldClim en utilisant tous les enregistrements d'occurrence (Fig.10B) et en utilisant uniquement les données africaines n'a pas permis d'identifier un site approprié pour *Juniperus thurifera* au cours de cette période. De même, les tentatives de reconstituer les espèces varient au cours du dernier maximum glaciaire (LGM) avec l'aide de la base des données CHELSA n'a pas donné des résultats pour l'une des combinaisons utilisées. La distribution du dernier maximum glaciaire (LGM) décrite sur la base des données uniquement européennes extraites de WorldClim sont restées identiques à celle actuelle (Fig.10C). Certaines populations ont peut-être existé dans la Péninsule Ibérique, probablement dans les Alpes et dans une certaine mesure dans le moyen Atlas et le Haut Atlas. En général, l'espèce était probablement très limitée (Fig.10C).

Cependant, une réduction spectaculaire de la répartition des espèces est projetée dans des conditions climatiques futures en fonction des données WorldClim. À l'exception des zones très limitées dans le Haut Atlas, l'espèce disparaît pratiquement. Les projections faites à l'aide de relevés climatiques de CHELSA sont moins pessimistes (Fig.11). MaxEnt suggère une certaine réduction de la gamme de *Juniperus thurifera*, mais c'est les populations européennes qui sont principalement concernées (Fig. 11A–C). La modélisation de niche basée sur des données d'Afrique indique que, pour les sous-espèces africaines, les zones des cordillères bétiques au sud de l'Espagne peuvent potentiellement offrir des habitats appropriés à l'avenir climatiquement (Fig. 11B; Aptitude > 65 %).

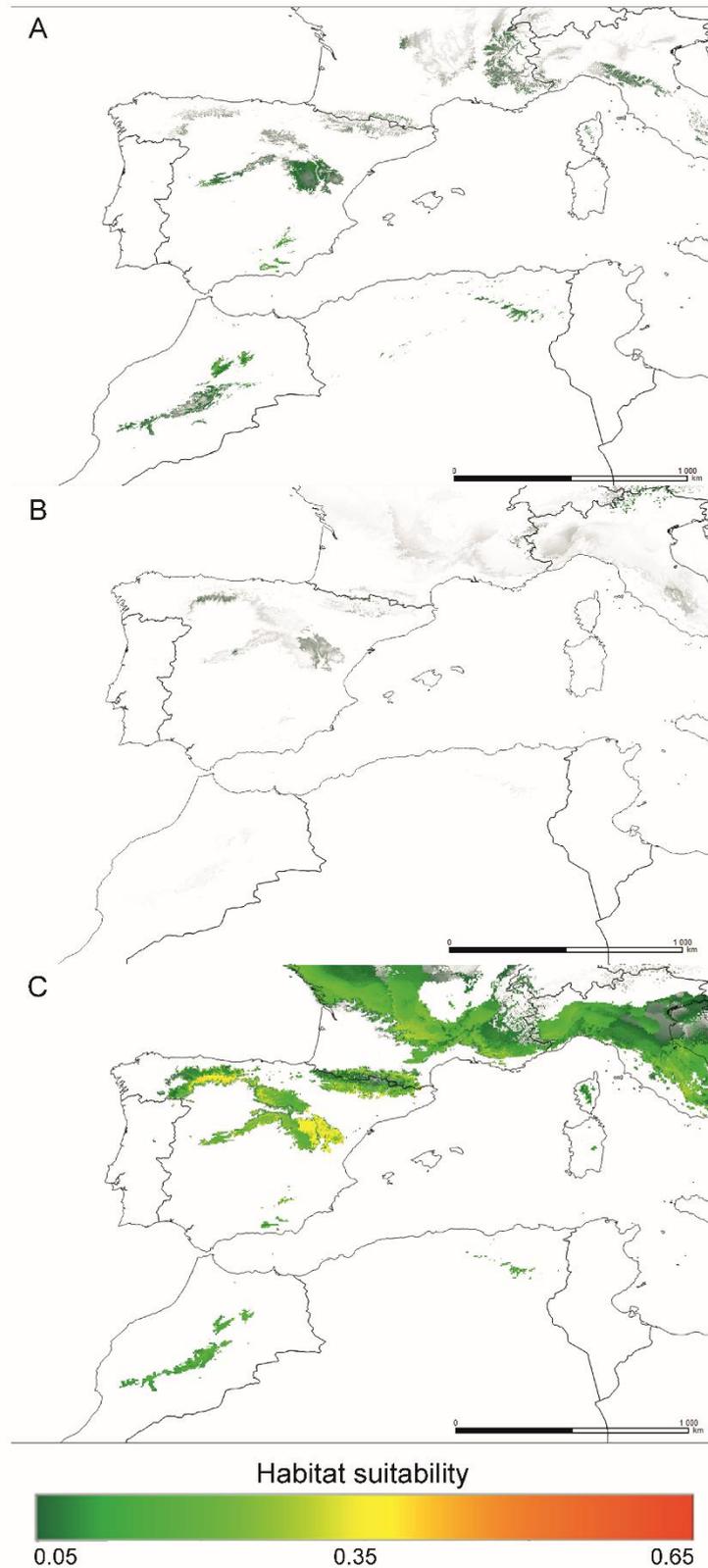


Figure 10: Étendue théorique de *Juniperus thurifera* dans le passé, estimée à l'aide de MaxEnt à partir des données de WorldClim; A, Eémien (environ 120-140 ka BP); B, LGM (il y a environ 22 000 ans), tous les peuplements; C, LGM, peuplements européens.

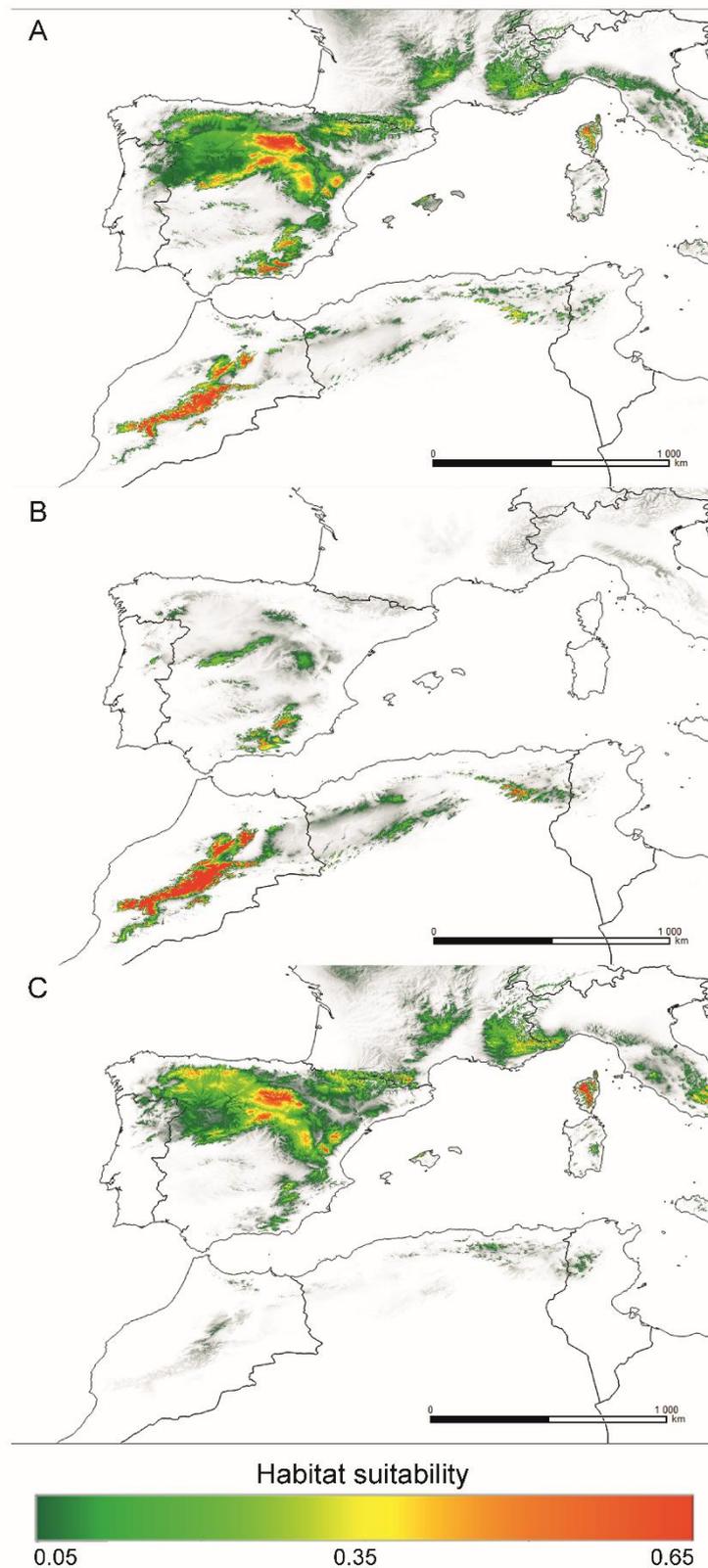


Figure 11: Gamme théorique de *Juniperus thurifera* dans le futur est estimée à l'aide de MaxEnt à partir des données de CHELSA; A, peuplements européens et africains; B, peuplements exclusivement africains; C, peuplements exclusivement européens. Le scénario de changement climatique RCP 2.6 a été utilisé pour le modèle CCSM4. Carte réalisée avec QGIS.

L'analyse en composantes principales (ACP) de la base des données bioclimatiques acquise lors de CHELSA a révélé la différenciation écologique des populations européennes et africaines de *Juniperus thurifera*. En conséquence, toutes les occurrences de *Juniperus thurifera* enregistrées sont divisées en deux groupes principaux en fonction des deux premières composantes principales (PC1 et PC2), ce qui explique 70.9 % de la variation totale (Fig. 12). Le composant PC1 (45 % de la variation totale) est négativement corrélé avec l'isotherme (BIO3) et la précipitation saisonnière (BIO15) est corrélée positivement avec les variables qui font allusion aux précipitations (BIO12, BIO13, BIO18 et BIO19). La variabilité de la température (BIO6 et BIO8) et les variables de précipitation (BIO13, BIO15 et BIO19) contribuent principalement à (25,9 %) dans la composante PC2 (Fig. 12 ; Tableau 14). Cependant, du point de vue des préférences climatiques, il semble que les populations algériennes sont plus semblables aux populations européennes.

Tableau 14: Charges factorielles des variables bioclimatiques de deux premières composantes principales (PC1-PC2) révélés par l'analyse en composantes principales (PCA).

Variable		PC1	PC2
BIO3	Isotherme	-0,35	-0,24
BIO6	Température minimale du mois le plus froid	0,18	0,39
BIO8	Température moyenne du trimestre le plus humide	0,03	0,56
BIO9	Température moyenne du trimestre le plus sec	-0,25	0,02
BIO12	Précipitations annuelles	0,47	-0,19
BIO13	Précipitations du mois le plus humide	0,41	-0,32
BIO15	Précipitations saisonnières	-0,31	-0,39
BIO18	Précipitations du trimestre le plus chaud	0,42	0,17
BIO19	Précipitations du trimestre le plus froid	0,35	-0,39

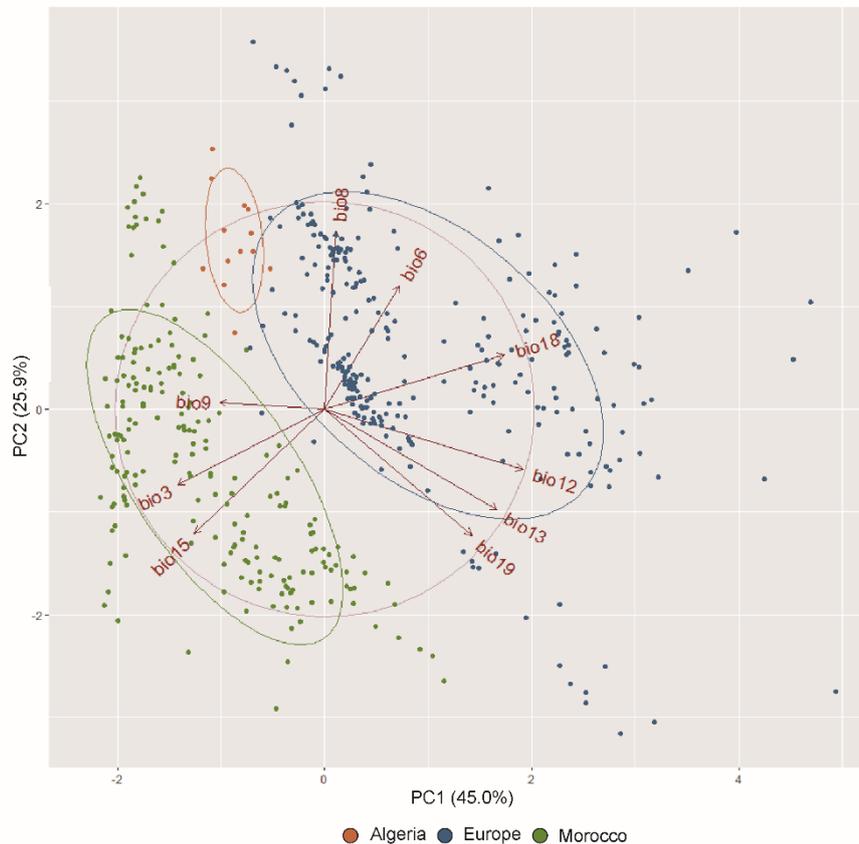


Figure 12 : Influence de 19 variables bioclimatiques sur la distribution actuelle de *Juniperus thurifera* selon l'analyse en composantes principales (ACP) basée sur 280 données d'occurrence d'espèces (les variables bioclimatiques comme dans le tableau 15).

II. Etude de la régénération ex-situe de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*:

1. Etude biométrique :

Le genévrier thurifère des Aurès est très peu étudié, d'où l'utilité d'une étude biométrique. Dans la présente étude six thuriféraires sont prospectées et échantillonnées (Tableau 6).

D'après l'analyse génétique une différenciation génétique est observée sur les deux populations étudiées (Chélia et Tafrent) ; de cela, nous avons entamé une étude biométrique pour déduire si une différence morphologique est aussi présente. D'après l'analyse discriminante des principaux composants (DAPC) réalisée sur le logiciel R 3.4.3, la différenciation est très légèrement observée (Fig. 13); seules les petites galbules provenant de M'sara (PMK) sont légèrement distincte des autres populations. Les populations de Chélia, T'Kout et Tafrent sont très proches les unes des autres ; ses trois peuplements sont aussi proches géographiquement.

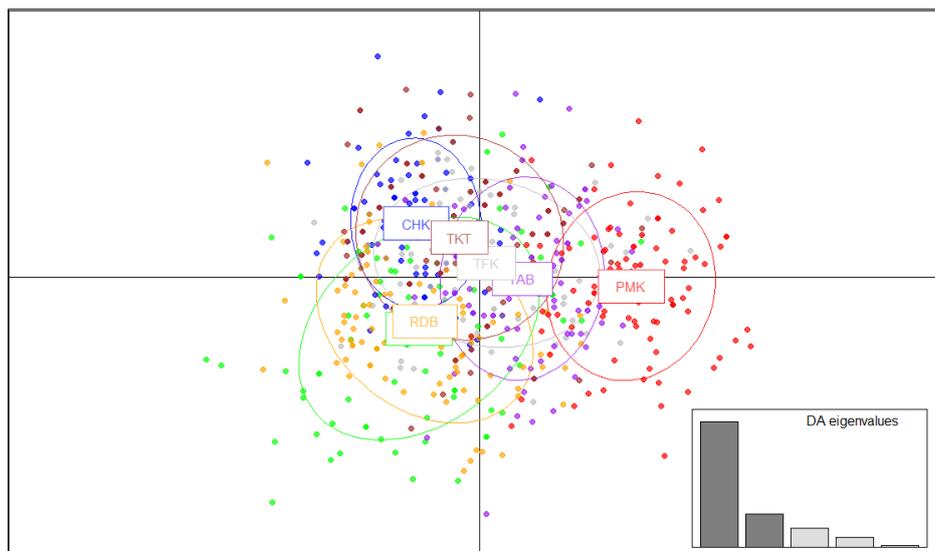


Figure 13 : Graphique d'ordination pour les deux premiers axes des composants principaux résultant d'une DAPC pour chaque individu, les ellipses indiquent leur affectation aux groupes morphologique inférées.

CHK: Chélia, TFK: Tafrent, TAB: Theniet El Abed, RDB: Ras draâ, TKT: T'Kout, MSK: M'sara grands galbules, PMK: M'sara petites galbules.

2. Qualités des galbules et des graines de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*:

L'observation des galbules sous la loupe binoculaire (Gr X 10) a permis de déterminer le taux de parasitisme des galbules. L'analyse montre que la thuriféraie de M'Sara présente le taux de galbule parasité le plus élevé qui est de l'ordre de 65,23 % suivi de la thuriféraie de Tafrent avec 60,73 % et la thuriféraie de T'Kout qui atteint les 53,8 %. Ce pourcentage élevé est lié à une richesse de l'entomofaune parasite colonisant les couronnes des genévriers thurifère (Badri, 2003) contrairement à la thuriféraie de Theniet El Abed (ZANA) qui est la moins attaquée en présentant un pourcentage des galbules saines de l'ordre de 82,78 % suivies par la thuriféraie de Ras draâ (77,33 %) (Fig. 14).

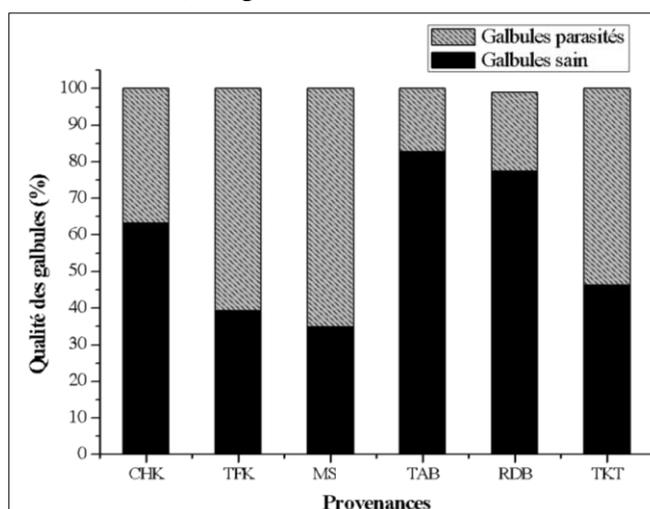


Figure 14: Qualité des galbules de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* en fonction des provenances étudiées.

CHK: Chelia, TFK: Tafrent, TAB: Theniet El Abed, RDB: Ras draâ, TKT: T'Kout, MS: M'sara

La scarification mécanique des graines a révélé l'état des endospermes à l'intérieur des graines, les endospermes désignés sont des endospermes lignifiés, desséchés et blanchâtres. Certaines graines sont vides et d'autres sont parasitées à l'intérieur. Les graines provenant de T'Kout (TKT) contiennent le pourcentage le plus élevé d'endospermes blanchâtres qui est de l'ordre de 48,1% suivi par la station M'sara petite galbule (PMK) avec un taux de 20% (lors de la scarification nous avons divisé les galbules de M'Sara en deux : les grandes galbules (MSK) et petites galbules (PMK)), le taux le plus faible, qui n'excède pas 1% des endospermes blanchâtres est enregistré dans la thuriferaie de Chélia (CHK). Un pourcentage relativement très faible, cette provenance comporte des individus isolés et très âgés. Cette dernière n'est pas trop différente des autres thuriferaies qui contiennent seulement 3 à 20 % des endospermes blanchâtres (Fig. 15 et 16). Les taux des graines susceptibles de germer (contient des endospermes blanchâtres) sont plus ou moins faibles, mais cela ne peut expliquer en lui seul les difficultés de régénérations naturelles de cette espèce. Les graines du genévrier thurifère sont de petite dimension ce qui rend la scarification mécanique très difficile ce qui conduit généralement à la perte des endospermes blanchâtres ce qui limite le stock de graines pour le reste de l'expérimentation.

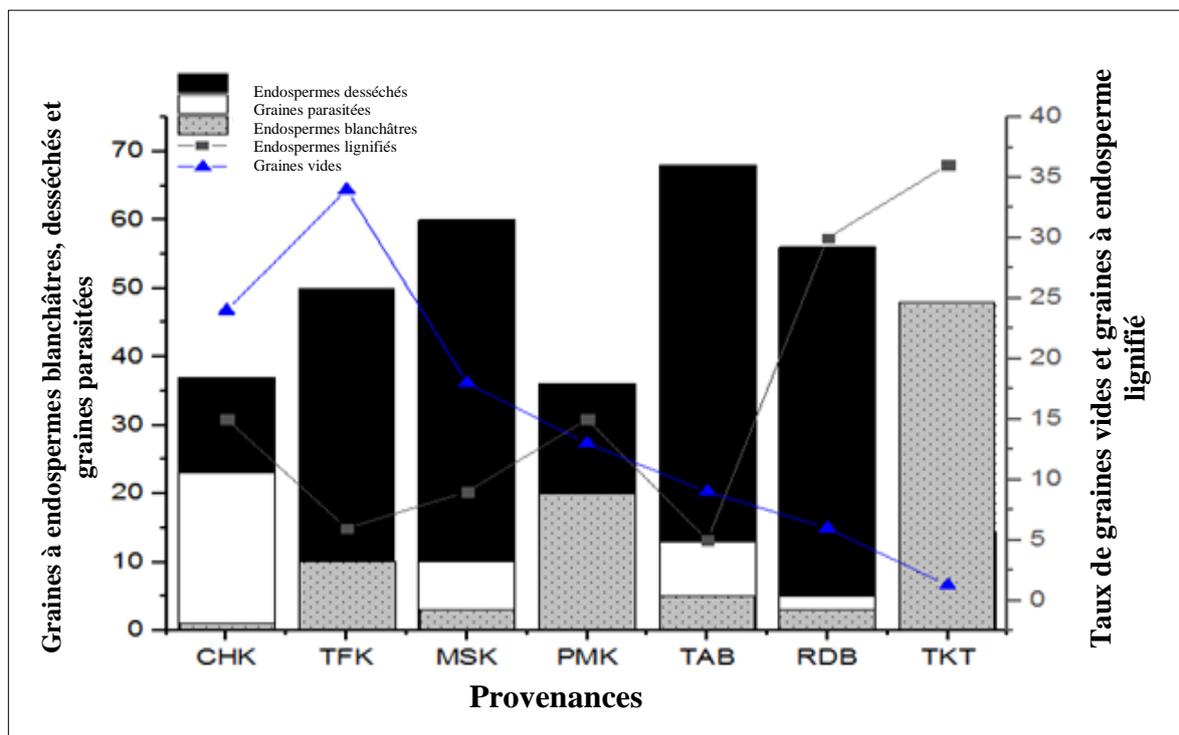


Figure 15: Qualité des graines de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* en fonction des thuriferaie

CHK: Chelia, TFK: Tafrent, TAB: Theniet El Abed, RDB: Ras draâ, TKT: T'Kout, MSK: M'sara grands galbules, PMK: M'sara petites galbules.

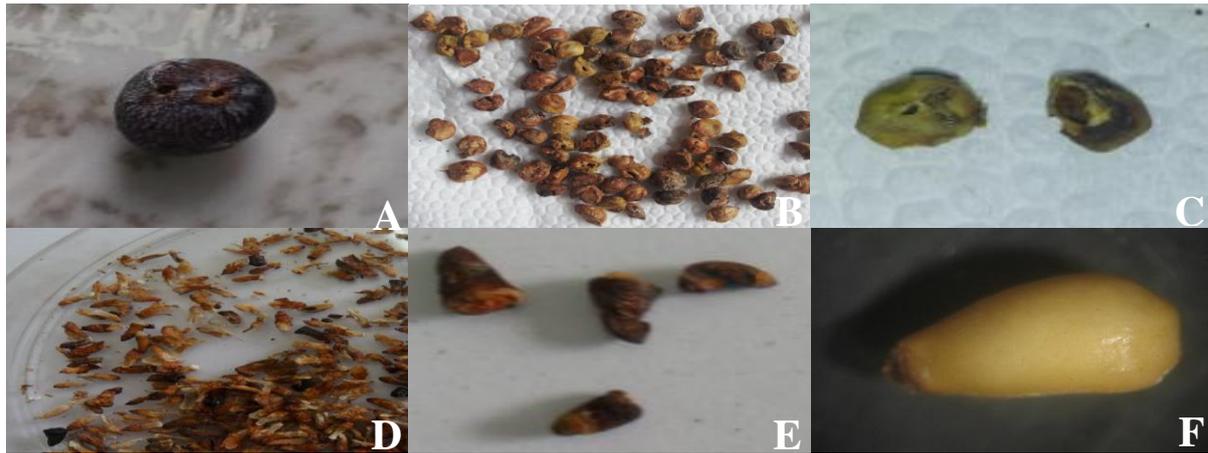


Figure 16 : État sanitaire des galbules et graines de *Juniperus thurifera* var. *aursiaca* ; Galbule parasité (A), Graines parasitées (B), graines pourries (C), endospermes desséchés (D), E. lignifiés (E) et E. blanchâtres (F).

3. Prétraitements des graines de *Juniperus thurifera* var. *aursiaca*:

Les téguments des graines du genévrier thurifère sont éliminés définitivement et uniquement les endospermes blanchâtres sont utilisés pour induire la germination. Ces derniers ont germé quel que soit les traitements appliqués à différents taux comme le montre le tableau 15.

D'après le test de Duncan trois groupes homogènes sont identifiés. Les traitements B, C et E forme un seul groupe où les taux de germination sont supérieurs de 57,50% (Tableau 15) ; les taux les plus faibles de germination sont de 2,5 % pour les endospermes qui n'ont pas subis des traitements et cultivés dans la chambre de culture ($25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$) (A) et le traitement 'L' où les endospermes sont immergés dans l'eau distillé pendant 24h à une température de 4 °C , puis ces derniers sont transférés à -12 °C pendant 24 h et stratifié à 4 °C pour le reste de l'expérimentation. D'après le test de Duncan ces deux traitements « A et L » forment un groupe à part. Concernant le troisième groupe c'est un groupe intermédiaire où les taux de germinations sont très variables (Tableau 15). Dans ce groupe le taux de germination le plus faible est enregistré chez les endospermes qui sont imbibés dans de l'eau chaude (30 °C) pendant 10 min puis stratifiés à (4 °C) pour le reste de l'expérimentation, ce traitement (I) à favoriser le développement des bactéries à l'intérieur des endospermes ce qui a conduit à leurs pourritures.

Le temps moyen de germination (TMG) des endospermes n'a pas dépassé 54 jours, sachant que les premières germinations sont enregistrées en appliquant le traitement où les endospermes sont immergés dans l'eau distillée froide (4 °C) pendant 24h puis stratifiés à 4 °C (B) ; suivi du traitement où les endospermes sont immergés dans l'eau distillée froide pendant 24 h suivis d'une autre immersion dans la GA_3 durant 24 h puis stratifiés à 4 °C (E). La germination commence au 50^{ème} jour de culture en appliquant le traitement « B » et après

57 jours de stratification pour le traitement « E ». Le TMG n'a pas montré une grande différence entre les traitements, l'analyse statistique a démontré l'existence d'un seul groupe homogène.

Tableau 15 : Taux de germination et le temps moyen de germination (TMG) des endospermes de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* stratifié à froid (Pour les abréviations voir le tableau 7).

Traitements	Taux de germination	TMG
A	2,50±3,54 ^b	25,75±36,42 ^a
B	57,50±7,07^a	21,49±7,91 ^a
C	58,75±37,12^a	31,75±21,90 ^a
D	52,50±10,61 ^{ab}	22,93±10,86 ^a
E	60,00±28,28^a	36,58±13,15 ^a
F	42,50±0,00 ^{ab}	31,85±16,51 ^a
G	40,00±14,14 ^{ab}	28,53±8,87 ^a
H	47,50±31,82 ^{ab}	37,22±4,84 ^a
I	10,00±14,14 ^{ab}	14,68±20,75 ^a
J	21,25±30,05 ^{ab}	19,50±27,58 ^a
K	13,75±19,45 ^{ab}	11,27±15,94 ^a
L	2,50±3,54 ^b	38,25±54,09 ^a

Les jeunes semis sont plantés directement dans des pots qui contiennent uniquement de la terre végétale. Les premières feuilles sont observées après le quatrième jour de la mise en pots des plantules. Le suivi du développement moyen des plantules et le calcul de nombre de feuilles moyen est effectué pendant 18 semaines comme le montre la figure 17.

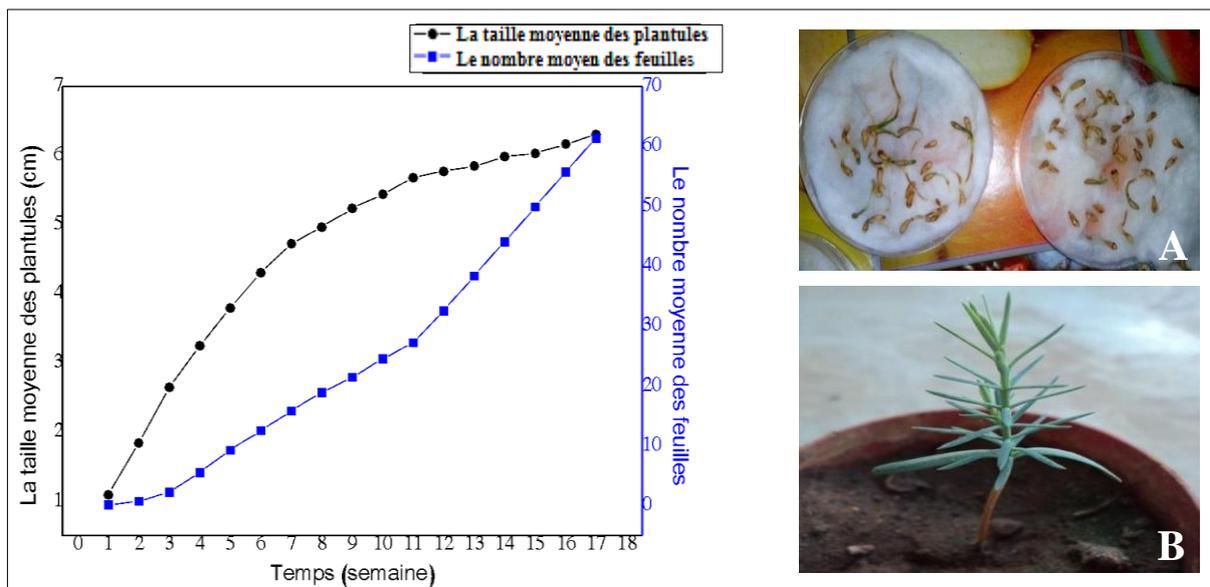


Figure 17: Développement des semis de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* issus après des prétraitements.

A : Jeune semis du genévrier thurifère, B : plantules âgée de 6 mois

4. Culture d'embryon isolé de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*:

Les différents traitements utilisés ont un effet sur la germination des embryons isolés, les germinations commencent au quatrième jour de culture avec une ouverture des deux feuilles cotylédonaires et apparition d'une radicelle pour atteindre l'optimum de germination à la deuxième semaine de culture, durant cette période l'obscurité est maintenue. Un taux de germination de 78,94 % est observé chez les embryons mis en culture sur le milieu DCR sans aucun additif, le pourcentage de germination s'est amélioré pour atteindre les 100 % après l'ajoute de 5 g/l de charbon actif et aussi lors de la combinaison du charbon actif avec toutes les concentrations de l'acide gibbérellique, 0,1 mg/l ou 0,5 mg/l de BAP et en dernier 0,5 mg/l d'AIB. Le taux de germination le plus faible est signalé chez les embryons cultivés sur le milieu qui contient le charbon actif et 0,1 mg/l de TDZ (58,82 %) (Fig. 18A).

Par contre, 88,23 % de germination est obtenu dans le milieu DCR additionné 5 g/l charbon actif et 1 mg/l d'acide ascorbique, le taux augmente pour atteindre le 100 % dans plusieurs traitements (Fig. 18A). Les concentrations d'AIB et TDZ utilisées dans cette étape sont favorables à la germination. Le pourcentage de 66,66 % de germination c'est le taux le plus faible obtenu parmi les milieux où les deux antioxydants sont combinés, lors de l'addition de 0,1mg/l GA_3 .

Par contre, sur les milieux où l'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant, le taux de germination le plus faible est obtenu sur le milieu avec 1 mg/l d'ASA et 0,25 mg/l de thidiazuron (50 %), les taux se sont améliorés pour atteindre 100 % dans d'autres traitements (Fig. 18B).

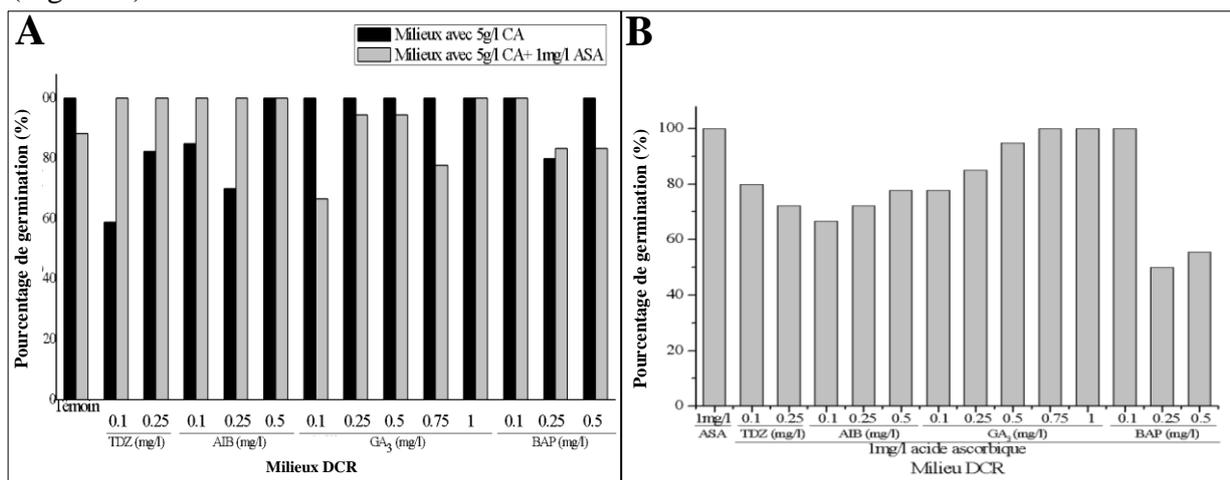


Figure 18 : Taux de germination des embryons de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* cultivés sur le milieu DCR.

4.1. Temps moyen de germination des embryons de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* cultivés *in vitro* :

Le temps moyen de germination (TMG) varie entre 6,2 et 9,71 jours chez les vitrosemis cultivés dans les milieux où le charbon actif est utilisé comme antioxydant, un temps qui n'est pas différent de ceux cultivés sur milieu DCR sans aucun additif (Témoin) avec TMG de 9,2 jours. En revanche, le TMG n'a pas dépassé 6,21 jours chez les vitrosemis cultivés sur milieux où le CA, ASA et les régulateurs de croissance sont associés.

Dans les milieux où l'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant, le TMG est dépassé 10 jours, à l'exception de quelques milieux comme le montre la figure 19.

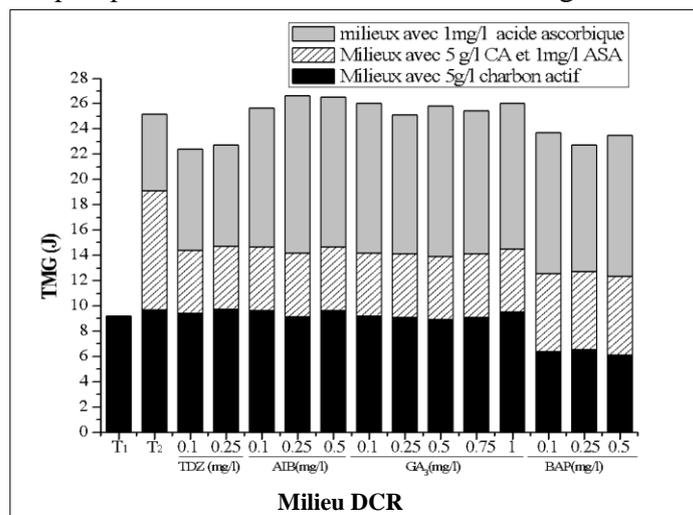


Figure 19 : Temps moyen de germination des embryons de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* cultivés *in vitro*.

T₁ : milieu DCR sans aucun additif, T₂ : Le milieu DCR plus antioxydant.

4.2. Développement des vitrosemis issus des embryons isolés de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*:

Après la germination, les tubes à essai qui contiennent les plantules sont transférés à la lumière (Photopériode) dans la chambre de culture, les vitroplants sont suivis de la germination jusqu'à leur acclimatation. Les mesures de taille des vitroplants dans chaque milieu sont effectuées pendant trois mois de leur mise en culture, les résultats sont présentés dans la figure 20.

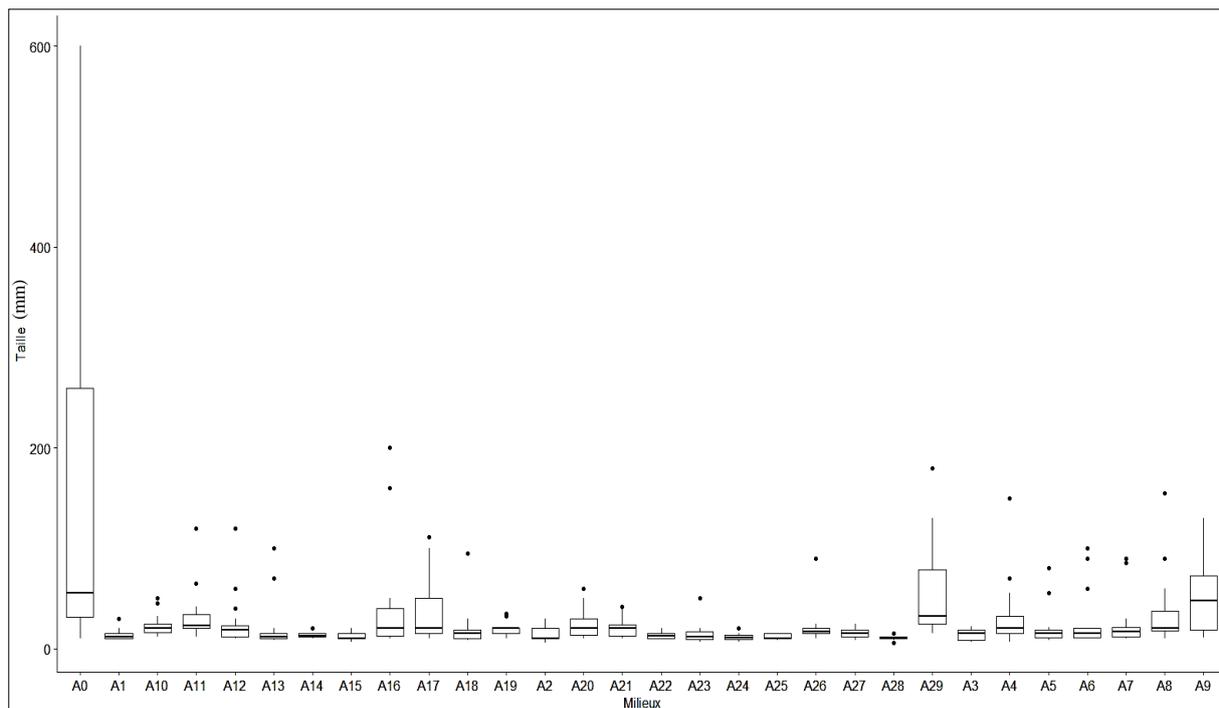


Figure 20 : Développement des vitroplants de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* en fonction des milieux de culture (pour les abréviations voir annexe 03).

L'analyse statistique basée sur Levene test à montré une différence hautement significative ($P < 0,001$) entre la taille des vitroplants cultivés sur les différents milieux de culture et le test de Duncun révèle 8 groupes homogènes (Annexe 03). Les vitroplants cultivés sur le milieu témoin se sont très bien développés suivi de ceux cultivés sur milieu DCR additionné 1 mg/l d'acide ascorbique. Par contre, les vitroplants ne sont pas bien développés sur les trois milieux suivant : le premier contient 5 g/l CA plus 1 mg/l ASA et 0,75 mg/l GA_3 (A₂₄), le deuxième contient : 5 g/l CA plus 1 mg/l ASA et 1 mg/l GA_3 (A₂₅) et le dernier milieu où nous avons combiné 5 g/l CA, 1 mg/l d'ASA et 0,5mg/l BAP (A₄₀). Selon l'analyse statistique ses trois milieux forment un seul groupe homogène.

Le nombre des feuilles par vitroplant sont calculé dans chaque milieu de culture, le test de Levene a révélé une différence significative entre les milieux de culture ($P < 0,001$). Le nombre de groupes homogènes révélé par le test de Duncan est de 9 groupes homogènes (Annexe 04), le milieu qui a induit plus de feuilles par vitroplant est le milieu témoin (A₀) (Fig. 21).

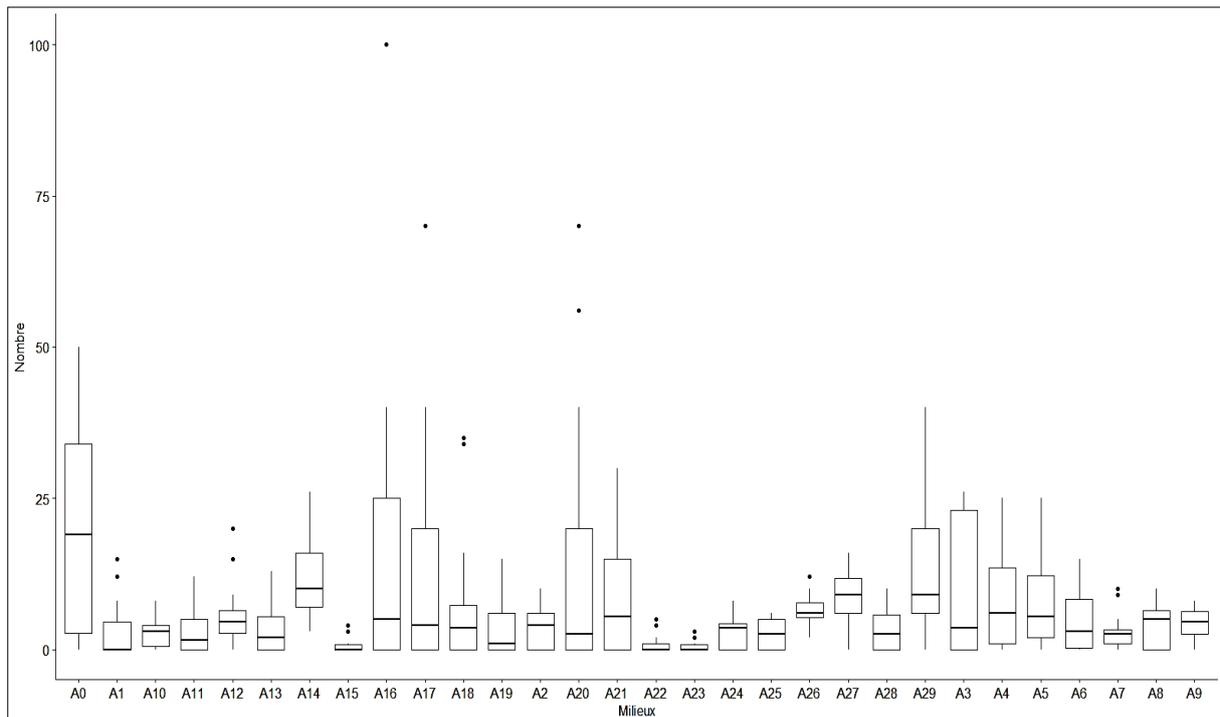


Figure 21: Nombre moyen des feuilles de vitroplants de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* en fonction des milieux de culture (pour les abréviations voir annexe 03)

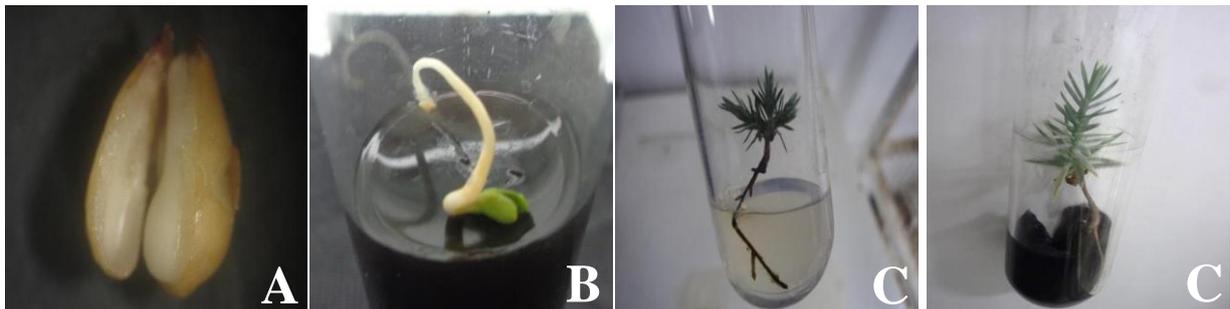


Figure 22 : Etapes de développement d'un embryon de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* mise en culture dans le milieu DCR.

A : Isolement d'un embryon, *B* : vitrosemis âgé de 15 jours, *C* : un vitrosemis âgé de 3 mois.

4.3. Anomalies des vitroplants de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*:

Le nombre d'anomalie observée dans le développement des vitroplants est très restreint, mais dans certains milieux des nécroses des vitrosemis et aussi des déformations qui donnent des cals sont observées. Le taux de nécrose n'a pas dépassé les 25 % dans les milieux où le charbon actif est le seul antioxydant et le taux de callogenèse maximal est de 17,64 %. Les cals vitrifiés sont observés dans quatre milieux (Fig. 23A).

Moins de nécroses sont obtenues sur les milieux de culture avec les deux antioxydants (CA et ASA), le maximum de nécroses est enregistré sur le milieu de culture avec 5 g/l de CA plus 1 mg/l d'ASC et 0,1 mg/l de DTZ (21,73 %). D'un autre côté, sur le milieu DCR avec 5 g/l de

CA, 1 mg/l d'ASA et 0,5 mg/l de GA₃ un taux de callogenèse de 17,64 % est obtenu (Fig. 23B).

Il faut signaler que dans les milieux où nous avons utilisé l'ASC comme antioxydant combiné avec des régulateurs de croissance, la totalité des vitrosemis se sont transformé en cals à la troisième semaine de culture (Fig. 23C).

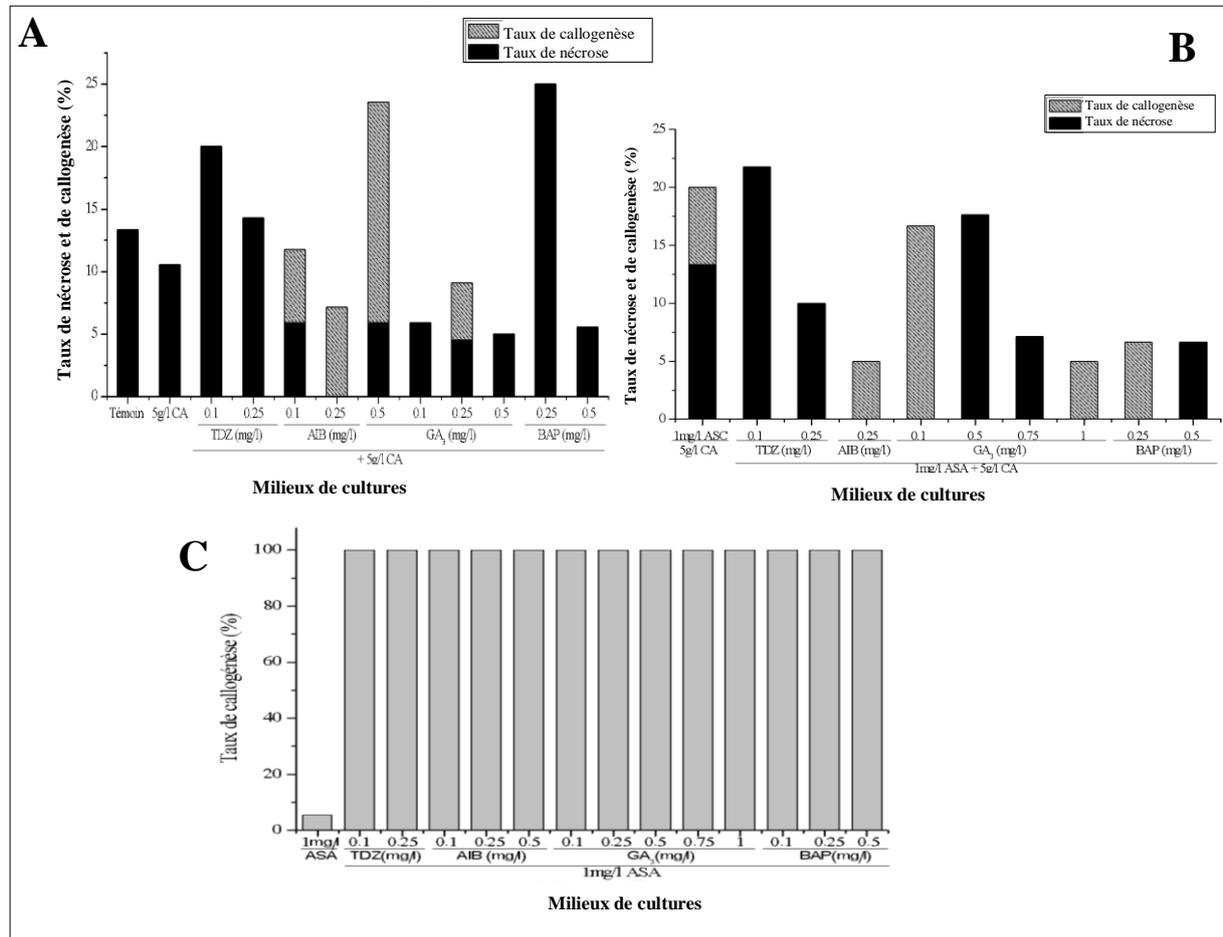


Figure 23 : Taux de callogenèse et nécroses des vitroplants de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*. cultivés sur milieu DCR.

4.4. Acclimatation des vitroplants de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*:

Les vitroplants âgés de trois mois sont acclimatés dans des pots contenant un substrat stérile (un mélange de tourbe terreau et sable de rivière), ses derniers sont maintenus pendant trois semaines mais dès que nous commençons à ouvrir la boîte, nous remarquons le début de jaunissement des feuilles baselles puis la mort de tous les vitroplants. Les basses températures utilisées ont permis d'éviter les attaques de champignon que nous avons l'habitude de rencontrer, mais il faut signaler aussi que nous avons un manque de lumière à l'intérieur du phytotron.

Chapitre IV : Discussion

I. Analyse génétique et géographique :

1. Différenciations phylogéographiques d'Afrique du Nord concernant le *Juniperus thurifera* subsp. *africana* :

La différenciation génétique entre les populations européennes et africaines de *Juniperus thurifera* est rapportée dans cette étude (3,6 %). Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par Teixeira et al. (2014), mais beaucoup plus faible que ceux révélés par Terrab et al. (2008b), (21,44 %). Cette différence reflète probablement les différents types de marqueurs utilisés dans cette dernière étude, en particulier la nature dominante des marqueurs AFLP. Cependant, une différence plus élevée (4,5 %) est observée dans notre étude entre les quatre groupes génétiques détectés, ce qui indique une tendance de différenciation géographiquement significative chez *Juniperus thurifera*. L'influence de la situation géographique est soutenue par l'analyse d'isolement à distance (IBD). Ce résultat a certainement un effet sur la structure spatiale de la répartition naturelle de l'espèce étant divisée en plusieurs domaines isolés dans le complexe paysage montagneux qui limite actuellement le flux des gènes et probablement freiné dans le passé.

Le résultat le plus frappant de cette étude est le caractère génétique distinctif récurrent des populations algériennes du genévrier thurifère par rapport à celui du Maroc comme il a été révélé par les différentes analyses utilisées dans cette étude. Les comparaisons par paires F_{ST} ont confirmé ce caractère génétique distinct des populations algériennes en référence aux populations marocaines et espagnoles, ces deux dernières sont liées les unes aux autres. Par conséquent, nos résultats sont cohérents avec d'autres études de diversification intra-espèce observée entre les espèces végétales de la Méditerranée occidentale qui indiquent une structure génétique spatiale partagée (Terrab et al., 2008b; Burban et Petit, 2003; Lepais et al., 2013). La question est de savoir si la structure génétique de *Juniperus thurifera* subsp. *africana* illustre le modèle de vicariance ou reflète les voies de migration Est-Ouest d'Afrique du Nord, mais malheureusement, cette question reste sans réponse. En d'autres termes, est-ce que la divergence Maroco-Algérienne est un phénomène primaire ou secondaire dans l'histoire de l'évolution de *Juniperus thurifera* en Afrique ?

Selon Jimenez et al. (2003), la colonisation de l'Afrique par l'ancêtre de *Juniperus thurifera* moderne aurait eu lieu via la région du Péninsule Ibérique par le détroit de Gibraltar. Toutefois, cette conclusion se fondait uniquement sur des enquêtes des populations espagnoles et Marocaines. Le temps de diversification pour *Juniperus thurifera* estimé par Mao et al. (2010), était dans la période Oligocène/miocène (31,7 à 16,4 Ma), qui correspond

aux réarrangements géologiques, ce dernier a laissé des signaux détectables dans la structure génétique de certaines espèces par exemple *Quercus suber* (Magri et al., 2007); les dernières estimations datent du Miocène/Pliocène (5,9 à 3,7 Ma), qui sont également reconnus comme une période de forte diversification en Méditerranée provoquée par le changement climatique (Sękiewicz et al., 2018). Selon la reconstruction géologique (Popov et al., 2004), dans ces deux périodes, en particulier dans le Miocène la colonisation du continent africain à partir des directions de l'Ouest et de l'Est était possible.

Le plus grand nombre d'allèles privés que nous avons enregistrés était parmi les populations Espagnoles, ce qui confirme leur persistance à long terme et donc probablement la nature ancestrale du pool génétique européenne en référence à celui de l'Afrique.

Contrairement à nos résultats, dans l'étude de Terrab et al. (2008b), des relations génétiques plus étroites se trouveraient entre les populations algériennes étudiées et les populations européennes, en particulier les populations Ibériques. Les deux populations algériennes étudiées, sont séparées clairement des populations des autres régions, cependant elles ont montré un mélange très limité avec les pools de gènes des populations espagnoles et marocaines. Ce chevauchement génétique pourrait être interprété comme une preuve d'une origine commune (Jiménez et al., 2003) ou d'un flux génétique antique. Selon Terrab et al. (2008b), la dispersion à longue distance est le facteur déterminant de la ressemblance génétique des populations algériennes et européennes.

L'inspection d'un herbier d'Algérie suggère une grande similitude morphologique entre les populations algériennes et les populations européennes (Vela et Schäfer, 2013). Il est à noter que cette probabilité nécessite une analyse morphométrique plus complète, y compris plus de populations et d'individus de la gamme algérienne. Cependant, l'influence du pool génétique européen sur les populations algériennes doit être prise en compte. En fait, les relations génétiques entre l'Afrique du Nord et l'Europe ont été démontrées précédemment pour *Pinus pinaster* (Burban et Petit, 2003), *Laurus nobilis* (Marzouki et al., 2009), *Carex panormitana* (Benítez-Benítez et al., 2018) et *Juniperus phoenicea* (Sánchez-Gómez et al., 2018), ce qui suggère l'histoire de l'évolution complexe des espèces végétales dans la partie occidentale de la Méditerranée. S'ajoute aussi l'affinité génétique des populations algériennes et tunisiennes de *Alnus glutinosa* au pied écossais unique et non aux populations marocaines (Lepais et al., 2013). En termes de cette proximité génétique inattendue, les auteurs ont conclu que la colonisation de l'ouest et l'est de l'Afrique du Nord par les populations ancestrales d'*Alnus glutinosa* est indépendante. En conséquence, les populations algériennes et tunisiennes sont des colonisateurs plus récents, alors que les populations marocaines sont

définies comme reliques. Le scénario de diversification proposé pour les sapins de l'Afrique du Nord implique également deux voies de colonisation temporellement et spatialement indépendantes de l'Europe à l'Afrique du Nord (Sánchez-Robles et al., 2014). Le premier est adapté pour l'ancêtre de *Abies pinsapo* et *Abies maroccana*, qui a probablement fuit de la Péninsule Ibérique cela est peut être lié à l'évolution de la ceinture orogénique Bétique-Rif depuis le Miocène (Rosenbaum et al., 2002) ; et le second datant du Pliocène-Pleistocène qui implique une colonisation de la Péninsule italienne, cette voie est utilisée pour expliquer l'évolution de *Abies numidica* (Sánchez-Robles et al., 2014).

En fin de compte, le problème des routes de colonisation et de leurs aspects temporels dans l'histoire de l'évolution de *Juniperus thurifera* subsp. *africana* reste non résolu dans cette étude car sa résolution nécessiterait la datation moléculaire et un meilleur échantillonnage des populations algériennes. Cependant, il y a encore suffisamment de preuves pour considérer la colonisation bidirectionnelle de l'Afrique du Nord, ce qui est un argument convaincant expliquant la différenciation génétique Ouest-Est de *Juniperus thurifera* subsp. *africana* et d'autres espèces végétales.

2. Pléistocène/Holocène changements dans les gammes d'espèces: divergence possible, guidé par l'adaptation ?

L'impact des glaciations du Pléistocène, en particulier la dernière période glaciaire, sur les modèles génétiques en Afrique du Nord est beaucoup moins reconnu que sur la partie européenne de la Méditerranée, mais elle est évoquée comme facteur induisant des motifs d'endémisme et de différenciation (Cheddadi et al., 2009; Dering et al., 2014; Sękiewicz et al., 2018). La modélisation de la niche écologique de notre espèce a révélé des résultats intéressants, mais très déconcertants. De manière surprenante, les projections faites pour les périodes couvrant le temps de l'Eémien (environ 120 ka BP) à l'heure actuelle indiquent clairement que la présence théorique la plus large de *Juniperus thurifera* est sous les conditions climatiques courantes.

Pendant ce temps, il est communément admis que l'augmentation des températures pendant la période de l'Holocène est le facteur responsable de la réduction et la fragmentation des populations de nombreuses espèces de *Juniperus* qui se développe dans la Méditerranée et les conditions environnementales pendant la période glaciaire a favorisé l'expansion de l'aire de répartition (Jiménez et al., 2003; Teixeira et al., 2014; Walas et al., 2019). Un autre résultat inattendu de nos projections concerne la distribution mutuelle exclusive obtenue lors

de l'utilisation des ensembles de données d'Afrique seule ou uniquement européenne sur les emplacements du thurifère qui peuvent indiquer la divergence adaptative basée sur le climat.

Les conditions climatiques durant la dernière période glaciaire a conduit à la formation des glaciers dans les montagnes de l'Afrique du Nord, en particulier dans le Haut Atlas (Hughes et *al.*, 2011), alors que la diminution des précipitations n'a pas créé des conditions propices à la formation des glaciers étendues dans les montagnes de l'Aurès (Hughes et *al.*, 2006). En raison de l'insuffisance de l'accumulation de neige, des températures annuelles relativement élevées et des faibles précipitations aux points les plus élevés, les glaciers sont actuellement absents dans les montagnes de l'Atlas (Hannah et *al.*, 2017). En conséquence, pour la formation des glaciers dans le Haut Atlas au cours de la dernière période glaciaire, il aurait fallu soit : 1) une diminution significative des températures annuelles (par environ 7-8°C) et le niveau actuel de précipitation ou 2) plus de précipitations que celle observée actuellement et une petite diminution de la température moyenne annuelle (Hannah et *al.*, 2017).

Le *Juniperus thurifera* subsp. *africana* préfère les habitats chauds et secs et présente un fort continentalisme et il est limité par l'influence du climat atlantique (Romo diez et Boratyński, 2005). Donc indépendamment de la reconstruction climatique qui soutient les formations des glaciers dans le Haut Atlas, les conditions d'apparition de *Juniperus thurifera* subsp. *africana* étaient inadéquates en Afrique du Nord. Par conséquent, MaxEnt n'a pas identifié les conditions climatiques appropriées pour la persistance de ce taxon au cours du dernier maximum glaciaire (LGM) en Afrique en utilisant uniquement les données de cette dernière extraites des deux ensembles de données climatiques. Cependant, l'analyse conjointe des peuplements européens et africains réalisée sur la base des données WorldClim a indiqué que la persistance du genévrier thurifère est limitée dans la Péninsule Ibérique et les Alpes de l'Ouest accompagnées par une très faible aptitude (environ 5%).

Lorsque nous utilisons uniquement les données européennes en plus des montagnes Ibériques et des Alpes, les conditions optimales pour l'espèce apparaissent également dans le Haut Atlas et les montagnes des Aurès qui pourraient servir comme refuge. D'autres régions, comme les Pyrénées et la Corse sont également indiquées comme refuge appropriés pour *Juniperus thurifera*. À l'heure actuelle, cette espèce se localise dans les zones où les précipitations annuelles totales sont au moins de 200 mm et la température annuelle moyenne de 8-10°C (González et *al.*, 2016). Les estimations précédentes de la distribution potentielle de plusieurs espèces d'arbres méditerranéens de la Péninsule Ibérique a montré que dans le

dernier maximum glaciaire (LGM) la gamme de *Juniperus thurifera* était très limitée et apparée à celui que nous avons modélisé dans notre travail (Garzón et al., 2007).

Il semble que les conditions climatiques pour *Juniperus thurifera* au cours de la dernière période glaciaire étaient moins bien que les conditions actuelles, et sa distribution s'est élargie dans l'époque de l'Holocène (Rosenbaum et al., 2002). Les facteurs affectant l'occurrence d'espèces en Europe pendant le dernier maximum glaciaire (LGM) sont rattachés à la température. Les facteurs les plus significatifs pour l'occurrence du genévrier thurifère sont la BIO6 (la température minimale du mois le plus froid; 24,8 %) et la BIO11 (la température du trimestre le plus froid; 18,2 %). Les populations actuelles de la sous-espèce africaine adaptée aux climats secs et chauds ne pouvaient pas être présentes pendant le dernier maximum glaciaire (LGM) probablement à cause des températures trop basses. Le facteur climatique le plus important affectant la distribution de *Juniperus thurifera* subsp. *africana* est la variable BIO11 (31,2 %). Cependant, la variable BIO18 (précipitations du trimestre le plus chaud) est classée dans la deuxième position (25,0 %), ce qui suggère que le climat était aussi trop aride pendant le dernier maximum glaciaire (LGM) pour les taxons africains actuels. Selon Cheddadi et al. (2009), les températures annuelles moyennes en Afrique du Nord pendant la période glaciaire pourraient être 15 °C plus basses qu'aujourd'hui et la précipitation annuelle moyenne n'excédait pas les 300 mm. Cette conclusion contredit les hypothèses antérieures faites par certains auteurs qui suggèrent que la dernière période froide a favorisé une plus large occurrence de *Juniperus thurifera* (Terrab et al., 2008b; Jiménez et al., 2003). En outre, il existe une similitude convaincante entre la distribution dans l'époque de l'Eémien (environ 120-140 ka BP) et la distribution théorique dans la période glaciaire ce qui suggère la poursuite de l'occurrence des populations du genévrier thurifère dans le système central de Péninsule, des Alpes de l'Ouest, du Haut Atlas et les Aurès.

Compte tenu des intervalles mutuellement exclusives projetées avec seulement des populations européennes ou seulement africaines, nous avons émis l'hypothèse que l'adaptation induite par le climat est l'un des facteurs possibles de la différenciation génétique Ibéro-africaine de *Juniperus thurifera*. Le modèle MaxEnt suggère que les lignées européennes et africaines actuelles sont caractérisées par des exigences climatiques différentes.

Les variables climatiques les plus importantes sont différentes, et il semble que la lignée africaine a évolué vers une meilleure résistance à la sécheresse car elle s'est adaptée à un climat continental sec et une faible températures en hiver (Romo diez et Boratyński, 2005). D'autre part, l'absence des conditions climatiques favorables à la lignée africaine actuelle

depuis au moins le dernier interglaciaire suggère son évolution plus récente. En fait, pour certaines espèces, les cycles glaciaires du Quaternaire se sont avérés être des moteurs importants de divergence génétique à base d'adaptation (Mayol et *al.*, 2015; Ma et *al.*, 2019). Pour *Juniperus thurifera*, le facteur crucial est probablement le changement climatique en Afrique du Nord tout au long de l'Holocène. La reconstruction des changements de végétation dans le Moyen Atlas basé sur le lac Sidi Ali, situé à 2080 m d'altitude, a révélé la première occurrence des *Cupressaceae* (et donc *Juniperus*) au début de l'Holocène et son expansion au milieu de l'Holocène (Campbell et *al.*, 2017), qui était plus frais que le début de l'Holocène. Cependant, la tendance générale d'aridification en Afrique du Nord a duré tout au long de l'époque de l'Holocène, et *Juniperus* se retira au détriment de *Cedrus* seulement dans la période la plus humide (Campbell et *al.*, 2017). Notre hypothèse de différenciation en climat entre les lignées européennes et africaines est également soutenue au niveau morphologique (Boratyński et *al.*, 2013). Toutefois, cette question nécessite des investigations plus profondes impliquant la recherche des signaux génomiques d'adaptation (Ma et *al.*, 2019).

II. Régénération *ex situ* de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*:

Nous nous sommes focalisés dans l'étude de la morphologie des galbules et des graines du genévrier thurifère sur les peuplements de la région des Aurès pour déduire l'existence d'une éventuelle différenciation morphologique. L'analyse a montré une similitude dans la morphologie des galbules et des graines du thurifère algérien. Il est important de mentionner que le nombre de graines par galbule dans les populations algériennes varie de 1 à 4, et il varie de 1 à 6 dans les populations européennes par contre dans les populations marocaines le nombre varie de 1 à 3 graines par galbule (Romo et Boratyński, 2007; Vela et Schäfer, 2013). Selon Badri (2003), le nombre de graines par galbule est plus élevé dans les populations algériennes que dans les populations marocaines, et de même pour les dimensions des galbules et des graines qui sont plus élevées chez les populations algériennes ; ce qui est confirmé par la présente étude.

L'observation des galbules qui provient des six peuplements des Aurès a révélé un taux de parasitisme élevé, les attaques des ravageurs réduisent de manière significative le stock des graines susceptibles de germer et donnent naissance à de nouvelles plantules, cela concorde avec les résultats de plusieurs auteurs Guido et Roques (1996); García (1998); El Alaoui El Fels et *al.* (2013); Morsli et *al.* (2015).

Le parasitisme des cônes est influencé par plusieurs facteurs environnementaux tel que l'eau, la lumière et la température ; une étude sur le parasitisme des populations de *Juniperus*

ostéosperma a démontré une corrélation entre le taux de parasitisme des graines et les niveaux élevés de phosphore et de magnésium dans le sol (Bunderson et 1984; Allphin et al., 2007). De plus, les populations moins denses peuvent être plus attaquées par les insectes, puisque les cônes sont facilement accessibles (Allphin et al., 2007).

La décortication des téguments des graines a révélé un pourcentage des graines susceptibles de germer variable entre 1% et 48,1% en fonction des provenances, García (2001), a trouvé un pourcentage des graines viables de *Juniperus communis* entre 3,5 à 5,5 %, et un taux de $9,5 \pm 8,8$ % de graines viables de *Juniperus thurifera* (Montesinos et al., 2010). Le nombre d'endosperme blanchâtre dans les graines provenant de la thuriferaie de Tafrent et de Chélia (10 et 1 % respectivement) est différent de celui obtenu par Morsli et al. (2015), qui ont trouvé un pourcentage de 24 % et 32 % respectivement pour les deux thuriferaies, ceci montre que le taux de viabilités des graines varie d'une année à une autre. Cette différence peut être due au manque de pollinisation comme chez la majorité des Conifères, à la faible viabilité du pollen et aussi à l'avortement des graines juste après la pollinisation (Ortiz et al., 1998; Gruwez et al., 2013), les espèces dioïques du genre *Juniperus* présentent un grand pourcentage d'avortement des graines due à l'échec de la pollinisation (Gruwez et al., 2013; Rodríguez García et al., 2017). La disponibilité du pollen peut être diminuée à cause des gelées tardives et aussi au lessivage des graines de pollen due aux précipitations qui coïncident avec la période de pollinisation (Garcia et al., 2000; Gruwez et al., 2013). Les graines non viables affectent la qualité des graines et par conséquent la capacité germinative des populations. Pour cela il est très important de séparer les graines viables des non viables ou vides (Stoehr et El-Kassaby, 2011).

1. Les prétraitements sont-ils efficace à la germination des endospermes de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*?

La germination des graines est vitale pour la préservation à long terme du matériel génétique et le maintien de la diversité génétique pour la conservation des espèces végétales menacées, qui est devenue une préoccupation mondiale au cours des dernières décennies (Cousins et al., 2014; Hilooğlu et al., 2018). Le modèle de germination non uniforme est dû à la variation génétique dans les paramètres de germination et la dormance ajoute un niveau de complexité supplémentaire (Stoehr et El-Kassaby, 2011), les facteurs climatiques et les facteurs anthropiques (le feu et le pâturage) affectent la germination des graines (Mewded et al., 2019). Le faible pourcentage de germination des graines de *Juniperus thurifera* est due à leur dormance (Ferradous et al., 2013), lorsque celle-ci est complexe, les graines ont besoin

des prétraitements très spécifiques pour stimuler et améliorer la germination sans endommager l'embryon et l'endosperme (Dayamba, 2016; Mewded et al., 2019).

Une connaissance insuffisante de l'écologie de la germination est la principale contrainte pour la conservation et la gestion des espèces indigènes (Dayamba, 2016), ce qui rend l'expérimentation un facteur important pour choisir les traitements qui améliorent la germination (Zhou et Bao, 2011; Hilooğlu et al., 2018). La dormance physique des graines est souvent due aux téguments durs qui empêchent la germination (Mng'omba et al., 2007; Youssef et al., 2012), son élimination exclue la résistance mécanique (Bian et al., 2018; Guo et al., 2018). La scarification mécanique des graines du genévrier thurifère et la mise en culture des endospermes blanchâtres dans du coton humide à la température ambiante a donné un taux de germination faible qui est de 2,50 % par rapport aux graines scarifiées de *Cupressus atlantica* (96,7 %) (Sfairi et al., 2012). La scarification mécanique est la meilleure méthode pour l'élimination des téguments durs des graines que le trempage dans de l'acide sulfurique qui n'avait pas amélioré la germination des graines de *Cupressus atlantica* (10 %), mais il avait provoqué la mortalité des graines qui sont dues probablement au contact de l'acide avec les embryons (Sfairi et al., 2012; Youssef et al., 2012).

La scarification des graines du genévrier thurifère n'a pas totalement résolu le problème de germination, le tégument est l'un des facteurs qui empêchent la germination mais probablement il est associé à d'autres facteurs. Pour cela, la stratification froide et humide est recommandée pour lever la dormance (Ahani et al., 2013; McCartan et Gosling, 2013; Lemessa et al., 2017). Pour réussir la stratification à froid, il est préférable de la réaliser sur un substrat humide qui convient à des basses températures, où l'aération est appropriée, et les graines sont laissées dans ces conditions le temps qu'il faudra (Tanaka, 1984; Stoehr et El-Kassaby, 2011), la durée du traitement froid et humide nécessaire pour la levée de dormance des graines varie en fonction des espèces (Al-Ramamneh et al., 2012).

Dans la présente étude, la stratification des endospermes blanchâtres à 4 °C et aussi l'immersion des endospermes blanchâtres dans l'eau pendant 24 h ou 48 h puis stratifiés à 4°C sont effectuées. Selon Stoehr et El-Kassaby (2011), la dormance des graines des Conifères est une méthode adaptative pour pouvoir survivre en hiver. Ceci est lié au fait de s'assurer qu'une graine ne germe pas sauf si une période prolongée des conditions de croissance favorables soit remplie. La stratification des endospermes blanchâtres à 4°C améliore la germination ($57,50 \pm 7,07$ %), nos résultats concordent avec ceux obtenus par Tigabu et al. (2007), concernant les graines de *Juniperus procera* provenant de Hirna, où l'effet du froid pour la levée de dormance varie d'une provenance à une autre, ce qui indique

qu'il y a une grande composante génétique et environnementale. Notre travail confirme la suggestion de Ahani et *al.*, (2013), de mettre les graines de *Juniperus excelsa* dans des basses températures et de fissurer les téguments des graines pour la levée de dormance. La stratification froide et humide est efficace pour la levée de dormance des endospermes blanchâtres du genévrier thurifère ce qui rejoint les résultats de Fišer Pečnikar et *al.* (2018), qui ont obtenu 70 % et 90 % de germination des graines de *Cerastium dinaricum* après 4 et 8 semaines de stratification.

L'immersion des endospermes blanchâtres dans l'eau pendant 24 et 48 heures puis leurs stratifications à 4°C a donné des taux de germination de $58,75 \pm 37,12$ % et $52,50 \pm 10,61$ % respectivement. Selon Prins et Maghembe (1994), l'immersion des graines de *Strychnos spinosa* et *Uapaca kirkiana* dans l'eau pendant 12 heures a donné un taux de germination de 80 et 93 % respectivement et aussi les graines de *Ximenia caffra* immergées dans l'eau pendant 24 h ont abouti à 90 % de germination (Mng'omba et *al.*, 2007). L'immersion des graines de *Manglietiastrum sinicum* dans l'eau distillé pendant 24 h puis leur incubation à 4 °C pendant 3 semaines ont brisé efficacement la dormance des graines (56 %), en comparaison avec les graines imbibées dans l'eau et incubées à 25 °C (Zheng et Sun, 2009). En revanche, les graines de *Juniperus cedrus* n'ont pas germé même après une imbibition de 48 h dans l'eau courante puis stratification (Harry et *al.*, 1995). Nos résultats sont meilleurs que ceux obtenus par plusieurs auteurs tels que : Guo et *al.* (2018), qui ont abouti à 40 % de germination des graines de *Pinus bungeana* ; et les grains de *Garuga pinnata* et *Vitex glabrata* qui ont donné des taux de germination de 50 % et 60 % respectivement (Hossain et *al.*, 2018).

Nous concluons que l'enveloppe dure et épaisse des graines de *Juniperus thurifera* semble présenter une barrière mécanique à l'élongation de la racine, son élimination suivie d'une imbibition des endospermes déclenchant le processus de germination par une variété d'activités catalytiques et anabolisantes qui diminue les pro-teolysis et l'amidon (Mumford, 1990; Mng'omba et *al.*, 2007). La température optimale pendant la stratification est un autre facteur important qui détermine la levée de la dormance, elle se situe généralement autour de 5°C (Bewley et Black, 1994; Tigabu et *al.*, 2007). Par contre, l'application des températures très basses (-12°C) est défavorable à la germination des endospermes blanchâtres, comme le montre le traitement 'L' ($2,50 \pm 3,54$ %), la stratification à -20°C des graines de *Verbascum calycosum* donne 18,25 ($\pm 1,4$)% de germination (Hilooğlu et *al.*, 2018). Beaucoup de graines ont besoin d'une période de refroidissement après imbibition pour briser la dormance, le retrait du tégument supprime ou réduit l'exigence au froid (Mumford, 1990), du fait de

l'élimination du tégument des graines de genévrier thurifère et les basses températures (-12°C) appliquées ne sont pas convenables.

Les phytohormones jouent un rôle clé en tant que molécules de signalisation pour la communication entre l'embryon et l'endosperme, ils agissent aussi comme des signaux importants influençant les processus du développement des semences telles que la maturation, la dormance et la germination (Bian et *al.*, 2018); en particulier la GA₃ qui améliorerait le pourcentage de germination (Fišer Pečnikar et *al.*, 2018). Pour éliminer les inhibiteurs de germination, les endospermes blanchâtres sont imbibés dans l'eau distillée (24/48 heures) puis dans la GA₃ (24/48 h). Le taux de germination le plus élevé obtenu est de 60,00±28,28 % dans le traitement 'E' où les endospermes blanchâtres sont immergés dans l'eau distillée froide pendant 24 h suivie d'une immersion dans la GA₃ durant 24 h (stratifiés à 4 °C). L'élimination des téguments des graines a exclu la première barrière de germination qui empêche la lixiviation des inhibiteurs de germination suivie d'une immersion dans l'eau qui a favorisé l'élimination des inhibiteurs de l'endosperme, puis en dernier l'immersion dans la GA₃ a pu améliorer les signaux entre l'embryon et l'endosperme, et a favorisé la germination toute en ajoutant l'effet du froid nécessaire pour la levée de la dormance embryonnaire, donc toutes les conditions qui favorisent la germination sont réunies. Cependant, le comportement de la germination varie en raison de la variation génétique des niveaux de dormance (Stoehr et El-Kassaby, 2011). L'immersion des graines de *Cerastium dinaricum* dans la GA₃ puis stratifié à 10 °C a donné un pourcentage de germination de 60 % (Fišer Pečnikar et *al.*, 2018), par contre l'immersion des graines de *Verbascum calycosum* dans 200 µM de GA₃ a donné 54,5 (±2,9) % (Hilooğlu et *al.*, 2018). D'un autre côté le traitement de graines de *Cupressus atlantica* avec différentes concentrations de GA₃ pendant 48 h a achevé un taux de germination d'environ 85 % (Sfairi et *al.*, 2012). Les niveaux de régulateurs de croissance endogènes dans les plantes telles que le GA₃ sont censés jouer un rôle primordial dans la levée de dormance et un déficit de GA₃ endogène peut être récupéré avec l'application de la GA₃ exogène (Hilhorst et Karssen, 1992; Yücel et Yilmaz, 2009; Zheng et Sun, 2009; Necajeva et Ievinsh, 2013; Hilooğlu et *al.*, 2018).

Pour une étude plus complète des conditions favorables de la germination des graines du *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*, l'effet du chaud-froid est testé, les endospermes blanchâtres sont immergés dans de l'eau chaude (30 °C) pendant 10 minutes puis stratifiés à 4 °C, ils ont donné un taux de germination de 10,00±14,14 %, nos résultats sont meilleurs que ceux obtenus par Mewded et *al.* (2019), qui n'ont pas pu accomplir la germination après l'immersion des graines de *Terminalia laxiflora* dans l'eau chaude. L'eau chaude n'a pas eu

d'effet positif sur la germination des graines de *Verbascum calycosum* (1,25 (\pm 0,3) %) (Hilooğlu et al., 2018). Le traitement avec de l'eau chaude (60°C pendant 15 min) des graines de *Cupressus atlantica* a donné un taux de germination qui a atteint environ 85 % (Sfairi et al., 2012), et l'immersion des graines de *Juniperus procera* dans l'eau chaude (70 °C) pendant une durée qui varie entre 1 et 7 min a donné des taux de germination de 29,5 \pm 6 et 66 \pm 10,7 % (Lemessa et al., 2017).

Le deuxième traitement de l'effet du chaud/froid est réalisé avec immersion des endospermes dans l'eau chaude puis dans l'eau froide (4 °C) (stratifiée à 4 °C), à aboutie 21,25 \pm 30,05 % de germination, un taux meilleur que le traitement précédent est ça nous confirme que l'eau froide à un effet favorable sur la germination. La stratification des graines profondément dormantes comme les graines du genre *Juniperus* nécessite souvent une alternance des périodes chaudes et froides, des températures élevées permettent aux inhibiteurs de sortir de la graine par contre le froid casse la dormance (Mccartan et Gosling, 2013; Guo et al., 2018). Les températures élevées de l'eau (30°C) favorisent le développement des bactéries, cela a conduit à la pourriture rapide des endospermes, dans le traitement 'H' le développement des bactéries est très visible par rapport au traitement 'I'. Le trempage dans de l'eau chaude améliore la germination des espèces à tégument dure en augmentant la perméabilité à l'eau et à l'oxygène du testa (Aydin et Uzun, 2001; Mewded et al., 2019), l'inaptitude de ce traitement dans notre essai est probablement due à l'absence des téguments qui ont conduits à l'endommagement des endospermes et des embryons.

Comme dernière étape des prétraitements, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂, 1 %) est utilisé car, il supprime le blocage de l'acide abscissique et retarde la sécrétion des inhibitions de la germination (Çavusoglu et Kabar, 2010; Lemessa et al., 2017). L'immersion des endospermes blanchâtres de *Juniperus thurifera* dans 100 ml de H₂O₂ (1 %) pendant 12h a donné un taux de germination de 13,75 \pm 19,45 %. Selon Ghildiyal et Sharma (2005), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ 1%) a un effet favorable sur la germination des graines de *Pinus wallichiana* et *Pinus roxburghii* avec un taux de 54,66% et 93,33% respectivement. En revanche, les graines de *Juniperus procera* incubées dans 100 ml du peroxyde d'oxygène (H₂O₂, 1%) pendant une nuit ont achevé un taux de germination qui est de 21,5 \pm 5,7% (Lemessa et al., 2017).

La germination des graines peut être fortement influencée par des facteurs maternels, tels que la position de la graine dans le fruit/arbre, l'âge de la plante mère pendant la maturation de la graine, ainsi que par des facteurs environnementaux tels que la durée de la journée, la température, la qualité de la lumière, la disponibilité de l'eau et l'altitude (Gutterman, 2000;

Tigabu et *al.*, 2007) cela explique la variabilité des taux de germination dans notre expérimentation.

La période de stratification nécessaire pour la libération des graines du repos végétatif dépend en grande partie de l'ampleur de la dormance (Baskin et Baskin, 1998) et varie selon les populations de différentes altitudes (Milberg et Andersson, 1998; Cavieres et Arroyo, 2000). Plus les graines proviennent des altitudes élevées plus la durée de la période de stratification nécessaire à la germination augmente (Tigabu et *al.*, 2007). Par exemple, les graines de *Juniperus procera* de haute altitude nécessitent une période de 6 semaines à 5 °C pour améliorer la germination (Tigabu et *al.*, 2007). Dans notre étude, il n'y a pas eu de différence significative entre les temps moyens de germination, les temps sont plus ou moins courts en raison de l'élimination des inhibiteurs chimiques (Mccartan et Gosling, 2013) et les téguments durs des graines. L'élimination des téguments durs des graines du genévrier thurifère a fait que le TMG soit de $25,75 \pm 36,42$ jours, cela concorde avec ceux trouvés pour les graines scarifiées de *Cupressus atlantica* qui est de 29 jours (Sfairi et *al.*, 2012).

Les grains de *Garuga pinnata* et *Vitex glabrata* imbibées dans l'eau pendant 24 h ont germées pendant un temps moyen de germination de 13 et 15 jours respectivement (Hossain et *al.*, 2018), contrairement à notre essai où le temps moyen de germination est de $31,75 \pm 21,90$ jours et $22,93 \pm 10,86$ jours pour une imbibition des endospermes blanchâtres pendant 24 h et 48 h respectivement. Le H₂O₂ a permis la réduction de la période de germination de *Pinus wallichiana* et *Pinus roxburghii* de 8 jours et 10 jours respectivement (Ghildiyal et Sharma, 2005) ce qui est proche du notre.

Les plantules du genévrier thurifère à jeune âge ressemblent à celles du genévrier oxycèdre ou commun, nos observations sont confirmées par Badri (2003), qui a mentionné que les feuilles ne sont pas sous forme d'écailles mais de petites feuilles en alènes.

2. Culture d'embryon isolé de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* :

La culture d'embryon isolée est utilisée pour surmonter la double dormance des graines de *Juniperus thurifera*, cette technique permet d'accélérer le processus de germination et la production rapide des plantules (Zarek, 2007; George et *al.*, 2008).

Le choix du milieu de culture est arbitraire dans la culture *in vitro*, la croissance et la survie des embryons sont considérablement affectées par la composition minérale du milieu. Dans le milieu DCR témoin le taux de germination est de 78,94 %, il est proche de celui trouvé par Morsli et *al.* (2015). Nos résultats sont distincts de ceux de Neri-Soto et *al.* (2015), qui ont obtenu un pourcentage qui ne dépasse pas les 29,75% dans les différents milieux de

culture utilisés pour les embryons de *Picea chihuahuana*, mais se concorde avec de Feyissa et Derso (2015), qui ont trouvé 100 % de germination dans les graines de *Cordeauxia edulis* après immersion dans l'eau et scarification des graines, ce qui confirme que la scarification puis le trempage des endospermes blanchâtres du genévrier thurifère dans l'eau distillé ont joué un rôle dans la germination, nos résultats se concordent aussi avec les résultats de Hosseini Tafreshi et al. (2011) et Zarek (2007), sur les embryons de *Taxus baccata* (100 % et 60 % respectivement). L'agar dans le milieu de culture a un effet antioxydant ce qui lui permet d'adsorber les polyphénols (Bonga et Von Aderkas, 1992) et améliorer les taux de germinations des embryons de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*.

Le taux de germination dans les milieux où le charbon actif est utilisé comme antioxydant est de 100 %, contrairement aux résultats de Nasr et al. (2007), qui ont trouvés 20 % de germination pour la culture d'embryon isolées de *Taxus baccata*. L'utilisation avantageuse du charbon actif est d'absorber les polyphénols qui empêcheraient la croissance et favorise la formation des racines.

Les cytokinines semblent être nécessaires à la division cellulaire des plantes, des fortes concentrations de cytokinines (0,5-10 mg/l) inhibent ou retardent généralement la formation des racines et empêchent également la croissance des racines (George et al., 2008). Dans la présente expérimentation deux cytokinines sont utilisés (TDZ et BAP) à différentes concentrations. Lorsque le TDZ est combiné avec le charbon actif le taux de germination n'a pas diminué sous 58,82 %, et il augmente pour atteindre 82,35 %. Le TDZ est un régulateur de croissance synthétique couramment utilisés dans la culture *in vitro*, son application induit un large éventail de réponses de culture dans les tissus végétaux, l'activité du TDZ varie considérablement en fonction de sa concentration, du temps d'exposition, de l'explant cultivé et du type d'espèce (Mehta et al., 2004; Dhiman et al., 2018). Les niveaux endogènes d'auxines et des cytokinines varient d'une plante à l'autre et d'un tissu à l'autre (Bhojwani et Dantu, 2013; Sang et al., 2016). En fonction des taux endogènes des phytohormones dans une cellule ou un tissu, le TDZ se comporte comme une auxine ou une cytokinin (Guo et al., 2018).

Les différentes concentrations de la BAP ajoutées au milieu de culture avec le charbon actif ont affichés des taux de germination satisfaisante où le taux le plus faible est de 80 %. Nos résultats ne concordent pas avec les résultats d'Ahmad et al. (2018), qui ont trouvé 60 % de germination lors d'utilisation de 1 mg/l de BAP pour les graines de *Meconopsis aculeata* et le pourcentage diminue à 45% lors d'utilisation de 2 mg/l de BAP. Sayanika Devi et al.

(2012), ont trouvé pour les graines de *Dendrocalamus giganteus* des taux de germination qui varient entre 55 % et 65 % à des concentrations entre 0,1 mg/l et 3 mg/l de BAP.

L'auxine utilisée durant cette expérience est l'AIB, une hormone qui est thermolabile et se décompose pendant l'autoclavage (George et al., 2008). Les auxines contrôlent les processus de base tels que la division cellulaire et l'élongation cellulaire (George et al., 2008). La concentration la plus élevée de cette hormone (0,5 mg/l) est la plus efficace sur la germination avec un taux de germination qui est de 100 %. Les faibles taux de germination enregistrés pour les deux concentrations d'AIB (0,1 et 0,25 mg/l) peuvent être dus au fait que le charbon actif élimine les régulateurs de croissance, en particulier l'auxine (George et al., 2008). Nos résultats sont meilleurs que ceux obtenus par Ghorpade et al. (2010), qui ont mentionné que l'utilisation d'auxines dans un milieu entraînait une réduction du pourcentage de germination des embryons zygotiques de *Boswellia serrata Roxb.*

Pour les milieux avec charbon actif et acide gibbérellique on a abouti à 100 % de germination quel que soit la concentration du GA₃ utilisée. Le traitement des graines de *Taxus baccata fastigiata* par l'acide gibbérellique a stimulé la germination même à faible concentration (100 µg/l) (80 %), un pourcentage homologue est obtenu pour une concentration de 1mg/l de GA₃ (Le Page-Degivey, 1973). Pour les graines de *Dendrocalamus giganteus* le 0,5 mg/l de GA₃ a donné un taux de germination de 85 % (Sayanika Devi et al., 2012). Une récente étude de Khater (2018), pour induire des germinations *in vitro* des graines du genévrier thurifère, un taux de germination de 6,66 % dans le milieu WPM avec 1 g/l GA₃ et un taux de 3,10 % dans le milieu MS plus 1 g/l GA₃ sont obtenus. Les gibbérellines endogènes sont nécessaires pour lever la dormance, sans gibbérelline la production d'enzymes hydrolytiques, telles que l' α -amylase, ne se produit pas et la dormance est maintenue. Cependant, si la gibbérelline est présente en quantités suffisantes la dormance sera surmontée (George et al., 2008), pour cela l'addition de GA₃ exogène a fortement amélioré la germination.

Dans la seconde étape d'induction de germination, deux antioxydants sont associés dans le milieu de culture, une baisse légère de germination est enregistrée dans le milieu avec les deux antioxydants (88,23 %) par rapport au milieu où seul le charbon actif est utilisé. Nos résultats sont meilleurs que ceux obtenus par Nasr et al. (2007), qui a trouvé 20 % de germination dans les graines de *Taxus baccata* cultivées sur un milieu où ils ont combiné deux antioxydants (charbon actif et acide ascorbique). L'acide ascorbique est un additif nutritionnel courant dans les milieux de culture tissulaire qui stimule la germination et il peut

également servir d'antioxydant pour réduire le stress oxydatif et atténuer le brunissement des tissus (Dolatabadian et Sanavy, 2008).

L'ajout des cytokinines aux milieux de culture avec les deux antioxydants a amélioré la germination à 100 %, sauf les deux milieux avec 0,25 mg/l et 0,5 mg/l de BAP où nous avons enregistré un taux de germination de 83,33 %. Les cytokinines et les auxines sont bénéfiques à la germination mais leur influence dépend des réponses aux signaux hormonaux dans l'endosperme et l'embryon (Bian *et al.*, 2018).

Enfin, l'utilisation de l'acide ascorbique (ASA) comme antioxydant seul dans le milieu de culture a donné des taux plus ou moins faibles par rapport aux deux expérimentations précédentes. Le taux de germination le plus faible de toute l'expérimentation est obtenu (50 %). Le seul milieu de culture qui a atteint 100 % de germination dans cette partie est le milieu avec 0,1 mg/l d'ASA. El Kbiach *et al.* (2001), ont mentionné que l'utilisation de l'acide ascorbique comme un agent antioxydant dans la culture des glands de Chêne-liège, l'acide ascorbique est connu pour ses propriétés antioxydantes assurant aussi la germination des graines, mais il faut indiquer que les concentrations élevées du ASC inhibent les germinations (Ye *et al.*, 2012). En plus de ses activités antioxydantes, l'ASC est considéré comme un cofacteur pour de nombreuses dioxygénases. Les dioxygénases (enzyme) interviennent dans la biosynthèse des hormones endogènes de la plante (Ethylène, GA et ABA) (Prescott et John, 1996; De Tullio et Arrigoni, 2003; Pastori *et al.*, 2003; Ye *et al.*, 2012). Les teneurs en vitamine C (L-Ascorbic acid) sont les plus faibles dans les tissus dormantes (Pastori *et al.*, 2003), donc son apport au milieu de culture a joué un rôle très remarquable dans la germination des graines du genévrier thurifère.

L'un des avantages de la culture *in vitro* est la rapidité d'induction de germination, le TMG n'a pas dépassé les 12 jours. Les temps moyens de germinations obtenus sont très bons par rapport à l'étude de Khater (2018), qui n'a abouti à des germinations *in vitro* des graines du genévrier thurifère qu'après 3 mois de culture.

Le milieu DCR est le meilleur milieu de culture que ce soit pour l'élongation des explants grâce à sa richesse en azote, qui intervient dans le développement des explants (Chen *et al.*, 2014). Ceci explique la capacité des vitroplants du genévrier thurifère à se développer d'une façon meilleure que les milieux avec des régulateurs de croissances, nos résultats s'opposent à ceux d'Al-Ramamneh *et al.* (2017), qui n'ont pas eu de réponse des pousses du *Juniperus phoenicea* dans le milieu sans régulateur de croissance. D'après l'analyse statistique le milieu DCR sans aucun additif est le meilleur milieu pour favoriser l'augmentation de la taille des vitroplants, suivi du milieu avec 1 mg/l de l'acide

ascorbique où les vitroplants sont aussi bien développés. Cela peut être due à l'effet de l'acide ascorbique qui stimule le taux de croissance des racines et des pousses (Dolatbadian et Sanavy, 2008).

Les nécroses sont des brunissements des explants, qui par la suite meurent (Bairu *et al.*, 2009), ceci peut-être dû à l'insuffisance nutritive (Ca et B) (Raven, 1977) ou l'oxydation des composés polyphénoliques excrétés par les explants, c'est un phénomène marqué particulièrement chez les ligneux. Dans la présente étude, les nécroses sont observées dans certains milieux seulement. Le milieu DCR témoin (sans antioxydant) a enregistré un taux de nécroses de 13,33 %, l'addition de 5 g/l de charbon actif au milieu a diminué le taux de nécroses à 10,52 %. Nos résultats sont contradictoires à ceux de Tafreshi *et al.* (2011), qui ont trouvé un taux de nécroses nul après utilisation du charbon actif dans le milieu de culture où sont cultivés les vitroplants de *Taxus baccata*. Le charbon actif utilisé dans les milieux de culture *in vitro* grâce à sa structure active, qui affecte intimement sa capacité adsorptive, il a une large surface d'adsorption (Pan et Staden, 1998). Selon Mazinga *et al.* (2014), le charbon actif est devenu une nécessité pour régler le problème d'oxydation particulièrement aux espèces des conifères lors de la phase d'initiation de culture *in vitro*, mais son addition peut avoir des effets bénéfiques ou nocifs puisqu'il a une grande capacité d'adsorption des régulateurs de croissance.

L'addition de thidiazuron aux milieux de culture a provoqué des nécroses quel que soit le type de l'antioxydant utilisé. Le rôle du TDZ en tant qu'inhibiteur puissant de la cytokinin oxydase au cours d'une culture prolongée est probablement l'une des raisons de l'effet néfaste de l'exposition prolongée des explants au TDZ. Nous pouvons donc supposer une nécrose ou une mort cellulaire due à une accumulation continue de cytokines au cours d'une exposition prolongée au TDZ (Dhiman *et al.*, 2018).

Les nécroses peuvent être dues à la sécrétion des polyphénols ou l'oxydation des hormones avec la lumière.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale :

Dans ce travail, nous avons démontré que les populations algériennes de *Juniperus thurifera* sont une lignée génétiquement distincte qui pourrait être classé comme *Juniperus thurifera* subsp. *africana* var. *aurasiaca*, comme précédemment suggéré. Cette espèce est un excellent exemple de la diversité génétique intra-espèces extrêmement élevées dans la région notée d'Afrique du Nord, ce qui représente un autre point chaud de l'évolution au sein de la région méditerranéenne (Rodriguez-sanchez et al., 2008). Malheureusement, cette grande diversité biologique est présumée de relever de grands défis environnementaux qui peuvent conduire à la perte irréversible de nombreuses espèces et donc l'appauvrissement des communautés végétales. En fin de compte, une telle perte aura une incidence sur le fonctionnement des écosystèmes et le bien-être humain.

Dans la gamme africaine de *Juniperus thurifera*, l'espèce est soumise à une forte pression humaine, la fragmentation et l'échec de la reproduction. Tous ces effets sont négativement renforcés par l'aridification en cours de la région, ce qui rend les populations vulnérables à des perturbations supplémentaires et les exposés ainsi à un risque sérieux d'extinction. Il y a bien des exemples d'espèces en Afrique du Nord qui sont déjà piégées dans le tourbillon d'extinction, comme les espèces endémiques de *Cupressus* ou *Abies* (Dering et al., 2014; Sękiewicz et al., 2018). Les projections les plus pessimistes de la répartition future ont confirmé la réduction sérieuse et presque l'extinction de *Juniperus thurifera*. La détérioration climatique prévue devrait affecter l'aire de répartition du thurifère, non seulement en Afrique, mais aussi en Europe, et ne laissant que quelques endroits d'apparition probable. À l'heure actuelle, le *Juniperus thurifera* est un élément clé des hautes communautés forestières de montagne des zones arides et semi-arides en Afrique du Nord et de la Péninsule Ibérique. Le scénario le plus optimiste proposé par la seconde analyse effectuée avec l'aide de la plateforme CHELSA a également indiqué la réduction des espèces, mais dans ce cas la partie européenne de la gamme qui est prévue pour être plus vulnérables aux futurs changements climatiques.

En utilisant une approche combinée dans laquelle l'analyse génétique est complétée par la modélisation des niches écologiques, nous avons noté les domaines de la répartition actuelle des espèces qui ont constitué un refuge à long terme pour *Juniperus thurifera* depuis au moins l'Eémien. Par conséquent, ces zones représentent le patrimoine de l'évolution de *Juniperus thurifera* et devraient donc être la priorité en matière des programmes de conservation (Keppel et Wardell-Johnson, 2012). Les refuges sont des zones qui ont favorisé la survie des

Conclusion générale

espèces durant les crises climatiques et environnementales passées. Cependant, comme le montre notre modélisation, la capacité de ces zones de refuge peut être très limitée dans le cas de *Juniperus thurifera* soumis à une transformation prévue dans l'environnement. Si la tendance actuelle dans le changement climatique continues (Guiot et Cramer, 2016), ces zones ne peuvent plus être efficaces pour soutenir la survie de l'espèce. Par conséquent, la valeur évolutive des populations algériennes devrait être immédiatement reconnue en les incluant dans un réseau d'aires protégées, car ils sont plus isolés et dans l'espace confiné que les peuplements marocains.

Comprendre comment améliorer la germination est fondamentale pour une conservation efficace des ressources génétiques. Il est d'une importance capitale particulièrement pour les espèces d'arbres menacés comme *Juniperus thurifera*. La régénération naturelle des arbres forestiers par des graines est un processus important puisqu'il facilite la pérennité des populations forestières, l'établissement de nouvelles compositions floristiques au fil du temps et assure la variabilité génétique des populations.

Une étude biométrique des galbules et graines de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* étudiées de la région des Aurès à montrer que la différenciation morphologique au sein des populations algérienne est très faible.

Dans la présente étude la germination *in vitro* et *in vivo* des graines du genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*) est réalisée. L'évaluation de l'état sanitaire des galbules est réalisée en premier, la totalité des galbules sont parasités à l'exception des galbules prévenant de ZANA qui présente un taux élevé des galbules saines. Par contre, les graines de T'Kout présentent le pourcentage le plus élevée des graines susceptibles de germer (48,1 %).

Le nombre de répétition des traitements est faible, cela est due au manque des graines susceptibles de germer (graines à endosperme blanchâtre), tout au long de l'expérimentation, et plus précisément dans l'année 2016, où la totalité des graines récoltées étaient non reproductives (vide, parasiter ou endosperme lignifier), ce qui nous a rendu l'expérimentation très difficile à réaliser.

Dans la présente étude la germination des graines du genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*) est achevée selon deux méthodes ; culture d'embryons isolés et par prétraitement des endospermes. Les prétraitements réalisés sur les endospermes blanchâtres ont donnés des taux de germination variable entre $2,50 \pm 3,54$ % et $60,00 \pm 28,28$ %. Nous pouvons conclure de ses prétraitements des endospermes blanchâtres que le froid (4°C) et l'immersion dans l'eau froide sont deux traitements nécessaires à la germination des graines scarifiées du genévrier thurifère algérien, puisque l'eau élimine les inhibiteurs de germination

Conclusion générale

des endospermes et le froid aide à briser la dormance des graines puisque dans la nature les graines de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* nécessitent deux périodes de froid pour pouvoir germer, de plus l'élimination de la dormance tégumentaire après la scarification. Les plantules issues des prétraitements sont maintenues dans des pots jusqu'à atteindre l'âge de trois ans, un âge recommandé pour planter les plantes du thurifère dans leur milieu naturel ou de l'introduire dans une autre zone.

L'induction de germination *in vitro* des embryons isolés est effectuée sur milieux DCR solidifié par l'agar. La germination commence au 4^{ème} jour de culture pour la plupart des milieux pour atteindre 100 % dans certains milieux. Les embryons isolés cultivés sur milieu DCR est supplémenté avec différentes hormones (GA₃, AIB, BAP et DTZ) et antioxydant (charbon actif et acide ascorbique) ont donnés des taux de germination de 50 % à 100 %, la réponse des graines à la culture d'embryons isolés est assez satisfaisante. Le développement des vitroplants est très remarquable dans le milieu DCR sans aucun additif, l'association de l'acide ascorbique et les hormones ne sont pas favorables au développement des vitroplants, puisque ses derniers sont complètement transformés en cals. Donc il est préférable de transférer les vitroplants sur milieu DCR sans additifs. Le temps moyen de germination est de 6 à 13 jours en fonction du milieu de culture.

L'acclimatation des vitroplants issus *in vitro* n'a pas été réussie dans la présente étude en raison du manque de serre d'acclimatation. De ce fait réussir l'acclimatation des vitroplants est un objectif à atteindre dans les prochains travaux à réaliser sur le thurifère.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- Abderrezek L.**, 2017. Diagnostic écologique et conservation des juniperaies à Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L) dans les stations Zana et Nirdi (Aurès). Mémoire Magistère, Université de Batna 1, 217p.
- Adams R.P.** 2014. *Junipers of the world: The genus Juniperus*, 4th ed. Trafford Publishing, Baylor University, Waco, Txusa, 425p.
- Adams R.P., Mumba L.E., James S.A., Pandey R.N., Gauquelin T. & Badri W.**, 2003. Geographic variation in the leaf oils and DNA fingerprints (RAPDs) of *Juniperus thurifera* L. from Morocco and Europe. *Journal of Essential Oil Research* **15** (3): 148–154. DOI: 10.1080/10412905.2003.9712098
- Ahani H., Jalilvand H., Hosseini Nasr S.M., Soltani Kouhbanani H., Ghazi M.R. & Mohammadzadeh H.**, 2013. Reproduction of juniper (*Juniperus polycarpos*) in Khorasan Razavi, Iran. *Forest Science and Practice* **15** (3): 231–237. DOI: 10.1007/s11632-013-0307-6
- Ahmad M., Wani T.A., Kaloo Z.A., Ganai B.A., Yaqoob U. & Ganaie H.A.**, 2018. Germination studies of critically endangered medicinal angiosperm plant species *meconopsis aculeata royle* endemic to Kashmir Himalaya, India: A Multipurpose Species. *Medicinal & Aromatic Plants* **07** (01): 1– 6. DOI: 10.4172/2167-0412.1000315
- Allphin L., Hunt A.F., Anderson V.J.**, 2007. Genetic diversity and low reproductive success in isolated populations of Utah juniper (*Juniperus osteosperma*, *Cupressaceae*). *Western North American Naturalist* **67** (3): 323–337. DOI: 10.3398/1527-0904(2007)67[323:GDALRS]2.0.CO;2
- Al-Ramamneh E.A.D., Daradkeh N., Taha R. & Al-Qudah M.**, 2017. Effects of explant, media and growth regulators on in vitro regeneration and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea*. *Australian Journal of Crop Science* **11** (7): 828–837. DOI: 10.21475/ajcs.17.11.07.pne479
- Al-Ramamneh E.A.D., Dura S., Daradkeh N.**, 2012. Propagation physiology of *Juniperus phoenicea* L. from Jordan using seeds and in vitro culture techniques: Baseline information for a conservation perspective. *African Journal of Biotechnology* **11** (30): 7684–7692. DOI: 10.5897/AJB12.485
- Arif I.A., Khan H.A., Bahkali A.H., Al Homaidan A.A., Al Farhan A.H., Al Sadoon M. & Shobrak M.**, 2011. DNA marker technology for wildlife conservation. *Saudi Journal of Biological Sciences* **18** (3): 219–225. DOI: 10.1016/j.sjbs.2011.03.002
- Arrigoni O. & De Tullio M.C.**, 2000. The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions. *Journal of Plant Physiology* **157** (5): 481–488. DOI: 10.1016/S0176-1617(00)80102-9
- Auclair L.**, 1993. Le genévrier thurifère *Juniperus thurifera* L. Géant de l'Atlas. forêt méditerranéenne **XIV** (4): 306–314.
- Aydin I. & Uzun F.**, 2001. The effects of some applications on germination rate of Gelemen Clover seeds gathered from natural vegetation in Samsun. *Pakistan Journal of Biological Sciences* **4** (2): 181–183.
- Aymerich P. & Villar L.**, 2013. Sur les peuplements de Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) en Haut Pallars (Pyrénées centrales, Catalogne). Présentation géobotanique et écologique. *Ecologia mediterranea* **39** (1): 13.
- Badri W.**, 2003. Structure, dynamique et fonctionnement des peuplements à Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) dans les Atlas marocains. Thèse de Doctorat, Cadi Ayyad Faculte Des Sciences Semlalia, Marrakech, 274p.

Références bibliographiques

- Bairu M.W., Kulkarni M.G., Street R.A., Mulaudzi R.B. & Staden J.V.,** 2009. Studies on seed germination, seedling growth, and *in vitro* shoot induction of *Aloe ferox* Mill., a commercially important species. *HortScience* **44** (3): 751–756. DOI: 10.21273/HORTSCI.44.3.751
- Barbero M., Bonin G., Loisel R. & Quézel P.,** 1990. Changes and disturbances of forest ecosystems caused by human activities in the western part of the mediterranean basin. *Vegetatio* **87** (2): 151–173. DOI: 10.1007/BF00042952
- Baskin C.C. & Baskin J.M.,** 1998. Seeds: ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination. Elsevier, USA, 681p.
- Baskin J.M. & Baskin C.C.,** 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* **14** (1): 1–16. DOI: 10.1079/SSR2003150
- Beaumont M.A. & Rannala B.,** 2004. The Bayesian revolution in genetics. *Nature Reviews Genetics* **5** (4): 251–261. DOI: 10.1038/nrg1318
- Beghami Y.,** 2013. Ecologie et dynamique de la végétation de l’Aurès : analyse spatio-temporelle et étude de la flore forestière et montagnarde. Thèse de Doctorat, Mohamed khider, Biskra, 193p.
- Benhouhou S., Yahi N., Véla E.** 2018. Algeria: Key Biodiversity Areas (KBAs) for plants in the Mediterranean region. Conserving wild plants in the South and East Mediterranean region, In: Valderrábano et al. (Eds.). IUCN, Gland, Switzerland and Málaga, Spain: 53–60.
- Benítez-Benítez C., Escudero M., Rodríguez-Sánchez F., et al.** 2018. Pliocene–Pleistocene ecological niche evolution shapes the phylogeography of a Mediterranean plant group. *Molecular Ecology* **27** (7): 1696–1713. DOI: 10.1111/mec.14567
- Benmahioul B.** 2009. Amélioration de la micropropagation in vitro du pistachier (*Pistacia vera* L.) en vue de l’extension des vergers en algérie. Thesis, Université des sciences et technologique d’Oran.
- Besnard G., Khadari B., Baradat P. & Bervillé A.,** 2002. *Olea europaea* (Oleaceae) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. *Theoretical and Applied Genetics* **104** (8): 1353–1361. DOI: 10.1007/s00122-001-0832-x
- Bewley J.D. & Black M.,** 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. Springer Science & Business Media, 467p.
- Bhatia S., Sharma K., Dahiya R. & Bera T.,** 2015. Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences. Elsevier Science, 452p.
- Bhojwani S.S. & Dantu P.K.,** 2013. Plant tissue culture: an introductory text. Springer India, India. DOI: 10.1007/978-81-322-1026-9
- Bian F., Su J., Liu W. & Li S.,** 2018. Dormancy release and germination of *Taxus yunnanensis* seeds during wet sand storage. *Scientific Reports* **8** (1): 3205. DOI: 10.1038/s41598-018-21469-9
- Bonga J.M. & Von Aderkas P.,** 1992. *In vitro* culture of trees, Springer-Science+Business Media, B.V. Forestry Sciences, Canada.
- Boratyński A., Jasińska A.K., Marcysiak K., Mazur M., Romo A.M., Boratyńska K., Sobierajska K. & Iszkulo G.,** 2013. Morphological differentiation supports the genetic pattern of the geographic structure of *Juniperus thurifera* (Cupressaceae). *Plant Systematics and Evolution* **299** (4): 773–784. DOI: 10.1007/s00606-013-0760-7

Références bibliographiques

- Boratyński A., Lewandowski A., Boratyńska K., Montserrat J.M. & Romo A.,** 2009. High level of genetic differentiation of *Juniperus phoenicea* (Cupressaceae) in the Mediterranean region: geographic implications. *Plant Systematics and Evolution* **277** (3–4): 163–172. DOI: 10.1007/s00606-008-0122-z
- Bouahmed A., Vessella F., Schirone B., Krouchi F. & Derridj A.,** 2019. Modeling *Cedrus atlantica* potential distribution in North Africa across time: new putative glacial refugia and future range shifts under climate change. *Regional Environmental Change*. DOI: 10.1007/s10113-019-01503-w
- Bruvo R., Michiels N.K., D’Souza T.G. & Schulenburg H.,** 2004. A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. *Molecular Ecology* **13** (7): 2101–2106. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2004.02209.x
- Bunderson E.D.,** 1984. Autecology of *Juniperus Osteosperma* in Seventeen Utah Sites. Université Brigham Young.
- Burban C. & Petit R.J.,** 2003. Phylogeography of maritime pine inferred with organelle markers having contrasted inheritance. *Molecular Ecology* **12** (6): 1487–1495. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2003.01817.x
- Calic-Dragosavac D., Zdravkovi-Korac S., Bohanec B., et al.** 2010. Effect of activated charcoal, abscisic acid and polyethylene glycol on maturation, germination and conversion of *Aesculus hippocastanum* androgenic embryos. *African Journal of Biotechnology* **9** (25): 3786-3793.
- Caliński T. & Harabasz J.,** 1974. A dendrite method for cluster analysis. *Communications in Statistics* **3** (1): 1–27. DOI: 10.1080/03610927408827101
- Campbell J.F., Fletcher W.J., Joannin S., Hughes P.D., Rhanem M. & Zielhofer C.,** 2017. Environmental drivers of Holocene forest development in the Middle Atlas, Morocco. *Frontiers in Ecology and Evolution* **5**: 113p.
- Cantos M., Cuerva J., Zárata R. & Troncoso de Arce A.,** 1998. Embryo rescue and development of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* and *macrocarpa*.
- Cavieres L.A. & Arroyo M.T.K.,** 2000. Seed germination response to cold stratification period and thermal regime in *Phacelia secunda* (Hydrophyllaceae). *Plant Ecology* **149** (1): 1–8. DOI: 10.1023/A:1009802806674
- Çavusoglu K. & Kabar K.,** 2010. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. *Eurasian Journal of Biosciences* **4** (1): 70–79. DOI: 10.5053/ejobios.2010.4.0.9
- Chapuis M.-P. & Estoup A.,** 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* **24** (3): 621–631. DOI: 10.1093/molbev/msl191
- Cheddadi R., Fady B., François L., Hajar L., Suc J-P., Huang K., Demarteau M., Vendramin G.G. & Ortu E.,** 2009. Putative glacial refugia of *Cedrus atlantica* deduced from Quaternary pollen records and modern genetic diversity. *Journal of Biogeography* **36** (7): 1361–1371. DOI: 10.1111/j.1365-2699.2008.02063.x
- Chen C.-C., Bates R. & Carlson J.** 2014. Effect of environmental and cultural conditions in medium pH and plant growth performance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) shoot culture. *F1000Research* **3**: 298p. DOI: 10.12688/f1000research.5919.1
- Clark L.V. & Jasieniuk M.,** 2011. polysat: an R package for polyploid microsatellite analysis: COMPUTER PROGRAM NOTE. *Molecular Ecology Resources* **11** (3): 562–566. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2011.02985.x

Références bibliographiques

- Collada C., Díaz A., Cervera M.T., González-Martínez S.C., Robledo-Arnuncio J.J., Williams C.G. & Alía R.,** 2004. Cross-amplification and sequence variation of microsatellite loci in Eurasian hard pines. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **109** (1): 103–111. DOI: 10.1007/s00122-004-1596-x
- Conrad O., Bechtel B., Bock M., Dietrich H., Fischer E., Gerlitz L., Wehberg J., Wichmann V. & Böhrer J.,** 2015. System for automated geoscientific analyses (SAGA) v. 2.1. 4. *Geoscientific Model Development* **8** (7): 1991–2007.
- Cousins S.R., Witkowski E.T.F. & Mycock D.J.,** 2014. Seed storage and germination in *Kumara plicatilis*, a tree aloe endemic to mountain fynbos in the Boland, south-western Cape, South Africa. *South African Journal of Botany* **94**: 190–194. DOI: 10.1016/j.sajb.2014.07.003
- Coussy B., Garraud L. & Godron M.,** 2013. Le Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) dans les Préalpes françaises : étude de l'écologie et de la structure des peuplements (The Incense juniper (*Juniperus thurifera* L.) in the French pre-Alps: study of the ecology and populations structure).
- Csilléry K., Blum M.G.B., Gaggiotti O.E. & François O.,** 2010. Approximate Bayesian Computation (ABC) in practice. *Trends in Ecology & Evolution* **25** (7): 410–418. DOI: 10.1016/j.tree.2010.04.001
- Daneshvar A.,** 2015. Improved Seed Handling Techniques for *Juniperus polycarpos* Implications for Active Restoration of Degraded Juniper Forests in Iran. Doctoral, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Daneshvar A., Tigabu M., Karimidoost A. & Odén P.C.,** 2016. Stimulation of germination in dormant seeds of *Juniperus polycarpos* by stratification and hormone treatments. *New forests* **47** (5): 751–761.
- Dayamba S.D.,** 2016. Perspectives in restoration: storage and pretreatments of seeds for better germination of Sudanian savanna-woodland species. *Journal of Forestry*: 773-778. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11676-016-0220-7>
- De Peña M., García-González M.D. & De Pedro R.,** 2012. Adéquation du microhabitat pour la germination de *Juniperus thurifera* L. dans les populations naturelles de Genévrier thurifère en Castilla et León (Espagne). In: Le Genévrier thurifère, espèce partagée au Nord et au Sud de la Méditerranée. Exemple d'une approche d'écologie globale à l'occasion du IVe colloque international de Saint-Crépin et Mont-Dauphin (octobre 2011). *Forêt méditerranéenne* **33**: 227–240.
- De Tullio M.C. & Arrigoni O.,** 2003. The ascorbic acid system in seeds: to protect and to serve. *Seed Science Research* **13** (4): 249–260.
- Debergh P. & Zimmerman R.H.,** 1991. *Micropropagation: Technology and Application*. Springer Netherlands, London, 479p.
- Dering M., Sękiewicz K., Boratyńska K., Litkowiec M., Iszkulo G., Romo A. & Boratyński A.,** 2014. Genetic diversity and inter-specific relations of western Mediterranean relic *Abies taxa* as compared to the Iberian *A. alba*. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **209** (7): 367–374. DOI: 10.1016/j.flora.2014.03.011
- Desota L., Olano J.M., Rozas V. & Cruz D.,** 2010. Release of *Juniperus thurifera* woodlands from herbivore-mediated arrested succession in Spain. *Applied vegetation science*: 1-11.
- Dhiman N., Gautam N., Sareen B., Kumari P., Rajouria S. & Bhattacharya A.,** 2018. *In Vitro* Morphogenesis of Some Himalayan Flora Using TDZ: A Potential Plant Growth Regulator. Thidiazuron: From Urea Derivative to Plant Growth Regulator. Springer: 247–271.

Références bibliographiques

- Dodd R.S. & Poveda M.M.**, 2003. Environmental gradients and population divergence contribute to variation in cuticular wax composition in *Juniperus communis*. *Biochemical Systematics and Ecology* **31** (11): 1257–1270.
- Dolatabadian A. & Sanavy S.A.M.M.**, 2008. Effect of the Ascorbic Acid, Pyridoxine and Hydrogen Peroxide Treatments on Germination, Catalase Activity, Protein and Malondialdehyde Content of Three Oil Seeds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* **36** (2): 61–66. DOI: 10.15835/nbha36270
- Doyle J.J. & Doyle J.L.**, 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* **12** (13): 39–40.
- Dučić T., Lirić-rajlić I., Mitrović A. & Radotić K.** 2003. Activities of antioxidant systems during germination of *Chenopodium rubrum* seeds. *Biologia Plantarum* **47** (4): 527–533. DOI: 10.1023/B:BIOP.0000041057.11390.58
- Dufresne F., Stift M., Vergilino R. & Mable B.K.**, 2014. Recent progress and challenges in population genetics of polyploid organisms: an overview of current state-of-the-art molecular and statistical tools. *Molecular Ecology* **23** (1): 40–69. DOI: 10.1111/mec.12581
- El Alaoui El Fels M.A., Roques A. & Boumezzough A.**, 1999. Les arthropodes liés aux galbules et aux graines du genévrier thurifère, *Juniperus thurifera* L., dans les Atlas marocains. *Ecologia mediterranea* **25** (1): 95–110.
- El Alaoui El Fels M.A., Yart A., Roques A., Arjouni M., El Mercht S., Auger-Rozenberg M-A. & Abderrahmane R.**, 2013. Acariens et insectes ravageurs de deux cupressacées menacées au Maroc : le Genévrier thurifère et le cyprès de l'Atlas. Mites and insect pests of two cupressaceae threatened in Morocco: thuriferous juniper and Atlas cypress. *Ecologia mediterranea* **39**: 123p.
- El Kbiach M.L., Lamarti A. & Badoc A.**, 2001. Culture *in vitro* du Chêne-liège (*Quercus suber* L.). *Bulletin-Société De Pharmacie De Bordeaux* **140** (1/4): 89–110.
- Elith J., Phillips S.J., Hastie T., Dudík M., Chee Y.E. & Yates C.J.**, 2011. A statistical explanation of MaxEnt for ecologists: Statistical explanation of MaxEnt. *Diversity and Distributions* **17** (1): 43–57. DOI: 10.1111/j.1472-4642.2010.00725.x
- El-Juhany L.I., Aref I.M. & Al-Ghamdi M.A.**, 2009. Effects of Different Pretreatments on Seed Germination and Early Establishment of the Seedlings of *Juniperus procera* Trees. *World Applied Sciences Journal* **7** (5): 616–624.
- Evanno G., Regnaut S. & Goudet J.**, 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14** (8): 2611–2620. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Farhat P.**, 2019. Exploration génétique de la polyploïdie du genre *Juniperus* (*Cupressaceae*). Thèse de doctorat, Paris Saclay.
- Farjon A.**, 2010. A handbook of the world's conifers. BRILL, Leiden • Boston, Boston, 1/2: 1111p.
- Farjon A. & Filer D.**, 2013. An Atlas of the World's Conifers. BRILL, Leiden • Boston, Boston, 512p. DOI: 10.1163/9789004211810
- Ferradous A., Alifriqui M., Hafidi M. & Duponnois R.**, 2013. Essais de régénération artificielle du Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.). *Ecologia mediterranea* **39** (1): 115–121.
- Feyissa T., Derso C.** 2015. Effect of seed treatment on seed germination and seedling growth attributes of yeheb (*Cordeauxia edulis*) with *In-Vitro* Conditions. *Journal of Biotechnology & Biomaterials* **05** (02): 1-4. DOI: 10.4172/2155-952X.1000188

Références bibliographiques

- Fišer Pečnikar Ž., Balant M., Glasnović P. & Surina B.,** 2018. Seed dormancy and germination of the rare, high elevation Balkan endemic *Cerastium dinaricum* (Caryophyllaceae). *Biologia* **73** (10): 937–943. DOI: 10.2478/s11756-018-0115-5
- García D.,** 2001. Effects of seed dispersal on *Juniperus communis* recruitment on a mediterranean mountain. *Journal of Vegetation Science* **12** (6): 839–848. DOI: 10.2307/3236872
- García D.,** 1998. Interaction between juniper *Juniperus communis* L. and its fruit pest insects: Pest abundance, fruit characteristics and seed viability. *Acta Oecologica* **19** (6): 517–525. DOI: 10.1016/S1146-609X(99)80006-X
- García D., Zamora R., Gomez J.M., Jordano P. & Hodar J.A.,** 2000. Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus communis* throughout its range in Europe. *Journal of Ecology* **88** (3): 435–446.
- Garzón B.M., Sánchez de Dios R. & Sáinz Ollero H.,** 2007. Predictive modelling of tree species distributions on the Iberian Peninsula during the Last Glacial Maximum and Mid-Holocene. *Ecography* **30** (1): 120–134.
- Gauquelin T.,** 1999. Le genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.), un arbre emblématique des Monegros. *Bol. S.E.A.* (24): 107–110.
- Gauquelin T., Bertaudiere V. & Badri W.,** 1998. Cycle biogéochimique et hétérogénéité édaphique des groupements forestiers pré-steppiques à genévrier thurifère du Haut Atlas de Marrakech (Maroc). *Ecologie*, **29** (1–2): 177–180.
- Gauquelin T., Bertaudiere V., Montes N., Badri W. & Asmode J.,** 1999. Endangered stands of thuriferous juniper in the western Mediterranean basin: ecological status, conservation and management. *Biodiversity & Conservation* **8** (11): 1479–1498. DOI: 10.1023/A:1008966808796
- Gauquelin T., Bertaudière-Montès A., Badri W. & Montès N.,** 2002. Sex ratio and sexual dimorphism in mountain dioecious thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L., *Cupressaceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society* **138** (2): 237–244. DOI: 10.1046/j.1095-8339.2002.138002237.x
- Gauquelin T., Chondroyannis P., Boukhdoud N., Bouyssou M., BRUNEL C., Danneyrolles V., Delforge Q., Guiraud M., Marchand C. & Mathaux C.,** 2012. Le genévrier thurifère, espèce partagée au Nord et au Sud de la Méditerranée. *Forêt Méditerranéenne* **33** (3): 227–240.
- Gauquelin T. & Dagnac J.,** 1988. Caractéristiques édaphiques des groupements à Genévrier thurifère des Atlas marocains: étude des niveaux superficiels des sols sous couvert et hors couvert. *Ecologia Mediterranea* **14** (3/4): 43–56.
- Gauquelin T., Idrissi H.M. & Lebreton P.,** 1988. Le genévrier thurifère, *Juniperus thurifera* L. (*Cupressaceae*): Analyse biométrique et biochimique; propositions systématiques. *Ecologia Mediterranea* **XIV** (3/4): 31–42.
- Gausson H.,** 1968. Les gymnospermes actuelles et fossiles: Les cupressacées. Fascicule X. Faculté des sciences, 326p.
- Gavalda M.C.C.,** 2015. Polyploïdie et adaptation des plantes : caractérisation et variation de l'expression des gènes homoélogues chez le caféier *Coffea arabica*. Thèse de Doctorat, Montpellier : IRD, 154p.
- Gent P.R., Danabasoglu G., Donner L.J., Holland M.M., Hunke E.C., Jayne S.R., Lawrence D.M., Neale R.B., Rasch P.J., Vertenstein M., Worley P.H., Yang Z-L. & Zhang M.,** 2011. The community climate system model version 4. *Journal of Climate* **24** (19): 4973–4991. DOI: 10.1175/2011JCLI4083.1

Références bibliographiques

- George E.F., Hall M.A. & De Klerk G.-J.** 2008. Plant growth regulators I: introduction; auxins, their analogues and inhibitors. Plant propagation by tissue culture, Springer: 175–204.
- Ghildiyal S.K., Sharma C.M.** 2005. Effect of seed size and temperature treatments on germination of various seed sources of *Pinus wallichiana* and *Pinus roxburghii* from Garhwal Mmalaya. *Indian Forester* **131** (1): 56-65–65.
- Ghorpade R.P., Chopra A., Nikam T.D.** 2010. In vitro zygotic embryo germination and propagation of an endangered *Boswellia serrata* Roxb., a source of boswellic acid. *Physiology and molecular biology of plants : an international journal of functional plant biology* **16** (2): 159–165. DOI: 10.1007/s12298-010-0017-7
- González A.G., García-Viñas J.I., Saura S., Caudullo G. & de Rigo D.,** 2016. *Juniperus thurifera* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg **2**: e0195e6+.
- Grout B.,** 1995. Genetic preservation of plant cells *in vitro*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 168p.
- Gruwez R., Leroux O., De Frenne P., Tack W., Viane R. & Verheyen K.,** 2013. Critical phases in the seed development of common juniper (*Juniperus communis*). *Plant Biology (Stuttgart, Germany)* **15** (1): 210–219. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2012.00628.x
- Guellil Z. & Zaoui L.,** 2009. Proposition d'une solution au problème d'initialisation cas du K-means. CIIA, 9p.
- Guido M. & Roques A.,** 1996. Impact of the phytophagous insect and mite complex associated with cones of Junipers (*Juniperus phoenicea* L. and *J. Cedrus* Webb and Berth.) in the Canary islands - Recherche Google. *ecologia mediterrane* **XXII** (112): 1–10.
- Guiot J. & Cramer W.,** 2016. Climate change: The 2015 Paris Agreement thresholds and Mediterranean basin ecosystems. *Science* **354** (6311): 465–468. DOI: 10.1126/science.aah5015
- Guo C., Shen Y. & Shi F.,** 2018. Investigating seed dormancy in *Pinus bungeana* Zucc. ex Endl.: Understanding the contributions of enclosing tissues and temperature on germination. *Forests* **9** (7): 401.
- Gupta P.K. & Durzan D.J.,** 1985. Shoot multiplication from mature trees of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*). *Plant Cell Reports* **4** (4): 177–179. DOI: 10.1007/BF00269282
- Gupta P.K. & Varshney R.K.,** 2000. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* **113** (3): 163–185. DOI: 10.1023/A:1003910819967
- Gutterman Y.,** 2000. Maternal effects on seeds during development. *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities* **2**: 59–84.
- Hannah G., Hughes P.D. & Gibbard P.L.,** 2017. Pleistocene plateau ice fields in the High Atlas, Morocco. *Geological Society, London, Special Publications* **433** (1): 25–53.
- Hanneschlaeger C. & Pohl P.,** 2018. Membrane permeabilities of ascorbic acid and ascorbate. *Biomolecules* **8** (3): 73.
- Harry I.S., Pulido C.M. & Thorpe T.A.,** 1995. Plantlet regeneration from mature embryos of *Juniperus cedrus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **41** (1): 75–78. DOI: 10.1007/BF00124090

Références bibliographiques

- Haslam T.M. & Yeung E.C.**, 2011. Zygotic embryo culture: an overview. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.) **710**: 3–15. DOI: 10.1007/978-1-61737-988-8_1
- Helmreich S.**, 1999. Making PCR: A Story of Biotechnology. *American Ethnologist* **26** (3): 783–784. DOI: 10.1525/ae.1999.26.3.783
- Henry R.J.**, 1997. *Practical Applications of Plant Molecular Biology*. Nelson Thornes, 284p.
- Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G. & Jarvis A.**, 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* **25** (15): 1965–1978. DOI: 10.1002/joc.1276
- Hilhorst H.W.M. & Karssen C.M.**, 1992. Seed dormancy and germination: the role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. *Plant Growth Regulation* **11** (3): 225–238. DOI: 10.1007/BF00024561
- Hilooğlu M., Sözen E., Yücel E. & Kandemir A.**, 2018. Chemical applications, scarification and stratification effects on seed germination of rare endemic *Verbascum calycosum* Hausskn. ex Murb. (Scrophulariaceae). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* **46** (2): 376–380. DOI: 10.15835/nbha46210746
- Hossain M.A., Islam K.S., Rajasree N., Hossain M.K. & Alam M.S.**, 2018. Pre-sowing treatments for improved germination and growth of two rare native species of Bangladesh. *Journal of Forestry Research* **29** (5): 1277–1282. DOI: 10.1007/s11676-017-0554-9
- Hosseini Tafreshi S.A., Shariati M., Mofid M.R. & Khayam Nekui M.** 2011. Rapid germination and development of *Taxus baccata* L. by *in vitro* embryo culture and hydroponic growth of seedlings. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* **47** (5): 561–568. DOI: 10.1007/s11627-011-9369-0
- Hughes P.D., Fenton C.R. & Gibbard P.L.**, 2011. Quaternary Glaciations of the Atlas Mountains, North Africa. Pp. 1065–1074. *In*: Ehlers J., Gibbard P.L., Hughes P.D. (eds). *Developments in Quaternary Sciences*. Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-444-53447-7.00076-3
- Hughes P.D., Woodward J.C. & Gibbard P.L.**, 2006. Quaternary glacial history of the Mediterranean mountains. *Progress in physical geography* **30** (3): 334–364.
- Husemann M., Schmitt T., Zachos F.E., Ulrich W. & Habel J.C.**, 2014. Palaeartic biogeography revisited: evidence for the existence of a North African refugium for Western Palaeartic biota. *Journal of Biogeography* **41** (1): 81–94. DOI: 10.1111/jbi.12180
- Jaramillo-Correa J.P., Grivet D., Terrab A., Kurt Y., De-Lucas A.I., Wahid N., Vendramin G.G. & González-Martínez S.C.**, 2010. The strait of gibraltar as a major biogeographic barrier in mediterranean conifers: a comparative phylogeographic survey. *Molecular Ecology* **19** (24): 5452–5468. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2010.04912.x
- Jarne P. & Lagoda P.J.L.**, 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology & Evolution* **11** (10): 424–429. DOI: 10.1016/0169-5347(96)10049-5
- Jiménez J.F., Werner O., Sánchez-Gómez P., Fernández S. & Guerra J.**, 2003. Genetic variations and migration pathway of *Juniperus thurifera* L. (Cupressaceae) in the western Mediterranean region. *Israel Journal of Plant Sciences* **51** (1): 11–22. DOI: 10.1560/ABR5-A6MP-5XEG-V0WF
- Jombart T.**, 2008. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* **24** (11): 1403–1405. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn129

Références bibliographiques

- Jombart T., Devillard S. & Balloux F.,** 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* **11** (1): 94. DOI: 10.1186/1471-2156-11-94
- Jombart T., Pontier D. & Dufour A.-B.,** 2009. Genetic markers in the playground of multivariate analysis. *Heredity* **102** (4): 330–341. DOI: 10.1038/hdy.2008.130
- Jones N., Ougham H. & Thomas H.,** 1997. Markers and mapping: we are all geneticists now. *New Phytologist* **137** (1): 165–177. DOI: 10.1046/j.1469-8137.1997.00826.x
- Kakai R.L.G., Salako V.K., Padonou E.A. & Lykke A.M.,** 2016. Méthodes statistiques multivariées utilisées en écologie. *Annales des Sciences Agronomiques* **20**: 139–157.
- Karger D.N., Conrad O., Böhrer J., Kawohl T., Krefl H., Soria-Auza R.W., Zimmermann N.E., Linder H.P. & Kessler M.,** 2017. Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas. *Scientific Data* **4**: 170122. DOI: 10.1038/sdata.2017.122
- Keppel G. & Wardell-Johnson G.W.,** 2012. Refugia: keys to climate change management. *Global Change Biology* **18** (8): 2389–2391. DOI: 10.1111/j.1365-2486.2012.02729.x
- Khater N.** 2018. Contribution à l'étude de la régénération du Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) par la production de plants in vitro. These de Doctorat, Université de Batna 1, Batna, 109p.
- Khater N. & Benbouza H.,** 2018. Preservation of *Juniperus thurifera* L.: a rare endangered species in Algeria through in vitro regeneration. *Journal of Forestry Research*, **30**: 77-86. DOI: 10.1007/s11676-018-0628-3
- Kopelman N.M., Mayzel J., Jakobsson M., Rosenberg N.A. & Mayrose I.,** 2015. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources* **15** (5): 1179–1191. DOI: 10.1111/1755-0998.12387
- Kordrostami M. & Rahimi M.,** 2015. Molecular markers in plants: Concepts and applications. *Genetics in the Third Millennium* **13**: 4024–4031.
- Kremer A.,** 1994. Diversité génétique et variabilité des caractères phénotypiques chez les arbres forestiers. *Genet Sel Evol* **26** (1): 19.
- Lamhamedi M.S., Rainville A., Benomar L., Villeneuve I., Beaulieu J. & Bousquet J.,** 2017. L'écophysiole, un atout pour réussir la migration assistée de sources génétiques d'épinette blanche. *Avis de recherche forestière* **89**: 2p.
- Lateef D.D.,** 2015. DNA marker technologies in plants and applications for crop improvements. *Journal of Biosciences and Medicines* **03** (05): 7–18. DOI: 10.4236/jbm.2015.35002
- Lavergne S., Hampe A. & Arroyo J.,** 2013. In and out of africa: how did the strait of gibraltar affect plant species migration and local diversification? *Journal of Biogeography* **40** (1): 24–36. DOI: 10.1111/j.1365-2699.2012.02769.x
- Le Page-Degivey M.T.,** 1973. Étude en culture in vitro de la dormance embryonnaire chez *Taxus baccata* L. *Biologia Plantarum* **15** (4): 264–269. DOI: 10.1007/BF02922707
- Lee C., Abdool A. & Huang C.H.,** 2009. PCA-based population structure inference with generic clustering algorithms. *BMC Bioinformatics* **10** (S1): S73. DOI: 10.1186/1471-2105-10-S1-S73
- Lehtonen P.K., Laaksonen T., Artemyev A.V., Belskii E., Both C., Bures S., Bushuev A.V., Krams I., Moreno J., Mägi M., Nord A., Potti J., Ravussin P.-A., Sirkiä P.M., Saetre G.-P. & Primmer C.R.,**

Références bibliographiques

2009. Geographic patterns of genetic differentiation and plumage colour variation are different in the pied flycatcher (*Ficedula hypoleuca*). *Molecular Ecology* **18** (21): 4463–4476. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2009.04364.x
- Lelu A.** 2008. La méthode de classification non-supervisée K-means axiales. Rapport Technique, 12p. ffinria-00333865f
- Lemessa D., Negussie H., Melesse S. & Didita M.,** 2017. Cold stratification complements cold water in enhancing the germination of *Juniperus procera* seeds. *Current Botany* **8**: 3–8.
- Lepais O., Muller S.D., Ben Saad-Limam S., Benslama M., Rhazi L., Belouahem-Abed D., Daoud-Bouattour A., Gammar A.M., Ghrabi-Gammar Z. & Bacles C.F.E.,** 2013. High Genetic Diversity and Distinctiveness of Rear-Edge Climate Relicts Maintained by Ancient Tetraploidisation for *Alnus glutinosa*. *PLoS ONE* **8** (9): e75029. DOI: 10.1371/journal.pone.0075029
- Lesjak M.M., Beara I.N., Orčić D.Z., Anačkov G.T., Balog K.J., Francišković M.M. & Mimica-Dukić N.M.,** 2011. *Juniperus sibirica* Burgsdorf. as a novel source of antioxidant and anti-inflammatory agents. *Food Chemistry* **124** (3): 850–856.
- Liu N. & Zhao H.,** 2006. A non-parametric approach to population structure inference using multilocus genotypes. *Human Genomics* **2** (6): 353. DOI: 10.1186/1479-7364-2-6-353
- Loudet O.** 2019. Zoom sur la complexité génétique chez les plantes. In: INRA. . <http://presse.inra.fr%2FCommunique-de-presse%2Fcomplexite-genetique-plantes-phenoscope>.
- Lumaret R., Mir C., Michaud H. & Raynal V.,** 2002. Phylogeographical variation of chloroplast DNA in holm oak (*Quercus ilex* L.). *Molecular Ecology* **11** (11): 2327–2336. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2002.01611.x
- Ma Y., Wang J., Hu Q., Li J., Sun Y., Zhang L., Abbott R.J., Liu J. & Mao K.,** 2019. Ancient introgression drives adaptation to cooler and drier mountain habitats in a cypress species complex. *Communications Biology* **2** (1): 1–12. DOI: 10.1038/s42003-019-0445-z
- Magri D., Fineschi S., Bellarosa R., Buonamici A., Sebastiani F., Schirone B., Simeone M.C. & Vendramin G.G.,** 2007. The distribution of *Quercus suber* chloroplast haplotypes matches the palaeogeographical history of the western Mediterranean. *Molecular Ecology* **16** (24): 5259–5266. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03587.x
- Mahmoudi A.,** 2016. Induction et optimisation de la germination du genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* subsp. *aurasiaca*) sur milieux solides et liquides. Mem. Ing., ENSA, Alger, 62p.
- Manni F., Guérard E. & Heyer E.,** 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology* **76** (2): 173–190.
- Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A. & Farah A.,** 2010. Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc Valorization of the essential oils of Moroccan *Juniperus thurifera* and *Juniperus oxycedrus*. *Phytothérapie* **8** (3): 166–170.
- Mao K., Hao G., Liu J., Adams R.P. & Milne R.I.,** 2010. Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *The New Phytologist* **188** (1): 254–272. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2010.03351.x
- Margara J.A.,** 1982. Bases de la multiplication végétative : les méristèmes et l'organogenèse. INRA, Paris 1: 262p.

Références bibliographiques

- Marjoram P. & Tavaré S.**, 2006. Modern computational approaches for analysing molecular genetic variation data. *Nature Reviews Genetics* **7** (10): 759–770. DOI: 10.1038/nrg1961
- Marzouki H., Nasri N., Jouaud B., Bonnet C., Khaldi A., Bouzid S. & Fady B.**, 2009. Population Genetic Structure of *Laurus nobilis* L. Inferred From Transferred Nuclear Microsatellites. *Silvae Genetica* **58** (1–6): 270–276. DOI: 10.1515/sg-2009-0034
- Mas J.-F., Soares Filho B., Pontius R., Farfán Gutiérrez M. & Rodrigues H.**, 2013. A suite of tools for ROC analysis of spatial Models. *ISPRS International Journal of Geo-Information* **2** (3): 869–887. DOI: 10.3390/ijgi2030869
- Matías L.F.B., Sierra N.H. & Rubira J.L.P.**, 2013. Effect of age and planting site on survival and growth of seedlings of *Juniperus thurifera* L. *Ecologia mediterranea: Revue internationale d'écologie méditerranéenne = International Journal of Mediterranean Ecology* **39** (1): 109–114.
- Mayol M., Riba M., González-Martínez S.C., Bagnoli F., de Beaulieu J.-L., Berganzo E., Burgarella C., Dubreuil M., Krajmerová D. & Paule L.**, 2015. Adapting through glacial cycles: insights from a long-lived tree (*Taxus baccata*). *New Phytologist* **208** (3): 973–986.
- Mazinga K.M., Jara M.G., Koninckxloo M.V., Nyembo K.L., Kasongo L.M.E. & Ntumba K.B. & Baboy L.L.**, 2014. Effets du charbon actif dans le milieu de culture sur l'induction de la rhizogénèse chez l'hybride FHIA-01 de bananier (*Musa AAAB*) en culture *in vitro*. *Journal of Applied Biosciences* **76** (1): 6352–6360. DOI: 10.4314/jab.v76i1.6
- Mccartan S.A. & Gosling P.G.**, 2013. Guide lines for seed collection and stratification of common juniper (*Juniperus communis* L.). *Tree Planters' Notes* **56** (1): 24–29.
- Meeûs T.D.**, 2012. Initiation à la génétique des populations naturelles: applications aux parasites et à leurs vecteurs. IRD Editions, 338p.
- Mehta U.J., Barreto S.M. & Hazra S.**, 2004. Effect of Thidiazuron in Germinating Tamarind Seedlings. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant* **40** (3): 279–283.
- Meirmans P.**, 2019. GenoDive Manual. I.B.E.D. Universiteit van Amsterdam: 106.
- Meirmans P.G.**, 2012. AMOVA-Based clustering of population genetic data. *Journal of Heredity* **103** (5): 744–750. DOI: 10.1093/jhered/ess047
- Meirmans P.G., Liu S. & van Tienderen P.H.**, 2018. The Analysis of polyploid genetic data. *Journal of Heredity* **109** (3): 283–296. DOI: 10.1093/jhered/esy006
- Meirmans P.G. & Van Tienderen P.H.**, 2004. Genotype and genodive: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes* **4** (4): 792–794. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2004.00770.x
- Meunier E.**, 2011. Caractérisation des variétés de plantes : l'approche génétique promue par l'UPOV. Inf° OGM.
- Mewded B., Lemessa D., Negussie H. & Berhanu A.** 2019. Germination pretreatment and storage behavior of *Terminalia laxiflora* seed. *Journal of Forestry Research* **30** (4): 1337–1342. DOI: 10.1007/s11676-018-0717-3
- Mezquida E.T. & Olano J.M.**, 2013. What makes a good neighborhood? Interaction of spatial scale and fruit density in the predator satiation dynamics of a masting juniper tree. *Oecologia* **173** (2): 483–492. DOI: 10.1007/s00442-013-2631-x

Références bibliographiques

- Mezquida E.T., Rodríguez-García E. & Olano J.M.,** 2016. Efficiency of pollination and satiation of predators determine reproductive output in Iberian *Juniperus thurifera* woodlands. *Plant Biology* **18** (1): 147–155. DOI: 10.1111/plb.12338
- Milberg P. & Andersson L.,** 1998. Does cold stratification level out differences in seed germinability between populations? *Plant Ecology* **134** (2): 225–234.
- Mir R.R., Hiremath P.J., Riera-Lizarazu O. & Varshney R.K.,** 2013. Evolving Molecular Marker Technologies in Plants: From RFLPs to GBS. Pp. 229–247. *In: Lübbert T., Varshney R.K. (eds). Diagnostics in Plant Breeding.* Springer Netherlands, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-94-007-5687-8_11
- Mng'omba S.A., Toit E.S. du, Akinnifesi F.K. & Venter H.M.,** 2007. Histological Evaluation of Early Graft Compatibility in *Uapaca kirkiana* Müell Arg. Scion/Stock Combinations. *HortScience* **42** (3): 732–736. DOI: 10.21273/HORTSCI.42.3.732
- Montès N.,** 1999. Potentialités, dynamique et gestion d'une formation arborée à genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) des atlas marocains: le cas de la vallée de l'Azzaden. Université Toulouse Le Mirail.
- Montesinos D., García-Fayos P. & Verdú M.,** 2010. Relictual distribution reaches the top: Elevation constrains fertility and leaf longevity in *Juniperus thurifera*. *Acta Oecologica* **36** (1): 120–125. DOI: 10.1016/j.actao.2009.10.010
- Morsli A., Tahar S., Lellouchi M., Titouh k., Amiali M., Benmazhar H., Benslimani N., Khelifi-Slaoui M. & Khelifi L.,** 2015. New advances in the regeneration of Algerian thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.) trees. *Wulfenia* **22** (6): 429–444.
- Mumford P.M.** 1990. Dormancy break in seeds of *Impatiens glandulifera* Royle. *New Phytologist* **115** (1): 171–175. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1990.tb00935.x
- Nasr S.H., Modanloo S., Jalilvand H. & Mofidabadi A.J.,** 2007. Seed dormancy breakage of recalcitrant yew species (*Taxus baccata* L.) using embryo culture. *J Biosci* **7**: 781–785.
- Necajeva J. & Ievinsh G.,** 2013. Seed dormancy and germination of an endangered coastal plant *Eryngium maritimum* (Apiaceae). *Estonian Journal of Ecology* **62** (2): 150p. DOI: 10.3176/eco.2013.2.06
- Negi P.S. & Sharma S.,** 2017. Effect of Pre-Sowing Treatments on Seed Germination and Seedling Vigour Index of *Juniperus polycarpus* C. Koch. *Indian Forester* **143** (7): 648-652–652.
- Nei M.,** 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **70** (12): 3321–3323. DOI: 10.1073/pnas.70.12.3321
- Nei M.,** 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia University Press. Columbia University Press, Columbia, 526p.
- Neri-Soto A.V., Chávez-Simental J.A., Corral-Rivas J.J., Montiel-Antuna E. & Rubio-Graciano R.B.,** 2015. *In Vitro* germination of *Picea Chihuahuana* in different culture media and light conditions. *In Vitro* **2** (11).
- Nieto Feliner G.,** 2014. Patterns and processes in plant phylogeography in the Mediterranean Basin. A review. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **16** (5): 265–278. DOI: 10.1016/j.ppees.2014.07.002
- Obbard D.J., Harris S.A. & Pannell J.R.,** 2006. Simple allelic-phenotype diversity and differentiation statistics for allopolyploids. *Heredity* **97** (4): 296–303. DOI: 10.1038/sj.hdy.6800862

Références bibliographiques

- Oja H.**, 2007. Introduction to clustering large and high-dimensional data by jacob kogan. *International Statistical Review* **75** (3): 434–435. DOI: 10.1111/j.1751-5823.2007.00030_27.x
- Orr H.A. & Unckless R.L.**, 2014. The Population Genetics of Evolutionary Rescue. *PLoS Genetics* **10** (8): e1004551. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004551
- Ortiz P.L., Arista M. & Talavera S.**, 1998. Low Reproductive Success in Two Subspecies of *Juniperus oxycedrus* L. *International Journal of Plant Sciences* **159** (5): 843–847. DOI: 10.1086/297605
- Ouhammou A., Hafidi M., Zarik L. & Khoulassa S.**, 2013. Gestion et conservation des thuriféraires au Maroc: cas du Parc national du Toubkal. *Ecologia mediterranea* **39** (1): 1.
- Ould Maamar I., Saadi H.** 2015. Étude morphométrique des galbules et graines de Genévrier thurifère et induction de la germination *in vitro* sur milieux liquide et solide. *Mem. Ing., ENSA, Alger*, 89p.
- Pan M.J. & Staden J.**, 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture. *Plant Growth Regulation* **26** (3): 155–163. DOI: 10.1023/A:1006119015972
- Paschou P., Ziv E., Burchard E.G., et al.** 2007. PCA-correlated SNPs for structure identification in worldwide human populations. *Plos genetics* **3** (9): 1672–1686. DOI: 10.1371/journal.pgen.0030160
- Pastori G.M., Kiddle G., Antoniw J., Choudhry S., Rodriguez-Cintron W., Mahoney M.W. & Drineas P.**, 2003. Leaf Vitamin C Contents Modulate Plant Defense Transcripts and Regulate Genes That Control Development through Hormone Signaling. *The Plant Cell* **15** (4): 939–951. DOI: 10.1105/tpc.010538
- Patten M.A. & Smith-Patten B.D.**, 2008. Biogeographical boundaries and Monmonier's algorithm: a case study in the northern Neotropics. *Journal of Biogeography* **35** (3): 407–416. DOI: 10.1111/j.1365-2699.2007.01831.x
- Patterson N., Price A.L. & Reich D.**, 2006. Population Structure and Eigenanalysis. *Plos Genetics* **2** (12): e190. DOI: 10.1371/journal.pgen.0020190
- Petit R.J., Brewer S., Bordács S., Burg K., Cheddadi R., Coart E., Cottrell J., Csaikl U.M., van Dam B., Deans J.D., Espinel S., Fineschi S., Finkeldey R., Glaz I., Goicoechea P.G., Jensen J.S., König A.O., Lowe A.J., Madsen S.F., Mátyás G., Munro R.C., Popescu F., Slade D., Tabbener H., de Vries S.G.M., Ziegenhagen B., de Beaulieu J-L. & Kremer A.**, 2002. Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management* **156** (1–3): 49–74. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00634-X
- Philip N.**, 2011. Génétique des populations. Département de génétique médicale, Marseille.
- Phillips S.J., Dudík M. & Schapire R.E.**, 2004. A maximum entropy approach to species distribution modeling. Twenty-first international conference on Machine learning - ICML '04. ACM Press, Banff, Alberta, Canada, 83p. DOI: 10.1145/1015330.1015412
- Pierik R.L.M.**, 1997. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Springer Netherlands, The Netherlands, 344p.
- Pinna M.S., Mattana E., Cañadas E.M. & Bacchetta G.**, 2014. Effects of pre-treatments and temperature on seed viability and germination of *Juniperus macrocarpa* Sm. *Comptes Rendus Biologies* **337** (5): 338–344. DOI: 10.1016/j.crv.2014.03.001
- Pitel F. & Riquet J.**, 2000. Les marqueurs anonymes et la détection de leur polymorphisme. Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales. INRA Prod. Anim., Castanet-Tolosan: 29–35.

Références bibliographiques

- Popov S.V., Rögl F., Rozanov A.Y., Steininger F.F., Shcherba I.G. & Kovac M.,** 2004. Lithological-Paleogeographic maps of Paratethys-10 maps Late Eocene to Pliocene. https://www.schweizerbart.de/publications/detail/isbn/9783510613700/Lithological_Paleogeographic_maps_of_Paratethys_10.
- Prescott A.G. & John P.,** 1996. DIOXYGENASES: Molecular Structure and Role in Plant Metabolism. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology **47** (1): 245–271. DOI: 10.1146/annurev.arplant.47.1.245
- Price A.L., Patterson N.J., Plenge R.M., Weinblatt M.E., Shadick N.A. & Reich D.,** 2006. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. Nature Genetics **38** (8): 904–909. DOI: 10.1038/ng1847
- Prins H. & Maghembe J.A.,** 1994. Germination studies on seed of fruit trees indigenous to Malawi. Forest Ecology and Management **64** (2–3): 111–125.
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P.,** 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics **155** (2): 945–959.
- QGIS Development Team,** 2012. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project.
- Quezel P. & Gast M.,** 1998. Genévrier. Encyclopédie Berbère **20**: 3016–3023.
- Quézel P. & Santa S.,** 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1170p.
- R Core Team,** 2013. R: A language and environment for statistical computing.
- Raven J.A.,** 1977. H⁺ and Ca²⁺ in phloem and symplast: relation of relative immobility of the ions to the cytoplasmic nature of the transport paths. New Phytologist **79** (3): 465–480.
- Richardson J.E., Chatrou L.W., Mols J.B., Erkens R.H.J. & Pirie M.D.,** 2004. Historical biogeography of two cosmopolitan families of flowering plants: Annonaceae and Rhamnaceae. Royal Society of London. Philosophical Transactions, Biological Sciences, 359 (1450): 1495–1508.
- Riquet J., Pitel F.** 2000. Les techniques de base de la génétique moléculaire. Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales. INRA Prod. Anim., Castanet-Tolosan: 29–35.
- Rivas-Martínez S., Rivas-Saenz S. & Penas A.,** 2002. Worldwide bioclimatic classification system. Backhuys Pub.
- Rodríguez García E., Mezquida E.T. & Olano J.M.,** 2017. You'd better walk alone: Changes in forest composition affect pollination efficiency and pre-dispersal cone damage in Iberian *Juniperus thurifera* forests. Plant Biology **19** (6): 934–941. DOI: 10.1111/plb.12613
- Rodríguez-García E., Olano J.M., Leroux O. & Mezquida E.T.,** 2019. Deciphering the role of reproductive investment, pollination success and predispersal seed predation on reproductive output in *Juniperus thurifera*. Plant Ecology & Diversity **12** (1): 37–49. DOI: 10.1080/17550874.2018.1549119
- Rodríguez-sanchez F., Perezbarrales R., Ojeda F., Vargas P. & Arroyo J.,** 2008. The Strait of Gibraltar as a melting pot for plant biodiversity. Quaternary Science Reviews **27** (23–24): 2100–2117. DOI: 10.1016/j.quascirev.2008.08.006
- Romo A. & Boratyński A.,** 2007. Nomenclatural note on *Juniperus thurifera* subsp. *africana* (Cupressaceae). Annales Botanici Fennici. JSTOR: 72–75.

Références bibliographiques

- Romo A., Hidalgo O., Boratyński A., Sobierajska K., Jasińska A.K., Vallès J. & Garnatje T.,** 2013. Genome size and ploidy levels in highly fragmented habitats: the case of western Mediterranean *Juniperus* (*Cupressaceae*) with special emphasis on *J. thurifera* L. *Tree Genetics & Genomes* **9** (2): 587–599. DOI: 10.1007/s11295-012-0581-9
- Romo A. & Boratyński A.,** 2005. Chorology of *Juniperus thurifera* (*Cupressaceae*) in Morocco. *Dendrobiology* **54**: 41–50.
- Roques A., Cambecèdes J., Fallour-Rubio D., Raimbault J-P., Lorme P. & Auger-Rozenberg M-A.,** 2013. Elimination of cone and seed pests by wildfire opened a five-year regeneration window in a non-regenerating incense-juniper (*Juniperus thurifera* L.) stand. *Ecologia-mediterranea* **39** (1): 89–98.
- Rosenbaum G., Lister G.S. & Duboz C.,** 2002. Reconstruction of the tectonic evolution of the Western Mediterranean since the Oligocene. *J Virtual Expl* **8**: 107–130.
- Sánchez-Gómez P., Jiménez J.F., Cánovas J.L., Vera J.B., Hensen I. & Aouissat M.,** 2018. Genetic structure and phylogeography of *Juniperus phoenicea* complex throughout Mediterranean and Macaronesian regions: different stories in one. *Annals of Forest Science* **75** (3): 75. DOI: 10.1007/s13595-018-0741-7
- Sánchez-Robles J.M., Balao F., Terrab A., García-Castaño J.L., Ortiz M.A., Vela E. & Talavera S.,** 2014. Phylogeography of SW Mediterranean firs: Different European origins for the North African *Abies* species. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **79**: 42–53. DOI: 10.1016/j.ympev.2014.06.005
- Sang Y.L., Cheng Z.J. & Zhang X.S.,** 2016. Endogenous auxin biosynthesis and “de novo” root organogenesis. *Journal of Experimental Botany* **67** (14): 4011–4013. DOI: 10.1093/jxb/erw250
- Sayanika Devi W., Bengyella L. & Sharma G.J.,** 2012. *In vitro* seed germination and micropropagation of Edible Bamboo *Dendrocalamus giganteus* Munro using Seeds. *Biotechnology*: 7. DOI: 10.3923/biotech.2012
- Schibler D., Vaiman D. & Crihiu E.P.,** 2000. Origine du polymorphisme de l'ADN. Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales. INRA Prod. Anim., Castanet-Tolosan: 29–35.
- Scobeyeva V.A., Omelchenko D.O., Dyakov L.M., Konovalov A.S., Speranskaya A.S. & Krinitsina A.A.,** 2018. Comparison of Some Plant DNA Extraction Methods. *Russian Journal of Genetics* **54** (5): 576–586. DOI: 10.1134/S1022795418050095
- Sedghifar A., Saelao P. & Begun D.J.,** 2016. Genomic patterns of geographic differentiation in *Drosophila simulans*. *Genetics* **202** (3): 1229–1240. DOI: 10.1534/genetics.115.185496
- Şekiewicz K., Dering M., Romo A., Dagher-Kharrat M.B., Boratyńska K., Ok T. & Boratyński A.,** 2018. Phylogenetic and biogeographic insights into long-lived Mediterranean *Cupressus taxa* with a schizo-endemic distribution and *Tertiary origin*. *Botanical Journal of the Linnean Society* **188** (2): 190–212. DOI: 10.1093/botlinnean/boy049
- Serre J.-L.,** 2006. Génétique des populations. DUNOD, Paris, 280p.
- Sfairi Y., Lahcen O., Feddy M.N.A. & Abbad A.,** 2012. Dormancy-breaking and salinity/water stress effects on seed germination of Atlas cypress, an endemic and threatened coniferous species in Morocco. *African Journal of Biotechnology* **11** (19): 4385–4390. DOI: 10.5897/AJB11.3271
- Soltani A.,** 2003. Improvement of seed germination of *Fagus orientalis* Lipsky. Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå, 19p.

Références bibliographiques

- Stoehr M.U., El-Kassaby Y.A. & Kermodé A.R.**, 2011. Challenges facing the forest industry in relation to seed dormancy and seed quality. *Seed Dormancy Methods and Protocols*, Springer Science+Business Media. Department of Biological Sciences, Simon Fraser University, Burnaby, BC, Canada 773: 3–15.
- Sunnucks N.**, 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution* **15** (5): 199–203.
- Tahar S.** 2013. Premier essai de multiplication du genévrier thurifère “*Juniperus thurifera* L.var.*africana* M.” *in vitro*. Mem. Ing., ENSA, Alger, 52p.
- Taib A., Morsli A., Chojnacka A., Walas Ł, Sękiewicz K, Boratyński A, Romo À. & Dering M.**, 2020. Patterns of genetic diversity in North Africa: Moroccan-Algerian genetic split in *Juniperus thurifera* subsp. *africana*. *Scientific Reports* **10** (1): 1–17. DOI: 10.1038/s41598-020-61525-x
- Tanaka Y., Duryea M.L. & Landis T.D.**, 1984. Assuring seed quality for seedling production: cone collection and seed processing, testing, storage, and stratification. *Forest Nursery Manual: Production of Bareroot Seedlings*: 27–39.
- Tauer P.K.**, 2010. Strategies for successful germination of rocky mountain *Juniper* (*Juniperus scopulorum* Sarg.) in an Oklahoma Nursery. Thèse de Doctorat, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, 65p
- Teixeira H., Rodríguez-Echeverría S. & Nabais C.**, 2014. Genetic diversity and differentiation of *Juniperus thurifera* in Spain and Morocco as determined by SSR. *PloS One* **9** (2): 1-7. DOI: 10.1371/journal.pone.0088996
- Terrab A., Hampe A., Lepais O., et al.** 2008a. Phylogeography of North African Atlas cedar (*Cedrus atlantica*, Pinaceae): Combined molecular and fossil data reveal a complex Quaternary history. *American Journal of Botany* **95** (10): 1262–1269. DOI: 10.3732/ajb.0800010
- Terrab A., Schönswetter P., Talavera S., Talavera S., Vela E. & Stuessy T.F.**, 2008b. Range-wide phylogeography of *Juniperus thurifera* L., a presumptive keystone species of western Mediterranean vegetation during cold stages of the Pleistocene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **48** (1): 94–102. DOI: 10.1016/j.ympev.2008.03.018
- Thorpe T.A. & Yeung E.C.**, 2011. *Plant Embryo Culture: Methods and Protocols*. Humana Press 710: 380p.
- Tigabu M., Fjellström J., Odén P.C. & Teketay D.**, 2007. Germination of *Juniperus procera* seeds in response to stratification and smoke treatments, and detection of insect-damaged seeds with VIS + NIR spectroscopy. *New Forests* **33** (2): 155–169. DOI: 10.1007/s11056-006-9020-9
- Tylkowski T.** 2010. Dormancy breaking in Savin juniper (*Juniperus sabina* L.) seeds. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **79** (1): 3.
- UCIN.** 2001. Etude d’Elevage et du Pastoralisme au sein du Parc National de Belezma (Genévrier thurifère). UCIN.
- IUCN.** 2019. The IUCN Red List of Threatened Species. In: IUCN Red List of Threatened Species. . <https://www.iucnredlist.org/en>.
- Valderrábano M., Gil T., Heywood V. & de Montmollin B.**, 2018. Conserving wild plants in the south and east Mediterranean region, Gland, Switzerland and Málaga. Spain: IUCN.

Références bibliographiques

- Vela E. & Schäfer P.A.**, 2013. Typification de *Juniperus thurifera* var. *africana* Maire, délimitation taxonomique et conséquences nomenclaturales sur le Genévrier thurifère d'Algérie. *ecologia mediterranea* **39**: 69–80.
- Veulle M.**, 2016. Polymorphisme génétique et variation. <https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/polymorphisme-genetique-variation/>.
- Villar L.**, 2013. Le Genévrier thurifère, vieil arbre compagnon de l'homme en Méditerranée occidentale “The incense juniper, an old and very useful tree for man in western Mediterranean area.” *Ecologia mediterranea* **39** (1): 7-15.
- Walas Ł., Sobierajska K., Ok T., Dönmez A.A., Kanoğlu S.S., Dagher-Kharrat M.B., Douaihy B., Romo A., Stephan J., Jasińska A.K. & Boratyński A.**, 2019. Past, present, and future geographic range of an oro-Mediterranean Tertiary relict: The *Juniperus drupacea* case study. *Regional Environmental Change* **19** (5): 1507–1520. DOI: 10.1007/s10113-019-01489-5
- Wan D.-S., Feng J.-J., Jiang D.-C., Mao K.-S., Duan Y.-W., Miede G. & Opgenoorth L.**, 2016. The quaternary evolutionary history, potential distribution dynamics, and conservation implications for a Qinghai-Tibet Plateau endemic herbaceous perennial, *Anisodus tanguticus* (Solanaceae). *Ecology and Evolution* **6** (7): 1977–1995. DOI: 10.1002/ece3.2019
- Wang Z., Chang Y. C. I., Ying Z., et al.** 2007. A parsimonious threshold-independent protein feature selection method through the area under receiver operating characteristic curve. *Bioinformatics* **23** (20): 2788–2794. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm442
- Weir B.S. & Cockerham C.C.**, 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution* **38** (6): 1358. DOI: 10.2307/2408641
- Wesche K., Ronnenberg K. & Hensen I.**, 2005. Lack of sexual reproduction within mountain steppe populations of the clonal shrub *Juniperus sabina* L. in semi-arid southern Mongolia. *Journal of Arid Environments* **63**: 390–405.
- Xu T.-T., Wang Q., Olson M.S., Li Z.-H., Miao N. & Mao K.-S.**, 2017. Allopatric divergence, demographic history, and conservation implications of an endangered conifer *Cupressus chengiana* in the eastern Qinghai-Tibet Plateau. *Tree Genetics & Genomes* **13** (5): 100. DOI: 10.1007/s11295-017-1183-3
- Ye N., Zhu G., Liu Y., Zhang A., Li Y., Liu R., Shi L., Jia L. & Zhang J.**, 2012. Ascorbic acid and reactive oxygen species are involved in the inhibition of seed germination by abscisic acid in rice seeds. *Journal of experimental botany* **63** (5): 1809–1822.
- Youssef S., Lahcen O. & Abdelaziz A.**, 2012. Breaking seed dormancy in *Cupressus atlantica* Gaussen, an endemic and threatened coniferous tree in Morocco. *Journal of forestry research* **23** (3): 385–390.
- Yücel E. & Yılmaz G.**, 2009. Effects of Different Alkaline Metal Salts (NaCl, KNO₃), Acid Concentrations (H₂SO₄) and Growth Regulator (GA₃) on the Germination of *Salvia cyanescens* Boiss. & Bal. Seeds. *G.U. Journal of Science* **22** (3): 123–127.
- Zarek M.**, 2007. A practical method for overcoming the dormancy of *Taxus baccata* isolated embryos under *in vitro* conditions. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* **43** (6): 623–630. DOI: 10.1007/s11627-007-9064-3
- Zeraib A.** 2018. Etude phytochimique et chimio systématique de *Juniperus thurifera* L. En Algérie. Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Sétif, 154p.

Références bibliographiques

Zeraib A., Ramdani M., Boudjedjou L., Chalard P. & Figuredo G., 2014. Characterization and chemosystematics of Algerian thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality* **87**: 249–255. DOI: 10.5073/JABFQ.2014.087.035

Zheng Y.L. & Sun W.B., 2009. Seed germination of Huagaimu, a critically endangered plant endemic to southeastern yunnan, China. *HortTechnology* **19** (2): 427–431. DOI: 10.21273/HORTSCI.19.2.427

Zhou Z. & Bao W., 2011. Levels of physiological dormancy and methods for improving seed germination of four rose species. *Scientia Horticulturae* **129** (4): 818–824. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.04.024

Ziani S., 2014. Multiplication de l'Arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) par vitro semis, microbouturage, microgreffage, organogenèse et/ou embryogenèse somatique. Mémoire Magistere, Université Hassiba Ben Bouali, Chlef, 57p.

Zine El Abidine A., TOURE S. & Ammari Y. 2003. La germination des graines du genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L.) en relation avec sa diversité écotypique au Maroc en vue de sa valorisation dans les reboisements de conservation en Afrique du Nord. XIIe Congrès forestier Mondial, Québec, Canada.

Zryd J.P., 1988. Méthodologie générale. Culture de cellules et organes végétaux : Fondements théoriques et utilisations pratiques, Presse polytechnique Romande: 3–11.

Les annexes

Annexes

Annexe 01: Polymorphisme des locus nSSR spécifiques de *Juniperus thurifera*.

Locus	Séquences d'amorces 5' - 3'	Motif répété	A	A_e	H_s
JT_01	AATCCATCACATGCCATCTTT CCCTCATAAGAATCAATGAGATCC	TA ₆	30	6.273	0.851
JT_04	CCAAGGAATGATCTAACCTTTGAA TGGGATGCATATCTTATCTTCCT	AGA ₇	12	1.908	0.482
JT_30	AATCCCCTATCCTTGCCAGT TCAACAATATCAGCAAGTAATGAGA	TCT ₁₀	14	4.927	0.806
JT_33	GAGCTTCCTTTGTAGATTTTGGG GTAAGAAGACACCACTCAGTCGAT	CT ₁₁	44	10.154	0.912
JT_40	GGCCGCATGATCCATTACT TCGTAACGTAATGACATGTATAGTGC	CA ₂₀	27	5.115	0.814
JT_46	TGAGATCACCTACTTCCTAGTGGA CCACCAAGGGCATAGAGTTC	AGG ₇	17	4.158	0.768
			24		
			Moyenne	(144)	5.423
					0.772

Abréviation: A -Nombre d'allèles observés; A_e -Nombre effectif d'allèles; H_s -Hétérozygotie au sein des populations; entre parenthèses - nombre moyen d'allèles observée

Annexes

Annexe 03 : Les groupes homogènes d'après le teste de Duncun formé en fonction de développement des vitroplants de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*.

```
duncan.test(a1,"Milieux", alpha = 0.05, group = TRUE, main = NULL, console = FALSE)
> d1
$statistics
  MSerror Df      Mean      CV
  90.13631 440 6.629787 143.2024
$parameters
  test name.t ntr alpha
  Duncan Milieux 30 0.05
$duncan
NULL

  Nombre groups
A0 19.3571429 a
A16 18.2307692 a
A20 14.5555556 ab
A17 14.5384615 ab
A29 13.7777778 ab
A14 11.8235294 abc
A3 9.6428571 bcd
A27 8.9285714 bcde
A21 8.6666667 bcde
A4 8.1333333 bcde
A5 7.7142857 bcde
A18 7.3888889 bcde
A26 6.5555556 bcde
A12 5.7500000 cde
A6 4.6428571 cde
A8 4.2000000 cde
A9 4.0625000 cde
A13 3.6000000 de
A2 3.4615385 de
A28 3.4285714 de
A19 3.1764706 de
A11 3.1666667 de
A10 3.0555556 de
A7 3.0000000 de
A24 2.9375000 de
A1 2.9285714 de
A25 2.5000000 de
A15 0.8571429 e
A22 0.8125000 e
A23 0.6666667 e

attr(,"class")
[1] "group"
```

Annexes

Annexe 04: Les groupes homogènes d'après le teste de Duncun en fonction du nombre moyen des feuilles des vitroplants de *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*.

```
$statistics
  MSerror Df      Mean      CV
1506.428 440 27.72766 139.9784
```

```
$parameters
  test name.t ntr alpha
Duncan Milieux 30 0.05
```

```
$duncan
NULL
```

```
$groups
  Taille groups
A0 150.71429 a
A29 53.61111 b
A9 50.56250 bc
A16 47.15385 bcd
A8 37.66667 bcde
A17 37.15385 bcde
A4 33.46667 bcde
A11 31.61111 bcde
A6 28.85714 bcde
A12 27.25000 bcde
A20 25.22222 bcde
A7 25.18750 bcde
A26 25.00000 bcde
A10 23.55556 bcde
A13 22.13333 bcde
A5 21.42857 bcde
A21 20.55556 bcde
A18 19.00000 cde
A19 18.64706 cde
A27 15.14286 de
A23 14.66667 de
A2 14.07692 de
A1 14.07143 de
A3 13.78571 de
A14 13.58824 de
A22 13.25000 de
A15 12.78571 de
A25 11.50000 e
A24 11.31250 e
A28 10.57143 e
```

```
attr("class")
[1] "group"
```

Annexes

Annexe 05: Composition chimique du milieu de culture DCR (Gupta et Durzan, 1985):

Le milieu de culture		Solutions mères
Macro éléments	Concentration (mg/l)	Concentration 20 fois (mg/l)
NH ₄ NO ₃	400	8000
KNO ₃	340	6800
CaCl ₂ ×2H ₂ O	85	1700
Ca(NO ₃) ₂ ×4H ₂ O	556	11120
MgSO ₄ ×7H ₂ O	370	7400
KH ₂ PO ₄	170	3400
Micro éléments	Concentration (mg/l)	Concentration 100fois (mg/l)
KI	0.83	83
H ₃ BO ₃	6.20	620
MnSO ₄ ×H ₂ O	22.30	2230
ZnSO ₄ ×7H ₂ O	86.5	8650
Na ₂ MoO ₄ ×2H ₂ O	0.25	25
CuSO ₄ ×5H ₂ O	0.25	25
CoCl ₂ ×6H ₂ O	0.03	3
Na ₂ ×EDTA	37.30	3730
FeSO ₄ ×7H ₂ O	27.80	2780
Vitamines	Concentration (mg/l)	Concentration 100 fois (mg/l)
Nicotinicacid	0.5	50
Pyridoxine	0.5	50
Thiamine HCl	2.0	200
Glutamine	50.0	5000

Résumés

Résumé :

Juniperus thurifera est un élément clé dans les zones arides et semi-arides de la Méditerranée occidentale. Les études précédentes de la génétique et de la morphologie ont suggéré que les populations algériennes sont génétiquement plus similaires aux populations européennes qu'aux marocaines et préconisaient leur reconnaissance en variété. Nous avons étudié la structure génétique spatiale de *J. thurifera* pour vérifier le caractère distinct de la population algérienne. Nous avons également modélisé la répartition des espèces depuis le Eémien pour reconnaître l'impact des changements climatiques passés sur le modèle actuel de la diversité et de prévoir les changements possibles dans la distribution des espèces à l'avenir. Les microsatellites spécifiques aux espèces ont été utilisés dans l'analyse des 11 populations de l'Algérie, le Maroc et l'Europe. Nous avons mis en évidence la spécificité génétique importante des populations algériennes des stands marocains et européens qui peuvent avoir d'importantes répercussions sur la taxonomie et la conservation. Le modèle de la diversité a révélé pour *J. thurifera* le grand écart génétique est-ouest signalés chez certains taxons de plantes d'Afrique du Nord et des animaux et suggère un impact des processus historiques partagés. En outre, la modélisation de la distribution nous a permis d'identifier les refuges glaciaires possibles et leur impact sur le modèle moderne de différenciation dans *J. thurifera*. La réduction de l'occurrence de l'espèce, en particulier dans le domaine européen, est possible selon les projections futures de la distribution des espèces.

Une étude biométrique des galbules et graines de *J. thurifera* de la région des Aurès a été effectuée pour déterminer la différenciation morphologique au sein des populations algérienne suivie d'une évaluation de l'état sanitaire des galbules. La totalité des galbules sont parasités à l'exception des galbules prévenant de ZANA qui présente un taux élevé des galbules saines. Par contre, les graines de T'Kout présentent le pourcentage de graines susceptibles de germer le plus élevé (48,1%). Dans la présente étude, la germination des graines du genévrier thurifère est achevée selon deux méthodes ; culture d'embryons isolés et par prétraitement des endospermes. Les prétraitements réalisés sur les endospermes blanchâtres ont donné des taux de germination variables entre $2,50 \pm 3,54$ % et $60,00 \pm 28,28$ %. Les plantules issues des prétraitements sont plantées dans des pots. D'un autre côté, l'induction de germination *in vitro* des embryons isolés est effectuée sur milieu DCR solidifié par l'agar. La germination commence au 4ème jour de culture. Les embryons isolés cultivés sur milieu DCR et supplémenté avec différentes hormones (GA_3 , AIB, BAP et DTZ) et antioxydants (charbon actif et acide ascorbique) ont donné des taux de germination de 50 % à 100 %. Le développement des vitroplants est très remarquable dans le milieu DCR sans aucun additif, l'association de l'acide ascorbique et des hormones n'est pas favorable au développement des vitroplants, comme ces derniers sont complètement transformés en cals. Le temps moyen de germination est de 6 à 13 jours en fonction du milieu de culture.

Mots clés : Analyse génétique, analyse géographique, germination, prétraitements, culture *in vitro*.

Abstract:

Juniperus thurifera is a key element of the forest communities in arid and semi-arid areas of the western Mediterranean. Previous genetic and morphological investigations suggested that Algerian populations are genetically more similar to European than to Moroccan populations and advocated their recognition at the variety rank. We aimed to investigate the spatial genetic structure in *J. thurifera* to verify the distinct character of the Algerian population in terms of the genetic breaks reported among several North African taxa. We also modelled species distributions since the Eemian to recognise the impact of past climatic changes on the current pattern of diversity and predict possible changes in species distribution in the future. Species-specific microsatellites were used in the analysis of 11 populations from Algeria, Morocco and Europe. We revealed the significant genetic distinctiveness of the Algerian populations from the Moroccan and European stands that may have important taxonomic and conservation implications. The diversity pattern revealed for *J. thurifera* reflects the east-west genetic splits reported among some North African plant and animal taxa and suggests an impact of shared historical processes. Additionally, modelling of the distribution allowed us to identify possible glacial refugia and their impact on the modern pattern of differentiation in *J. thurifera*. Reduction of species occurrence, especially in the European domain, is likely according to the future projections of the species distribution.

A biometric study of cones and seeds of *J. thurifera* from the Aures region is performed to conclude the morphological differentiation within the Algerian populations followed by an assessment of the health status of cones. Cones are parasitized in all populations except ZANA which have a high rate of healthy cones. Seeds from T'kout have the highest percentage of seeds likely to germinate (48.1%). In the present study, the germination of *J. thurifera* seeds is completed by two methods: the culture of isolated embryos and endosperm preprocessing. Pretreatments made on white endosperm have given a variable germination rate between $2.50\% \pm 3.54\%$ and $60.00 \pm 28.28\%$. The plantlets are planted in pots. On the other hand, the induction of germination of isolated embryos is performed on DCR medium solidified by agar. Germination begins on the 4th day of culture. Isolated embryos cultured on DCR medium, supplemented with various hormones (GA_3 , AIB, BAP, and DTZ) and antioxidants (ascorbic acid and activated carbon), have given the germination rate of 50% to 100%. The development of cultured plants is very remarkable in the DCR medium without any additives. The combination of ascorbic acid and hormones are not favorable to the development of cultured plants, since the latter completely turned into calluses. The average germination time is 6 to 13 days depending on the culture medium.

Key words: Genetic analysis, geographic analysis, germination, pretreatments, *in vitro* culture.

الملخص:

العرعار البخاري مكون رئيسي في المناطق القاحلة وشبه القاحلة في غرب البحر الأبيض المتوسط. اقترحت الدراسات السابقة لعلم الوراثة والتشكل أن اشجار العرعار البخاري الجزائرية أكثر تشابهاً وراثياً مع السكان الأوروبيين من السكان المغاربة ودعت إلى الاعتراف بهم في مجموعة متنوعة. لقد درسنا التركيب الجيني المكاني للعرعار البخاري للتحقق من تميز الأشجار الجزائرية. قمنا أيضاً بنمذجة توزيع الأنواع من اليمين للتعرف على تأثير التغيرات المناخية السابقة على النمط الحالي للتنوع والتنبؤ بالتغيرات المحتملة في توزيع الأنواع في المستقبل.

استخدمت السوائل الدقيقة الخاصة بالأنواع في تحليل 11 تجمعات لأشجار العرعار البخاري من الجزائر والمغرب وأوروبا. لقد سلطنا الضوء على الخصوصية الجينية المهمة للسكان الجزائريين في المدرجات المغربية والأوروبية والتي يمكن أن يكون لها تداعيات مهمة على التصنيف والحفظ. كشف نموذج التنوع للعرعار البخاري عن الفجوة الوراثية الكبيرة بين الشرق والغرب التي تم الإبلاغ عنها في بعض الأصناف النباتية والحيوانية في شمال إفريقيا ويقترح تأثير العمليات التاريخية المشتركة. بالإضافة إلى ذلك، سمحت لنا نمذجة التوزيع بتحديد ملاجئ جليدية محتملة وتأثيرها على النموذج الحديث للتمايز في العرعار البخاري. الحد من توزيع الأنواع، ولا سيما في المجال الأوروبي، ممكن وفقاً للتوقعات المستقبلية.

تم إجراء دراسة بيومترية عن اقماع وبذور العرعار البخاري من منطقة الأوراس لتحديد التمايز المورفولوجي بين اشجار العرعار البخاري الجزائرية، متبوعاً بتقييم حالتهم. يتم التطفل على جميع التي تنحدر من ثنية العابد التي لديها معدل مرتفع من الاقماع المعافات من اي طفيليات. في المقابل، تحتوي بذور تكوت على أعلى باستثناء نسبة من البذور المحتمل أن تنبت (48.1%).

في هذه الدراسة، اكتمل إنبات بذور العرعار البخاري بطريقتين؛ زراعة الأجنة المعزولة والمعالجة المسبقة للسويداء. أعطت المعالجات التي أجريت على السويداء البيضاء معدلات إنبات متغيرة تتراوح بين $2.50 \pm 3.54\%$ و $60.00 \pm 28.28\%$. تزرع الشتلات الناتجة عن المعالجة المسبقة في أصص. من ناحية أخرى، يتم تحريض الإنبات في المختبر للأجنة المعزولة في وسط DCR صلب. يبدأ الإنبات في اليوم الرابع للزراعة.

الحيوي والمدعومة بهرمونات مختلفة ومضادات الأكسدة (الكربون المنشط وحمض الأسكوربيك) معدلات إنبات من 50% إلى أعطت الأجنة المعزولة المزروعة على وسط 100%.

إن تطور نباتات زراعة الأنسجة ملحوظ جداً في وسط الحيوي بدون أي إضافات، ولا يعد الجمع بين حمض الأسكوربيك والهرمونات مناسباً لتنمية نباتات الأنسجة. متوسط وقت الإنبات هو 6 إلى 13 يوماً اعتماداً على وسط الاستزراع الكلمات المفتاحية: التحليل الجيني، التحليل الجغرافي، الإنبات، المعالجة المسبقة للسويداء، الزراعة الزجاجية.