

Évaluation de la structure et de la variabilité génétiques des populations naturelles du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) au Maroc à l'aide de marqueurs isoenzymatiques

par Nadya Wahid^(1,2), Hicham Jouidre⁽²⁾, Mohammed S. Lamhamedi⁽³⁾, Abdenbi Zine El Abidine⁽⁴⁾ et Adelali Boulli⁽²⁾

(1) Université Laval, département des sciences du bois et de la forêt, Pavillon Abitibi-Price, Bureau 3171, 2405 rue de la Terrasse, Québec (Qc), Canada, G1V0A6

(2) Laboratoire d'analyse et de valorisation des ressources environnementales, département de biologie, Université Cadi Ayyad, Faculté des sciences et techniques de Béni-Mellal, BP 523, 23000 Béni-Mellal, Maroc

(3) Ministère des Ressources naturelles et de la Faune (MRNF), direction de la Recherche forestière (DRF), 2700 rue Einstein, Québec (Qc), Canada, G1P 3W8

(4) École nationale forestière d'ingénieurs (ENFI), BP 511, Salé, Maroc

arrivé le 7 mai 2009, accepté le 22 juillet 2009

Résumé. - Le pin d'Alep a subi une forte dégradation par la surexploitation anthropique et par les changements climatiques. Pour contribuer à sa conservation, nous avons évalué la diversité génétique de 14 populations (Rif, Moyen Atlas, Maroc oriental et Haut Atlas) à l'aide de marqueurs isoenzymatiques. L'analyse génotypique révèle une variabilité génétique moyenne en comparaison avec les autres provenances méditerranéennes. Quant à la diversité génétique, cette étude a montré un coefficient de différenciation interpopulation assez élevé ($F_{st} = 9,5\%$). Sur la base de la distance génétique, on a distingué deux grands groupes dans ces populations marocaines : sud-ouest et nord-est.

Mots clés : pin d'Alep - *Pinus halepensis* Mill. - diversité génétique - structure génétique - marqueurs isoenzymatiques.

Abstract. - Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) is a species threatened by anthropogenic overexploitation due to climate change. To contribute to its conservation, we evaluate the structure and the genetic diversity of the natural pine populations. We studied the genetic diversity of 14 populations (Rif, Middle Atlas, eastern Morocco and High Atlas) using an isoenzymatic marker. The results of the analysis indicated that the genetic variation of pine in Morocco is modest in comparison with other Mediterranean provenances. However, the study revealed a high coefficient of differentiation among populations ($F_{st} = 9.5\%$). Two main population groups were identified based on genetic distances: South-West and North-East.

Key words : Aleppo pine - *Pinus halepensis* Mill. - genetic diversity - structure genetic - isoenzymes markers.

I. INTRODUCTION

La demande en produits ligneux, en parcours et en terres de culture en montagne n'a cessé d'augmenter en Afrique du Nord. Ceci a engendré une pression croissante sur les écosystèmes forestiers, devenus de plus en plus fragiles, qui s'est traduite par la disparition de surfaces importantes de forêts naturelles (Barbero *et al.*, 1990 ; Benabid, 2000). Cette dégradation est plus accentuée dans les écosystèmes forestiers méditerranéens soumis généralement à des contraintes climatiques plus sévères et dont les sols sont plus fragiles et de reconstitution plus lente (M'Hirit, 1999 ; Fady, 2005). Soucieux de conserver le domaine forestier, de restaurer les écosystèmes menacés, de reconstituer ceux qui ont disparu et aussi pour satisfaire les besoins en produits ligneux, le département forestier au Maroc a conduit des programmes nationaux de reboisement depuis les années 1960 (El Yousfi, 2008). De nombreux reboisements ont été aussi réalisés dans le cadre des programmes de défense et de restauration des sols, de production et de récréation. Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) figure parmi les espèces les plus utilisées en raison de sa plasticité écologique, de sa rusticité et de la maîtrise de la production de plants en pépinières forestières et de son intérêt économique non négligeable (El Abid, 1981 ; Boulli, 2001). Les reboisements de pin d'Alep représentent environ 60% du total des résineux reboisés (Anonyme, 2005).

Le pin d'Alep a une aire de répartition circumméditerranéenne qui s'étend essentiellement de la Grèce au Maghreb (Nahal, 1962 ; Bellefontaine & Raggabi, 1977 ; Quézel, 1980). Au Maroc, il s'organise en populations très morcelées aux niveaux des ambiances bioclimatiques semi-aride à subhumide, entre le thermoméditerranéen et le mésoméditerranéen, et depuis la côte méditerranéenne jusqu'au Haut Atlas occidental en passant par le Rif, l'Oriental et le Moyen Atlas (Emberger, 1939 ; Déstremau, 1974 ; Benabid & Fenane, 1994 ; Benabid, 2000). Sur le plan édaphique, les populations du pin d'Alep se développent sur un substrat lithologique très diversifié, mais l'espèce craint le froid et une humidité excessive ; elle figure parmi les espèces résineuses les plus tolérantes à la sécheresse et aux sols calcaires (Barbéro *et al.*, 1998 ; Benabid, 2000). En raison des exploitations humaines abusives et des incendies, la surface naturelle occupée par cette essence a été fortement réduite. À titre d'exemple, la zone rifaine centro-occidentale a subi une régression du couvert forestier de 40 à 60% sur une période de trente ans, avec une déforestation atteignant les 2000 ha/an (Grovel, 1996).

Pour les besoins de reboisement, les graines sont récoltées sur des peuplements semenciers identifiés sur le plan des provenances (Bellefontaine & Raggabi, 1977 ; GTZ, 1997), mais leur caractérisation génétique ainsi que leur potentiel d'adaptation et de résistance aux stress biotiques et abiotiques demeurent inconnus. L'absence de ces informations est d'autant plus problématique que la diversité génétique est au centre des préoccupations actuelles sur l'avenir des forêts face aux changements climatiques qui sont devenus une réalité (Molina-Freaner *et al.*, 2001 ; Vivan *et al.*, 2009). Ces changements vont entraîner des pressions de sélection d'une ampleur et d'une rapidité inédites (Ledig & Kitzmiller, 1992 ; Aussenac, 2002). Or la génétique évolutive nous apprend que la capacité d'adaptation des espèces dépend de leur diversité génétique (Wachowiak *et al.*, 2006 ; Afzal-Rafi *et al.*, 2007). Cependant, la caractérisation des ressources génétiques, la conservation et la mise en valeur de la diversité génétique des écosystèmes naturels au Maroc, incluant l'identification de nouvelles variétés, sont peu exploitées. En effet, il est indispensable de disposer de données sur la génétique et la biologie des espèces forestières en vue de développer une stratégie appropriée de conservation (*in et ex situ*) à long terme et de mettre à

la disposition du reboiseur des graines certifiées, de qualité génétique supérieure capables de s'adapter au climat futur. Même si des essais de comparaison de provenances ont été entrepris depuis longtemps (Bellefontaine & Raggabi, 1977), le pin d'Alep, à l'instar de nombreuses espèces forestières, reste peu étudié sur le plan génétique, notamment l'identification des peuplements et des arbres à forte valeur génétique. Une importante différenciation entre des populations du pin d'Alep au Maroc a été remarquée en se basant sur l'exploration des caractères morphologiques (Boulli *et al.*, 2001) et iso-enzymatiques (Boulli *et al.*, 2003). Cette dernière étude préliminaire du polymorphisme enzymatique entre populations de pin d'Alep, réparties du sud au nord du Maroc, a montré l'existence de phénotypes iso-enzymatiques caractéristiques de chaque groupe de populations. Cependant, une étude plus approfondie en utilisant des systèmes iso-enzymatiques plus neutres permettra une bonne identification et une meilleure caractérisation génétique des différentes populations naturelles. Les résultats obtenus peuvent servir de base pour des études écophysiologiques, phénologiques et dendrologiques permettant d'identifier du matériel génétique pour les besoins des programmes de reboisement, notamment au niveau des zones arides, semi-arides et même sub-humides.

Ainsi, les objectifs assignés au présent travail consistent à i) évaluer la diversité génétique intra et interpopulations naturelles du pin d'Alep au Maroc en utilisant sept systèmes iso-enzymatiques, ii) analyser la structure génétique de ces populations en relation avec leurs conditions écologiques et iii) proposer une stratégie de gestion et de conservation de ressources génétiques propres au pin d'Alep.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Échantillonnage du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé consiste en une collection de cônes de pin d'Alep récoltés au cours de l'été 1999 à partir de forêts naturelles (Boulli, 2001). Le choix des populations a été effectué pour couvrir l'ensemble de l'aire de distribution de l'espèce à l'état naturel définie par Destrémau (1974) et par GTZ (1997). L'échantillonnage a porté sur quatorze populations naturelles réparties dans trois régions biogéographiques différentes (Fig. 1). L'échantillonnage s'étend de la côte méditerranéenne jusqu'au Haut-Atlas occidental avec une altitude qui varie de 400 à 1670 m. Par ailleurs, aucune sélection phénotypique n'a été pratiquée pour éviter de choisir seulement les génotypes les plus adaptés à la sélection naturelle (Boulli, 2001). Dans la très grande majorité des cas, les arbres ont été choisis aléatoirement. Les principales caractéristiques géographiques et climatiques des populations de pin d'Alep échantillonnées sont indiquées dans le tableau I.

Chaque provenance est représentée par un mélange de 40 à 63 cônes récoltés sur des arbres distants d'environ 50 m. Les graines ont été obtenues après séchage naturel des cônes puis conservées à 4 °C.

À partir de chacune des quatorze populations, un mélange de graines germées a été utilisé comme matériel d'extraction. La germination a été réalisée en conditions contrôlées (25 ± 1 °C le jour et 17 ± 1 °C la nuit) sur papier imbibé dans des boîtes de Petri. L'intensité de lumière était de 15 000 lux. Dès qu'il y a eu apparition de la radicule (1 mm environ), les embryons germés ont été utilisés pour l'extraction des enzymes. Un total de 504 génotypes à raison de 36 embryons germés par population a été analysé séparément pour détecter le polymorphisme enzymatique. Seules les graines non contaminées présentant juste la radicule (~ 5 mm) sont utilisées pour l'extraction. Pour la désinfection, les graines sont

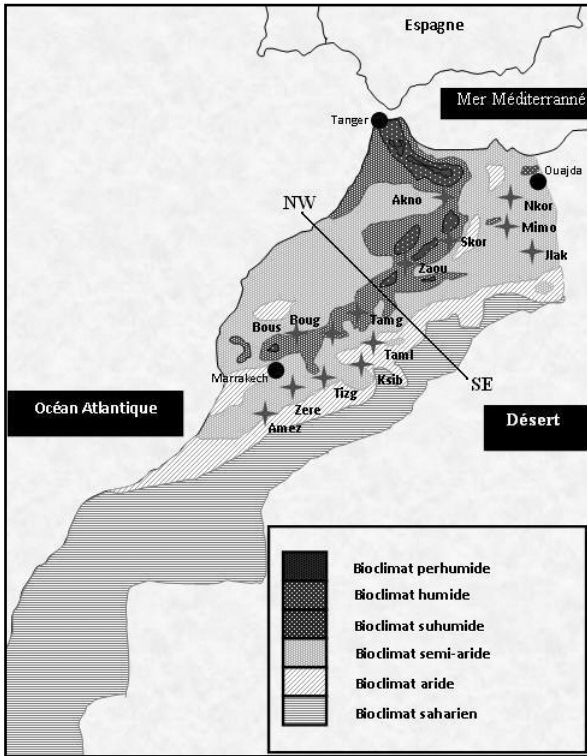


Fig. 1.- Localisation géographique des populations naturelles de pin d'Alep échantillonnées au Maroc. Jlak : Jbel Lakhdar, Mimo : Lalla Mimona, Akno : Aknoul, Nkor : Oued Nkour, Skor : Skoura, Zaou : Zaouia Ifrane, Ksib : Ksiba, Tamg : Tamga, Boug : Bouguemez, Taml : Ait Tamllil, Tizg : Tizgui, Bous : Bou issa, Zere : Zerectene, Amez : Amezmez.

Fig. 1.- Geographic distribution of natural Aleppo pine populations sampled in Morocco.

Tableau I.- Caractéristiques géographiques et climatiques des populations de pin d'Alep échantillonnées au Maroc. NAE : nombre d'arbres échantillonnés, Tmin : température minimale, Tmax : température maximale, Préc. : précipitation. La synthèse des moyennes annuelles de précipitations et des températures minimales et maximales des stations les plus proches de la zone d'étude est basée sur la période de 1933-1963 (Boulli, 2001).

Table I.- Geographical and climatic characteristics of natural Aleppo pine populations sampled in Morocco.

Populations	Code	NAE	Altitude (m)	Latitude Nord	Longitude Ouest	Substrat lithologique	Préc. (mm)	Tmin (°C)	Tmax (°C)	Étage bioclimatique
Haut Atlas										
Amezmez	Amez	52	1520	31° 07'	8° 17'	Sols squelettiques	488	3,6	33,1	Semi-aride
Zerectene	Zere	44	1260	31° 24'	7° 23'	Argiles rouges	553	-	-	Semi-aride
Bou issa	Bous	43	1460	31° 44'	6° 59'	Sols squelettiques	603	-	-	Sub-humide
Tizgui	Tizg	51	1640	31° 35'	6° 56'	Sols squelettiques	590	-	-	Semi-aride
Ait Tamllil	Taml	34	1670	31° 29'	6° 50'	Sols squelettiques	594	-2,2	34	Aride
Bouguemez	Boug	53	1630	31° 47'	6° 27'	Sols squelettiques	594	-1,1	30	Sub-humide
Tamga	Tamg	32	1490	32° 00'	6° 08'	Sols squelettiques	494	6,6	36	Sub-humide
Ksiba	Ksib	52	1550	31° 22'	5° 42'	Sols squelettiques	400	-	-	Aride
Moyen Atlas										
Zaouia Ifrane	Zaou	34	1400	33° 11'	5° 31'	Argiles rouges	753	0,5	31,5	Sub-humide
Skoura	Skor	62	1230	33° 29'	4° 35'	Sols squelettiques	502	-	-	Sub-humide
Rif oriental										
Oued Nkour	Nkor	62	400	35° 30'	3° 49'	Sols squelettiques	-	-	-	Semi-aride
Aknoul	Akno	29	1100	34° 39'	3° 15'	Sols squelettiques	529	4,6	34,5	Sub-humide
Moyen Oriental										
Lalla Mimona	Mimo	39	1200	34° 70'	2° 44'	Argiles rouges	251	3,1	33	Semi-aride
Jbel Lakhdar	Jlak	43	700	34°38'	2° 43'	Sol peu développé	250	3,1	32,9	Semi-aride

trempées dans l'eau de Javel à une concentration de 10% pendant 10 min, lavées à l'eau de robinet puis à l'eau distillée.

B. Analyse isoenzymatique

Les graines germées ont été placées individuellement dans 0,4 ml d'une solution tampon d'extraction dont la composition est constituée de 1,6% Tris, 0,04% sérum albumine bovine, 0,4% polyvinylpyrrolidone, 2% polyéthylène-glycol, 0,05% dithiothreitol, 15% glycérol, et 1% β -mércaptoéthanol. Le pH est ajusté à 7,2. Le matériel végétal mis dans la solution tampon a été broyé manuellement en utilisant un mortier en céramique de façon rapide afin d'éviter la dénaturation des enzymes. L'homogénat est centrifugé à 20000 g et à 2 °C pendant 20 min. Le surnageant a été conservé pendant 2 à 4 jours à -20 °C jusqu'à son utilisation pour la séparation électrophorétique.

Le support de migration est le polyacrylamide pour analyser sept systèmes enzymatiques : glutamate-oxaloacétate transaminase (Got ; EC. 2.6.1.1), leucine aminopéptidase (Lap ; E.C.3.4.11.1), alanine aminopéptidase (Aap ; E.C.3.4.11.1), 6-phosphogluconic déhydrogénase (6Pgd ; E.C.1.1.1.44), phosphoglucomutase (Pgm ; E.C.2.7.5.1), phosphoglucoisomérase (Pgi ; E.C.5.3.1.9) et shikimate déhydrogénase (Skd ; E.C.1.1.1.25). Le surnageant contenant les protéines solubles est soumis à électrophorèse sur gel vertical de polyacrylamide (10%). Un courant de 50 mA est utilisé pour la séparation des isoenzymes en présence d'un tampon de tris-glycine pendant 2 à 3 heures à 4 °C. Un total de 18 loci est alors révélé.

Le protocole d'extraction, de séparation et de révélation adopté pour ce travail est décrit de façon détaillée par Cheliak & Pitel (1984) et Wahid *et al.* (2004).

C. Analyse génétique

L'analyse des données a été effectuée à l'aide des programmes *PopGene* ver. 1.31 (Yeh *et al.*, 1997), *PhyIip* version 3.5 (Felsenstein, 1993) et *GenAlEx* (Peakall & Smouse, 2006). La variabilité génétique est décrite par quatre paramètres statistiques : le nombre moyen d'allèle par locus (*A*), le nombre effectif d'allèle par locus (*Ne*), le pourcentage de polymorphisme (*P*), en utilisant 99% comme critère de polymorphisme, et l'hétérozygotie observée (*Ho*) et estimée (*He*).

La structure génétique des populations a été déterminée à l'aide des indices *Fis* et *Fit* reliés à des mesures de déviation des fréquences génotypiques de l'équilibre Hardy-Weinberg (Wright, 1951). Ces indices représentent respectivement la déviation moyenne des populations et la déviation de la population totale par rapport à l'équilibre théorique. L'indice *Fst*, d'autre part, mesure le degré d'hétérogénéité des populations. La quantité de flux de gène (*Nm*) entre les populations est calculée suivant la formule :

$$Nm = (1 - Fst)/4Fst$$

La corrélation spatiale entre le couple de la matrice de distances génétique et géographique entre les populations est réalisée à l'aide du test de Mantel (Peakall & Smouse, 2006). Pour la comparaison de la relation spatiale entre les populations, nous avons utilisé l'analyse en composantes principales (ACP) (Peakall & Smouse, 2006). Cette analyse est basée sur la projection de la matrice des distances génétiques construite à partir des fréquences alléliques des systèmes enzymatiques étudiés. Les liens génétiques entre les populations ont été mesurés à l'aide de l'indice de similarité de Nei (1978). De plus, la classification des populations sur la base de la distance génétique de Nei a été obtenue en utilisant la méthode d'UPGMA (Unweighted Pair Group Method Algorithm) (Felsenstein, 1993).

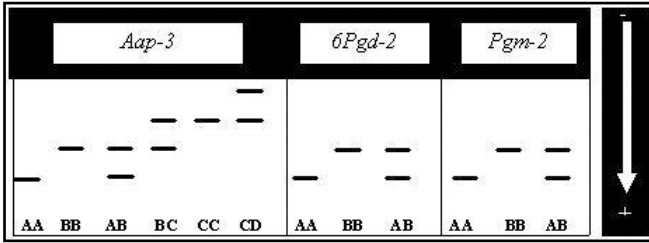


Fig. 2.- Phénotypes enzymatiques des trois locus polymorphes dans 14 populations de *Pinus halepensis*.

Fig. 2.- Enzyme phenotypes of the three polymorphic loci the 14 populations of *Pinus halepensis* Mill.

III. RÉSULTATS

L'étude de la structure et de la diversité génétique des populations naturelles de pin d'Alep au Maroc a été réalisée sur la base de sept systèmes enzymatiques. Les zymogrammes ont permis de distinguer plusieurs zones d'activités enzymatiques et de révéler la présence de 18 loci, dont seuls trois sont polymorphes (*Aap-3*, *6Pgd-2* et *Pgm-2*). Les quinze autres (*Aap-1*, *Aap-2*, *6Pgd-1*, *Pgm-1*, *Skdh*, *Got-1*, *Got-2*, *Got-3*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*, *Lap-1*, *Lap-2*, *Lap-3*, *Lap-4*) sont monomorphes et ont été observés chez toutes les populations (Fig. 2).

L'analyse de la diversité génétique de ces populations montre que le nombre moyen d'allèles (A) ainsi que le nombre d'effectif d'allèles (N_e) par locus sont assez variables (Tableau II). Ainsi, les valeurs les plus faibles sont propres aux populations du Rif oriental avec une moyenne de $A = 1,27$ et $N_e = 1,21$. Les populations issues du Moyen Atlas et du Moyen Atlas oriental présentent un nombre d'allèles légèrement élevé par rapport aux autres régions biogéographiques du pin d'Alep au Maroc. Par comparaison, les populations issues du Moyen Atlas et du Rif oriental présentent des fréquences alléliques élevées de l'allèle A caractéristiques du locus *6Pgd-2*. L'allèle A de *Pgm-2* est présent chez toutes les populations (valeur comprise entre 75% et 100% avec une moyenne de 85%). L'allèle D de *Aap-3* est un allèle local car il se trouve spécifiquement chez la population Lala-Mimona (Mimo) située dans le Maroc oriental dans la région de Debdou. Le pourcentage moyen total de loci polymorphes est de $P = 17,3\%$ avec le critère d'une fréquence minimale de 0,05 pour l'allèle le moins commun. Ce pourcentage de polymorphisme est relativement variable entre les sites : 16,5% au Moyen Atlas, 17,8% au Moyen Atlas oriental et dans le Haut Atlas. L'hétérozygoté moyenne totale est de 0,160 lorsqu'elle est calculée directement des génotypes polymorphes observées et de 0,123 lorsqu'elle est estimée à partir de l'équilibre de Hardy-Weinberg.

Les valeurs moyennes des indices F_{is} (0,118) et F_{it} (0,096) sont assez élevées (Tableau III). La comparaison de l'indice de fixation des allèles hétérozygotes montre que seul le locus *Aap-1* présente un excès d'hétérozygoté ($F_{is} = -0,739$). La différenciation entre les populations du pin d'Alep est élevée, la majorité des loci polymorphes présentent un indice F_{st} supérieur ou égale à 0,070, avec une moyenne de 0,095 (Tableau III). La différence observée au niveau du locus *6Pgd-2* contribue en une large partie dans la différenciation génétique.

Tableau III.- Estimation de F_{is} , F_{it} et F_{st} pour les loci polymorphes.

Table III.- Estimate of F_{is} , F_{it} and F_{st} for the polymorphic loci.

Locus	F_{is}	F_{it}	F_{st}	Nm
<i>Aap-3</i>	-0,739	-0,616	0,070	3,276
<i>6Pgd-2</i>	1,000	1,000	0,121	0,932
<i>Pgm-2</i>	0,094	0,181	0,095	2,354
Moyenne	0,118	0,096	0,095	2,187

Tableau II.- Variabilité génétique de 14 populations naturelles de *Pinus halepensis* au Maroc. * 95 min et 95 max sont l'intervalle de confiance minimale et maximale respectivement calculé sur la base de la méthode de bootstrap (Peakall & Smouse, 2006). SD : écart-type, F : taux de migration.

Table II.- Genetic variability of 14 natural *Pinus halepensis* populations in Morocco.

Populations	Nombre moyen d'allèles par locus (<i>A</i>)	Nombre effectif d'allèles (<i>Ne</i>)	Pourcentage de polymorphisme (<i>P</i>)	Hétérozygotie observée (<i>Ho</i>)	Hétérozygotie théorique (<i>He</i>)	F (95 min, 95 max)*
Haut-Atlas						
Amez	1,27	1,252	17,78	0,181	0,133	0,16 (-0,16, 0,52)
Zere	1,33	1,230	17,78	0,168	0,116	0,27 (0,09, 0,44)
Bous	1,27	1,189	17,78	0,139	0,106	0,20 (0,10, 0,31)
Tizg	1,27	1,252	17,78	0,187	0,133	0,11 (-0,07, 0,29)
Taml	1,27	1,246	17,78	0,177	0,128	0,17 (0,05, 0,26)
Boug	1,33	1,231	17,78	0,165	0,115	0,32 (0,06, 0,45)
Tamg	1,33	1,202	17,78	0,175	0,110	0,41 (0,09, 0,55)
Ksib	1,33	1,201	17,78	0,175	0,110	0,27 (0,12, 0,49)
<i>Moyenne</i>	1,3	1,225	17,78	0,170	0,120	0,23 (0,03, 0,42)
	(SD : 0,029)	(SD : 0,021)	(SD : 0,00)	(SD : 0,013)	(SD : 0,009)	
Moyen Atlas						
Zaou	1,22	1,185	12,22	0,166	0,098	0,19 (0,06, 0,19)
Skor	1,4	1,256	20,89	0,163	0,135	0,04 (0,09, 0,15)
<i>Moyenne</i>	1,31	1,220	16,55	0,165	0,116	0,15 (0,07, 0,17)
	(SD : 0,09)	(SD : 0,035)	(SD : 8,33)	(SD : 0,001)	(SD : 0,038)	
Rif oriental						
Nkor	1,22	1,182	16,67	0,088	0,166	-0,03 (-0,20, 0,25)
Akno	1,33	1,250	17,78	0,173	0,121	0,04 (-0,09, 0,21)
<i>Moyenne</i>	1,275	1,216	17,22	0,130	0,143	0,005 (-0,14, 0,23)
	(SD : 0,055)	(SD : 0,034)	(SD : 5,555)	(SD : 0,043)	(SD : 0,022)	
Moyen Atlas oriental						
Mimo	1,38	1,273	17,78	0,174	0,128	0,19 (-0,08, 0,31)
Jlak	1,33	1,214	17,78	0,173	0,103	0,09 (0,10, 0,32)
<i>Moyenne</i>	1,335	1,245	17,78	0,173	0,115	0,14 (0,01, 0,31)
	(SD : 0,015)	(SD : 0,030)	(SD : 0,000)	(SD : 0,000)	(SD : 0,012)	
Moyenne totale						
	1,305	1,225	17,33	0,16	0,123	0,14 (-0,02, 0,28)
	(SD : 0,047)	(SD : 0,030)	(SD : 3,470)	(SD : 0,014)	(SD : 0,020)	

L'ACP de la distance génétique entre les populations montre que 83,5% de la variabilité est expliquée par les deux premières composantes (66,8% pour la première et 16,7% pour la seconde). La figure 3 visualise la projection des populations par rapport à ces deux premiers axes. La plupart des populations sont rassemblées par la seconde composante, alors que la première sépare les populations en deux groupes. Au sein du premier groupe (I), il y a trois sous-groupes biogéographiquement différents, plus dispersés sur l'axe 2 : Ia regroupe les populations Skor et Zaou qui font le relais entre le Moyen Atlas et le Haut-Atlas, sous les mêmes bioclimats « humides » ; Ib représente les populations des montagnes orientales du Rif (Nkor) et du Moyen Atlas (Jlak ; la provenance de Jlak correspond aux précipitations minimales (250 mm/an vs 400-750 mm/an pour les autres provenances) ; ces sous-groupes Ia, Ib se localisent tous deux au nord-est du Haut-Atlas, tandis que le sous-groupe Ic Tamg-Ksib est excentré à gauche de la première composante principale par rapport à l'ensemble des populations du Haut-Atlas. Le groupe II est distingué par un vaste ensemble de populations de Haut-Atlas peu dispersées sur l'axe 2. Toutefois, les similarités génétiques sont très élevées surtout entre les populations très proches géographiquement (Tableau IV). La distance génétique de Nei (D) entre les quatorze populations étudiées varie entre -0,000 et 0,039 avec une moyenne de 0,010. Les populations d'Ait-

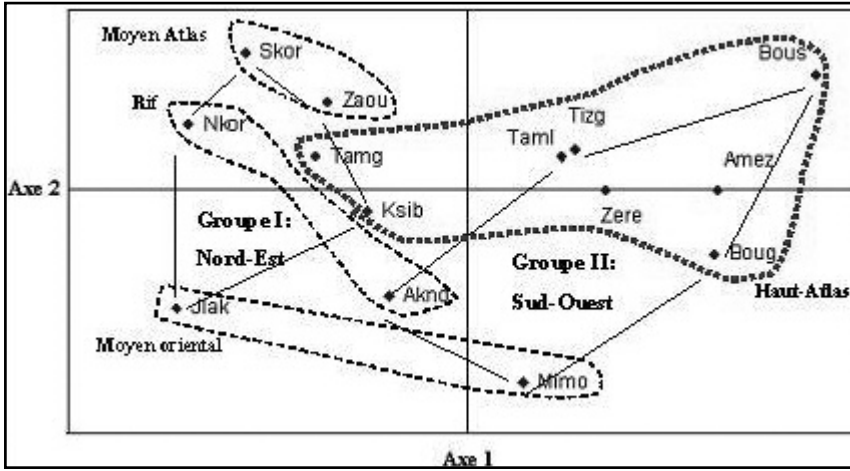


Fig. 3.- Projection spatiale des populations étudiées par rapport à la matrice de distance génétique définie par les deux premières composantes principales (axe 1: 66,8%, axe 2 : 16,6%).

Fig. 3.- Spatial projection of different populations studied with respect to the two first principal components of genetic distance.

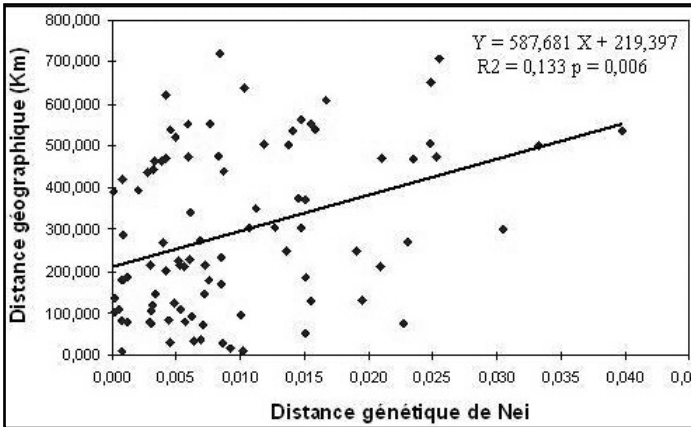


Fig. 4.- Corrélation entre les matrices de distance génétique de Nei et de distance géographique.

Fig. 4.- Correlation between genetic distance of Nei and geographical distance matrices.

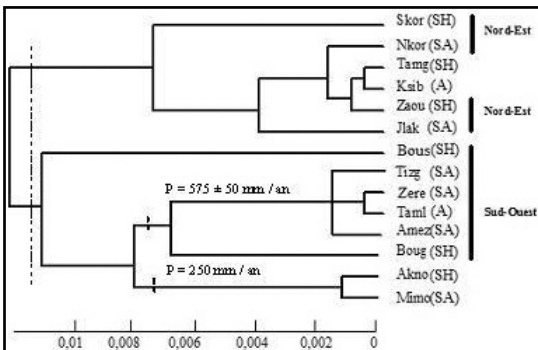


Fig. 5.- Dendrogramme basé sur la distance génétique de Nei représentant la relation entre les 14 populations de *Pinus halepensis* au Maroc.

Fig. 5.- Dendrogram based on the genetic distance of Nei, representing the relation between the 14 populations of *Pinus halepensis* in Morocco.

Tableau IV.- Identité génétique de Nei (I, au dessus de la diagonale) et distance génétique de Nei (D, en dessous de la diagonale).
Table IV.- Genetic identity of Nei (I, below the diagonal) and genetic distance of Nei (D, below the diagonal).

Populations	Skor	Bous	Tizg	Taml	Boug	Zere	Nkor	Tamg	Amez	Jlak	Ksib	Akno	Zaou	Mimo
Skor	****	0,9700	0,9854	0,9873	0,9768	0,9773	0,9856	0,9944	0,9948	0,9915	0,9940	0,9916	0,9947	0,9846
Bous	0,0305	****	0,9899	0,9907	0,9926	0,9931	0,9929	0,9673	0,9776	0,9611	0,9807	0,9792	0,9793	0,9811
Tizg	0,0147	0,0102	****	1,0007	0,9991	0,9936	0,9970	0,9863	0,9943	0,9843	0,9952	0,9941	0,9928	0,9924
Taml	0,0127	0,0093	-0,0007	****	0,9988	0,9955	0,9988	0,9883	0,9956	0,9860	0,9969	0,9958	0,9947	0,9941
Amez	0,0235	0,0075	0,0009	0,0012	****	0,9970	0,9970	0,9754	0,9865	0,9748	0,9894	0,9897	0,9850	0,9917
Boug	0,0230	0,0069	0,0064	0,0045	0,0030	****	0,9750	0,9851	0,9755	0,9900	0,9914	0,9850	0,9850	0,9951
Zere	0,0145	0,0071	0,0030	0,0012	0,0030	0,0005	****	0,9854	0,9928	0,9835	0,9958	0,9955	0,9931	0,9958
Nkor	0,0056	0,0333	0,0138	0,0118	0,0249	0,0253	0,0148	****	0,9992	0,9967	0,9972	0,9938	0,9991	0,9846
Tamg	0,0052	0,0227	0,0057	0,0044	0,0136	0,0151	0,0072	0,0008	****	0,9967	1,0002	0,9980	1,0002	0,9917
Jlak	0,0085	0,0397	0,0158	0,0141	0,0255	0,0248	0,0167	0,0033	0,0033	****	0,9968	0,9971	0,9939	0,9915
Ksib	0,0060	0,0195	0,0048	0,0031	0,0107	0,0100	0,0042	0,0028	-0,0002	0,0032	****	1,0001	0,9992	0,9961
Akno	0,0085	0,0210	0,0059	0,0042	0,0103	0,0087	0,0045	0,0062	0,0020	0,0029	-0,0001	****	0,9960	0,9993
Zaou	0,0054	0,0209	0,0072	0,0053	0,0151	0,0151	0,0069	0,0009	-0,0002	0,0061	0,0008	0,0040	****	0,9889
Mimo	0,0191	0,0155	0,0076	0,0059	0,0084	0,0049	0,0042	0,0155	0,0083	0,0086	0,0039	0,0007	0,0112	****

Tamlit (Taml) et Tizgui (Tizg), sont toutes les deux de la même région biogéographique du Haut-Atlas, présentent une faible distance génétique (-0,0007). La même observation peut être faite pour les populations de Tamga et Ksiba d'une part et entre Tamga et Zaouia Ifran d'autre part. Par contre les populations de Bou Issa et J.Lakhdar, qui proviennent de deux régions géographiques très éloignées, semblent être les plus distantes.

Sur le plan des corrélations spatiales, la liaison entre les distances génétique et géographique des pins d'Alep au Maroc éprouvée à l'aide du test de Mantel (Fig. 4) montre que la corrélation est faible ($r = 0,365$; $p = 0,006$).

Sur la base de cette distance génétique, les populations de pin d'Alep ont été classées en deux grands groupes de ressemblance (Fig. 5). Cette représentation confirme en partie la configuration qui ressort de l'ACP. Un premier groupe qui rassemble la majorité des populations du nord-est (Moyen-Atlas, Moyen-Atlas oriental, avec en intermédiaire deux populations de Haut-Atlas). Le deuxième groupe regroupe les populations du sud-est, caractérisé par la dominance des populations du Haut-Atlas correspondent aux bioclimats différents allant de « aride » à « sub-humide ».

IV. DISCUSSION

L'utilisation des marqueurs isoenzymatiques a montré que les populations naturelles du pin d'Alep au Maroc se caractérisent par une variabilité génétique moyenne par comparaison aux autres provenances de cette essence du bassin méditerranéen. En effet, le pourcentage de loci polymorphes (17,3%) est inférieur à celui observé chez les populations de la péninsule Ibérique (22% ; Agundez *et al.*, 1997), mais supérieur à celui des provenances de France (14% ; Teisseire *et al.*, 1996). Ce

pourcentage est plus élevé chez la plupart des populations de Méditerranée (15% ; Schiller *et al.*, 1986 ; Bucci *et al.*, 1998 ; Fady, 2005). En revanche, sur les vingt espèces de conifères recensées, Hamrick *et al.* (1981) ont obtenu un nombre moyen d'allèles par locus *A* de 2,29, un polymorphisme moyen *P* de 0,67 et un taux d'hétérozygotie espéré *He* de

0,207. Cependant, nos résultats sur le pin d'Alep du Maroc présentent pour leur part des moyennes faibles en richesse allélique ($A = 1,30$), en polymorphisme ($P = 0,27$) et en hétérozygotie ($He = 0,123$). En comparaison avec d'autres espèces de pin, nos résultats sur le pin d'Alep indiquent une diversité génétique inférieure, à savoir : *Pinus radiata* (Agundez *et al.*, 1997), *P. sylvestris* (Goncharenko *et al.*, 1994), *P. torreyana* (Ledig & Conkle, 1983), *P. pinaster* Aiton (Wahid *et al.*, 2004), *Cupressus atlantica* (Bechir *et al.*, 2004), *Cedrus atlantica* (Renau-Morata *et al.*, 2005 ; Terrab *et al.*, 2006). La variabilité génétique faible du pin d'Alep à l'échelle du Maroc est surtout attribuée aux effets négatifs des stress environnementaux très sévères que cette espèce a subis depuis plusieurs décennies (M'Hirit, 1999) qui contribue directement à une réduction de la diversité génétique (Boulli, 2001). L'absence de la régénération dans différents peuplements naturels du pin d'Alep pourrait contribuer de façon significative à la perte progressive et de façon continue de génotypes (Cauvin *et al.*, 1997). L'absence de cette régénération naturelle sera de plus en plus amplifiée à cause des sécheresses qui sont devenues de plus en plus fréquentes en Afrique du Nord. En effet, avec les changements climatiques qui sont devenus une réalité, les prévisions récentes spécifiques à l'Afrique du Nord prévoient des augmentations de température et des diminutions de précipitations qui pourraient atteindre respectivement 4 °C et 10 mm (Boko *et al.*, 2007). Par ailleurs, la discontinuité de l'aire de répartition de l'espèce et l'exiguïté des populations peuvent favoriser l'endogamie et augmenter les risques de consanguinité, surtout lorsque le nombre d'individus d'un peuplement est restreint, ainsi que la dérive génétique (Hamrick *et al.*, 1992 ; Matziris, 1998). En outre, la fragmentation et la dispersion des populations périphériques sont susceptibles de diminuer la diversité génétique des espèces (Skouri, 1994 ; Lamy *et al.*, 1999).

Le mode de dispersion des semences influence la composition et la structure génétique des populations d'une espèce (Hamrick *et al.* 1993). Selon l'indice de différenciation F_{st} , 90,5% de la variabilité génétique se manifeste ici à l'intérieur des populations. Ce résultat est semblable à ceux obtenus par d'autres auteurs sur le pin d'Alep dans son aire géographique, en Espagne (Agundez *et al.*, 1997) et en France (Teisseire *et al.*, 1996). Ainsi, ce niveau de différenciation élevé est une caractéristique des populations marocaines. Ceci pourrait être expliqué par le mode de dispersion du pollen sur de longues distances. Le flux de gènes estimé dans le présent travail ($Nm = 3,28$) s'avère toutefois relativement faible, ce qui laisse présager une limitation du brassage génétique entre les populations du pin d'Alep à l'échelle de son étendue. Ce manque de brassage de gènes pourrait être expliqué par des facteurs écologiques reliés à l'isolement et l'éloignement géographique des provenances. Dans le même sens, l'étude de neuf populations à l'échelle méditerranéenne (six de l'Espagne, une de la Tunisie, la France et de la Grèce) a conduit à des résultats analogues en matière de diversité génétique (Gomez *et al.*, 2001). Ces auteurs montrent la présence d'un degré élevé de différence génétique entre les populations ($F_{st} = 13,6\%$). Les résultats obtenus par les distances génétiques de Nei montrent clairement la présence de deux groupes distincts entre les populations marocaines du pin d'Alep étudiées dans le présent travail. En effet, le premier groupe est caractérisé par une dominance des populations du sud-ouest, tandis que le deuxième groupe intègre la plupart des populations de nord-est. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Boulli *et al.* (2001) à l'aide des caractères morphologiques.

En conclusion, ce travail a pu montrer une différence génétique assez élevée entre les populations de pins d'Alep du Maroc à l'aide des marqueurs isoenzymatiques. Trois facteurs essentiels, dont la dispersion du pollen, la discontinuité de la répartition de l'espèce et son histoire évolutive, expliquent ce niveau de différenciation génétique élevé dans cette

étude. Par conséquent, tout programme de reboisement utilisant cette espèce doit prendre en compte l'appartenance géographique des populations et de l'origine du matériel génétique en vue de réussir les stratégies de plantations adaptées en rapport à l'enjeu économique, social et environnemental. Les performances des provenances sont donc liées à leur adaptation à certains types d'environnement. La reforestation de zones dégradées doit se faire préférentiellement avec des semences de la même origine ou d'origine géographique proche de la zone à reconstituer, en considérant la variation biogéographique comme critère d'échantillonnage et de stratégie de collecte des graines. Néanmoins, l'aspect génétique dynamique, conséquence des modifications engendrées par les changements climatiques sur la diversité et le potentiel adaptatif des espèces forestières, doit être considéré dans la politique de boisement par cette espèce. Des approches réactives et proactives peuvent être adoptées pour affronter les impacts des changements climatiques. Il faudrait donc faire appel aux origines actuellement situées dans un contexte plus chaud de quelque 3 °C (équivalent à 600 km plus au sud en latitude) dans la gestion des plans de boisement pour compenser la dérive thermique probable 1980-2030. À la lumière des résultats de la classification hiérarchique (UPGMA), on propose le choix des semences issues des provenances du sud-ouest pour le reboisement et le boisement de la région du sud du Maroc. En revanche sur le plan statique, les semences du nord-est sont à considérer pour les plantations de la région nord du Maroc. Ainsi sur le plan dynamique de l'évolution climatique, des tests de provenance avec l'ensemble de ces populations de pin d'Alep étudiées devraient faire l'objectif d'une étude pour évaluer le potentiel d'adaptabilité face aux changements climatiques.

Par comparaison avec d'autres populations préalablement étudiées à l'échelle méditerranéenne, les populations marocaines de pin d'Alep présentent une variabilité génétique relativement faible. Ce niveau de variation génétique existant au sein de l'espèce constituera une étape importante dans le cadre de la conservation de ces ressources génétiques, dont les populations sont de plus en plus menacées de disparition. Les populations de la région du Haut-Atlas, qui présentent un niveau de variabilité génétique moyen, se trouvent sous une pression anthropique très accentuée (Cauvin *et al.*, 1997) ; en outre elles se développent dans une zone bioclimatique extrême dont le caractère semi-aride se verra aggravé par les changements climatiques. Par ailleurs, une politique de conservation et de protection de ces ressources génétiques forestières revêt au Maroc une urgence particulière compte tenu des niveaux alarmants de dégradation des populations naturelles de pin d'Alep. Les efforts de conservation doivent insister sur une représentation exhaustive des populations subsistantes, surtout sur la base du gradient de répartition nord-sud de l'espèce, puisque la plupart d'entre elles contiennent des réservoirs génétiques uniques et hautement différenciés. Cette stratégie de conservation nécessite d'être complétée par d'autres travaux de recherche portant sur l'étude du potentiel de croissance et la caractérisation éco-physiologique des différentes populations en vue de comprendre leur potentiel d'adaptation et de tolérance aux différents stress environnementaux dont notamment le déficit hydrique édaphique et les températures élevées (Zine El Abidine *et al.*, 1997 ; Zine El Abidine, 2003) qui sont les conséquences les plus prévisibles des changements climatiques prévus (Vennetier *et al.*, 2008). Dans ces perspectives, le pin d'Alep peut jouer un rôle très important comme principale espèce de reboisement en Afrique du Nord.

BIBLIOGRAPHIE

- Atfal-Rafi Z., S. Richard & D. Dod, 2007.- Chloroplast DNA supports a hypothesis of glacial refugia over postglacial recolonization in disjunct populations of black pine (*Pinus nigra*) in western Europe. *Molec. Ecol.*, **16** (4), 723-736.
- Agundez D., B. Degen, G. Von Wuehlisch & R. Alia, 1997.- Genetic variation of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) in Spain. *Forest Gen.*, **4** (4), 201-209.
- Agundez D., B. Degen, G. Von Wuehlisch & R. Alia, 1999.- Multilocus analysis of *Pinus halepensis* Mill. from Spain: genetic diversity and clinal variation. *Silvae Genet.*, **48** (3-4), 173-78.
- Anonyme, 2005.- *Bilan définitif des travaux de reboisement à l'issue de la campagne 2004-2005*. Service de reboisement, HCEFLCD.
- Aussenac G., 2002.- Ecology and ecophysiology of circum Mediterranean first in the context of climate change. *Ann. For. Sci.*, **59**, 823-832.
- Barbéro M., G. Bonin, R. Loisel & P. Quézel, 1990.- Changes and disturbances of forest ecosystems caused by human activities in the western part of the Mediterranean basin. *Vegetatio*, **87**, 151-173.
- Barbéro M., R. Loisel, P. Quézel, D.M. Richardson & F. Romane, 1998.- Pines of the Mediterranean basin. In: *Ecology and biogeography of Pinus*. D.M. Richardson (ed.), Cambridge University Press, 153-170.
- Bechir A., A. El Mousadik & C. Pichot, 2004.- Diversité allozymique de peuplements de cyprès naturels et introduits au Maroc : conséquences pour la gestion des ressources. *Ann. For. Sci.*, **61**, 669-676.
- Bellefontaine R. & M. Raggabi, 1977.- Contribution à l'étude des pins de la section *Halepensis* au Maroc : considérations générales et essai international de provenances. *An. Rech. For. Maroc*, **17**, 191-233.
- Benabid A., 2000.- *Flore et écosystèmes du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité*. Ibis Press. Paris, 359 p.
- Benabid A. & M. Fennane, 1994.- Connaissances sur la végétation du Maroc : biogéographie, phytosociologie et séries de végétation. *Lazaroa*, **14**, 21-96.
- Boko M., I. Niang, A. Nyong, C. Vogel, A. Githeko, M. Medany, B. Osman-Elasha, R. Tabo & P. Yanda, 2007.- Africa. Climate change 2007: impacts, adaptation and vulnerability. In: *Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. M.L. Parry, O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. van der Linden & C.E. Hanson (eds), Cambridge University Press, 433-467.
- Boulli A., 2001.- *Écologie et variabilité génétique du pin d'Alep (Pinus halepensis Mill.) au Maroc : introduction à l'utilisation des marqueurs génétiques*. Thèse Doctorat d'état des sciences, Univ. Cady Ayyad, Maroc, 289 p.
- Boulli A., M. Baaziz & O. M'Hirit, 2001.- Polymorphism of natural population of *Pinus halepensis* Mill. in Morocco as revealed by morphological characters. *Euphytica*, **119**, 309-316.
- Boulli A., K. Majourhat, M. Baaziz & O. M'Hirit, 2003.- Étude préliminaire de la variabilité génétique du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) au Maroc comme révélée par les marqueurs isoenzymatiques. *Natur. Marocc.*, **1**, 193-206.
- Bucci G., M. Anzidei, A. Madaghiele & G.G. Vendramin, 1998.- Detection of haplotypic variation and natural hybridization in *halepensis*-complex pine species using chloroplast simple sequence repeat (SSR) markers. *Molec. Ecol.*, **7** (12), 1633-1643.
- Cauvin B., J.N. Marien & S.M. El Yousfi, 1997.- Protection, conservation et gestion des ressources génétiques forestiers au Maroc, *An. Rech. For. Maroc*, **1**, 178-195.
- Cheliak W.M. & J.A. Pitel, 1984.- *Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species*. Can. For. Serv. Agric. Petawawa Nat. For. Inst., Canada.
- Destrémau D., 1974.- Précisions sur les aires naturelles des principaux conifères marocains en vue de l'individualisation des provenances. *An. Rech. For. Maroc*, **14**, 1-90.
- El Abid A., 1981.- Aptitudes technico-économiques du pin d'Alep et du pin maritime issus des reboisements marocains à produire du bois de mine. *An. Rech. For. Maroc*, **21**, 1-98.
- El Yousfi S.M., 2008.- *Les reboisements au Maroc : historique et stratégie d'orientation*. Atelier « Production des plants forestiers au Maroc : état actuel et perspectives de modernisation des pépinières en vue de produire des plants de qualité », 11 mars 2008, ENFI, Salé.
- Emberger L., 1939.- Aperçu général sur la végétation du Maroc, Commentaire de la carte phytogéographique du Maroc au 1: 1 500 000. *Veröff. Geobot. Inst. Rübel Zürich*, **14**, 40-57.
- Fady B., 2005.- Is there really more biodiversity in Mediterranean forest ecosystems? *Taxon*, **54**, 905-910.
- Felsenstein J., 1993.- *PHYLP 3.5 (Phylogeny Inference Package)*. University of Washington, Seattle, Washington, USA.
- Gómez A., R. Alía & M.A. Bueno, 2001.- Genetic diversity of *Pinus halepensis* Mill. populations detected by RAPD loci. *Ann. For. Sci.*, **58**, 869-875.
- Goncharenko G.G., A.E. Silin & V.E. Padutov, 1994.- Intra- and interspecific genetic differentiation in closely related pines from *Pinus* subsection *Sylvestres* (Pinaceae) in the former Soviet Union. *Pl. Syst. Evol.*, **194**, 39-54.
- Grovel R., 1996.- La préservation des forêts du Rif centro-occidental : un enjeu de développement de la montagne rifaine. *Revue Géogr. Alp.*, **4**, 75-94.
- GTZ, 1997.- *Les ressources génétiques forestières au Maroc*, 1 - Les régions de provenance. Services de semences et pépinières, Maroc, 97 p.
- Hamrick J.L., M.J. Godt & S.L. Sherman-Broyles, 1992.- Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, **6**, 95-124.
- Hamrick J.L., J.B. Mitton & Y.B. Linhart, 1981.- Levels of genetic variation in trees: influence of life history characteristics. In: *Isozymes of North American Trees and*

- Forest Insects*. M.T. Conkle (ed.), 35-41.
- Hamrick J.L., D.A. Murawski & J.D. Nason, 1993.- The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. *Vegetat.*, **107-108**, 281-297.
- Lamy S., A. Bouchard & J.P. Simon, 1999.- Genetic structure, variability and mating system in eastern white cedar (*Thuja occidentalis*) populations of recent origin in an agricultural landscape in southern Québec. *Can. J. For. Res.*, **29**, 1383-1392.
- Ledig F.T. & M.T. Conkle, 1983.- Gene diversity and genetic structure in a narrow endemic, Torrey pine. *Evolution*, **37**, 79-85.
- Ledig F.T. & J.H. Kitzmiller, 1992.- Genetic strategies for reforestation in the face of global climate change. *For. Ecol. Manag.*, **50**, 153-169.
- M'Hirit O., 1999.- Mediterranean forest: ecological space and economic and community wealth. *Unasylva*, **197**, 3-15.
- Matziris D., 1998.- Genetic variation in cone and seed characteristics in a clonal seed orchard of Aleppo pine grown in Greece. *Silvae Genet.*, **47**, 43-51.
- Molina-Freaner F., P. Delgado, D. Pinero, N. Perez-Nasser & E. Alvarez Buylia, 2001.- Do rare pines need different conservation strategies? Evidence from three Mexican species. *Can. J. Bot.*, **79**, 131-138.
- Nahal I., 1962.- Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) : étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. *Ann. ENGREF*, **XIX** (4), 208 p.
- Nei M., 1978.- Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583-580.
- Peakall R. & P.E. Smouse, 2006.- GENALEX 6: genetic analysis in Excel, Population genetic software for teaching and research. *Molec. Ecol. Notes*, **6**, 288-295.
- Quézel P., 1980.- *Biogéographie et écologie des conifères sur le pourtour méditerranéen*. In : *Actualités d'écologie forestière*. P. Pesson (éd.), Gauthier Villars, Paris, 205-255.
- Renau-Morata B., S.G. Nebauer, E. Sales, J. Allainguillaume, P.D.S. Caligari & J. Segura, 2005.- Genetic diversity and structure of natural and managed populations of *Cedrus atlantica* (Pinaceae) assessed using random amplified polymorphic DNA. *Am. J. Bot.*, **92** (5), 875-884.
- Schiller G., M.T. Conkle & C. Grunwald, 1986.- Local differentiation among Mediterranean populations of Aleppo pine in their isoenzymes. *Silvae Genet.*, **35** (1), 11-19.
- Skouri M., 1994.- Les dégradations du milieu et les mesures de protection. *C. R. Acad. Agri. France*, **80**, 49-82.
- Teisseire H., B. Fady & C. Pichot, 1996.- Allozyme variation in five French populations of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.). *Forest Genet.*, **2** (4), 225-236.
- Terrab A., O. Paun, S. Talavera, K. Tremetsberger, M. Arista & T.F. Stuessy, 2006.- Genetic diversity and population structure in natural populations of Moroccan Atlas cedar (*Cedrus atlantica*, Pinaceae) determined with SSRcp markers. *Am. J. Bot.*, **93** (9), 1274-1280.
- Vennetier M., Ch. Ripert, E. Maille, L. Blanc, F. Torre, Ph. Roche, Th. Tatoni & J.J. Brun, 2008.- A new bioclimatic model calibrated with vegetation for Mediterranean forest areas. *Ann. For. Sci.*, **65**, 7-10.
- Vivan J.L., P.H. May, L.H.H. da Cunha, W.S. de Boef & C.R. Clement, 2009. - Analysis of information used in the management of plant genetic resources: a case study from northwestern Mato Grosso, Brazil. *Agroforest Syst.*, **76** (3), 591-604.
- Wachowiak W., B.R. Stephan, I. Schulze, W. Prus-Glowacki & B. Ziegenhagen, 2006.- A critical evaluation of reproductive barriers between closely related species using DNA markers; a case study in *Pinus*. *Pl. Syst. Evol.*, **257**, 1-8.
- Wahid N., C. González-Martínez Santiago, I. El Hadrami & A. Boullii, 2004. - Genetic structure and variability of the Moroccan natural populations of maritime pine (*Pinus pinaster* Aiton). *Silvae Genet.*, **53** (3), 93-99.
- Wright S., 1951.- The genetical structure of population. *Annals Eugenics*, **15**, 323-354.
- Yeh F.C., R.C. Yang, T. Boy, Z.-H. Yem & J.X. Mao, 1997.- POPGENE: the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre. University of Alberta, Canada. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/index.htm>.
- Zine El Abidine A., 2003.- Le dépérissement des forêts au Maroc : analyse et stratégies de lutte. *Sécheresse*, **14** (4), 209-218.
- Zine El Abidine A., P.Y. Bernier & A.P. Plamondon, 1997.- Ecophysiology of the épinette noire (*Picea mariana*) en relation avec sa tolérance au stress hydrique. *Ann. Rech. For. Maroc*, **30**, 145-166.

