

PROJET DE FIN D'ÉTUDES
PRÉSENTÉ EN VUE D'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER SCIENCES ET TECHNIQUES
GESTION ET CONSERVATION DE LA BIODIVERSITÉ

CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE ET GÉNOTYPIQUE
DES GÉNOTYPES DE BLÉ DUR (*Triticum durum*)

Présenté par : LAMINE Assia

Encadré par : Pr. SQALLI HOUSSAINI Hakima
Dr. UDUPA Sripada
Dr. IRAQI Driss

Soutenu le : 12 Juillet 2021. Devant le jury composé de :

- | | | |
|-------------------------------|--------------|--------------|
| • Pr. SQALLI HOUSSAINI Hakima | FST Fès | Encadrante |
| • Dr. UDUPA Sripada | ICARDA Rabat | Encadrant |
| • Dr. IRAQI Driss | INRA Rabat | Encadrant |
| • Pr HALOTI Said | FST Fès | Examinateur |
| • Pr FADEL Fatima | FST Fès | Examinatrice |
| • Pr FATEMI Zine EL Abidine | INRA MEKNES | Examinateur |

Lieu de stage : Institut National de La Recherche Agronomique de Rabat

Centre International de Recherche Agricole dans les Zones Arides de Rabat

Année Universitaire: 2020/2021

Résumé

La présente étude est réalisée à la Station Expérimentale de Sidi El Aidi, durant la campagne agricole 2020/2021, au laboratoire de Biotechnologie INRA/ICARDA. L'objectif principal est l'étude de la diversité génétique de huit génotypes marocains et 42 génotypes étrangers de blé dur (*Triticum durum* Desf.), sur la base des caractères agro-morphologiques (date d'épiaison, port et hauteur de la plante, longueur de l'épi, longueur de la barbe par rapport à la longueur de l'épi, forme de la troncature de la glume inférieure, largeur de la troncature de la glume inférieure, longueur du bec de la glume inférieure, pilosité de la surface externe de la glume inférieure, couleur de la barbe, forme des poils de la brosse etc.). Un protocole UPOV est suivi pour les tests de Distinction, d'Uniformité et de Stabilité (DUS) suivi par une analyse des marqueurs microsatellites.

Les résultats obtenus ont montré l'existence d'une diversité importante chez les génotypes étrangers par rapport aux génotypes marocains. Sur la base de ces résultats, des matrices de similarité sont générées en utilisant les caractères agro-morphologiques et le polymorphisme de huit marqueurs microsatellites. Ces matrices sont utilisées pour générer des dendrogrammes, afin d'estimer les relations génétiques entre différents génotypes. Nos résultats suggèrent que la caractérisation agro-morphologique et l'analyse des microsatellites permettent de distinguer et d'identifier les différents génotypes. En outre, les loci microsatellites ont détecté une diversité dans l'ensemble de la collection (Gamme allélique : 2-5 ; Diversité génétique : 0.7556). Cependant, la collection de blé dur étrangère a révélé une plus grande diversité génétique au niveau des loci microsatellites (gamme allélique : 2-5 ; diversité génétique : 0,7392), par rapport aux génotypes marocains de blé dur (intervalle : 2-4 ; diversité génétique : 0,72). Les huit marqueurs utilisés dans la présente étude révèlent la dissimilarité entre les groupes. Par conséquent, des marqueurs microsatellites supplémentaires sont nécessaires pour distinguer toutes les variétés. Cependant, la distance génétique de Jaccard entre quelques groupes est de 1, ce qui signifie qu'il y a une différence dans les profils alléliques. Nos résultats ont une grande importance pour l'identification, la distinction, l'uniformité et la stabilité (DUS) lors de l'enregistrement dans le catalogue des variétés de blé dur. Les informations sur la distance génétique et la diversité génétique sont également importantes pour la sélection du blé dur.

Mots clés : *Triticum durum*, génotypes étrangers, génotypes marocains, amorces SSR, caractère agro-morphologies.

Abstract

This study was carried out at the Sidi El Aidi Experimental Station during the 2020/2021 agricultural campaign and at the INRA / ICARDA Biotechnology laboratory, with the main objective of studying the genetic diversity of 8 Moroccan genotype and 42 exotic genotype of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) on the basis of agro-morphological characters (date of heading, habit and height of the plant, length of the ear, length of the spurs in relation to the length of the ear, shape of lower glume shoulder, width of lower glume shoulder, length of lower glume beak, hairiness of outer surface of lower glume, color of dewclaws, shape of brush bristles etc.) in following the UPOV protocol for Distinctness, Uniformity and Stability (DUS) testing and followed by analysis of microsatellite markers. The results obtained showed the existence of a substantial diversity in the exotic genotype compared to the Moroccan genotype. On the basis of these results, similarity matrices were generated using the agro-morphological characters and Jaccard genetic distance matrix using the polymorphism of 8 microsatellite markers. These matrices were used to generate dendrograms, in order to estimate the genetic relationships between genotype. Our results suggest that agro-morphological characterization all the genotype can be distinguished among themselves. However, microsatellite analysis can distinguish certain genotype and are useful for the identification of this genotype. In addition, microsatellite loci detected substantial diversity in the collection (allelic range: 2-5; genetic diversity: 0.7556). However, the collection of exotic durum wheat revealed slightly greater genetic diversity at microsatellite loci (allelic range: 2-5; genetic diversity: 0.7392), compared to Moroccan durum wheat genotype (range: 2-4; genetic diversity: 0.72). The eight markers used in this study reveal dissimilarity between groups. Therefore, additional microsatellite markers are needed to distinguish all genotype.

The present results on agro-morphological characters are of great importance for varietal identification, distinctness, uniformity and stability (DUS) when registering durum wheat genotype. Information on genetic distance and genetic diversity is also important for durum wheat breeding.

DEDICACE

À Mes parents MY ELHOUCINE et BATOUL

Mon père, fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans ma vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit, Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Ma mère, œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et les précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

À ma chère sœur SARA, Mes chers frères ISMAIL ET ABDESSAMAD

Pour leur soutien constant, leur affection, leur patience et encouragement dans mes moments de doute, Je vous dédie ce travail avec mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

À toute ma famille paternelle et maternelle

Pour leur soutien, tout au long de mon parcours universitaire. Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible, merci d'être toujours là pour moi.

À mes amis et mes collègues

Et particulièrement les plus intimes en témoignage des moments inoubliables, des sentiments purs, et des liens solides qui nous unissent.

Remerciements

Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de nous avoir donné la force et la connaissance pour accomplir une action.

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à mes Professeurs de la Faculté des sciences et techniques FST Fès, pour leur intérêt avec lequel ils ont entouré ce travail. Aucun mot ne saurait exprimer ma très haute considération et ma grande admiration pour leur ardeur au travail.

J'exprime ma reconnaissance à Madame **SQUALLI HOUSSAINI Hakima**, Professeure à la faculté des sciences et technique de Fès, qui m'a fait l'honneur de diriger ce travail : qu'elle me soit permise de lui témoigner ma profonde reconnaissance. Ses encouragements, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, et son aide m'ont été très précieux.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements au Docteur **Sripada UDUPA**, chercheur au centre international de recherche agricole dans les zones arides ICARDA à Rabat, Je lui suis également reconnaissante de m'avoir assuré un encadrement rigoureux tout au long de stage, pour les précieux conseils dont il m'a fait profiter. Pour m'avoir accordé toute sa confiance, sa compétence et sa rigueur scientifique m'ont beaucoup appris. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Ce travail n'aurait pas lieu sans l'aide précieuse de Docteur **IRAQI Driss**, chef de l'unité de Biotechnologie végétale INRA RABAT ; Je le remercie de m'avoir fait l'honneur de passer ce stage dans le laboratoire de biotechnologie.

Je souhaiterais aussi adresser ma gratitude aux professeurs **HALOTI Said, FADEL Fatima et FATEMI Zine Elabidine** de la faculté des sciences et techniques de m'avoir honorée en acceptant d'évaluer ce travail et de faire partie des membres de jury.

Pour finir on remercie également INRA Maroc, ICARDA, l'Union Européenne (EU H2020 Projet financé 'InnoVar'), la CRP-Blé et du Programme de subventions de collaboration ICARDA Maroc pour leur soutien et leur support financier.

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
CTAB	Le bromure de cetyltriméthylammonium
PCR	Polymerase Chain Reaction
MgCl ₂	Chlorure de magnésium
EDTA	Acide éthylène diamine tétra-acétique
<i>TBE</i>	Tris, Borate, EDTA
<i>BET</i>	<i>Bromure d'éthidium</i>
<i>UPOV</i>	Union pour la protection des obtentions végétales
<i>SSR</i>	Simple Sequence Repeats

Liste des figures

Figure 1	Phylogénie du blé dur.	3
Figure 2	Différents stades de développement du blé.	6
Figure 3	Stades de développement des céréales de Zadoks.	6
Figure 4	Principaux producteurs de Blé.	9
Figure 5	Production des trois principales céréales au Maroc en MQx.	9
Figure 6	Carte de situation du site expérimental de Sidi El Aidi.	21
Figure 7	Données météorologiques de la station Sidi El Aidi en 2020-2021.	22
Figure 8	Schémas de la parcelle étudiée en 3D.	22
Figure 9	Terrain des parcelles étudiées.	22
Figure 10	Etapes du stade de l'épiaison.	24
Figure 11	Classement des hatitudes de croissance des plantes.	24
Figure 12	Hauteur de la plante.	24
Figure 13	Hauteur de l'épi.	24
Figure 14	Longueur des barbes à l'extrémité par rapport à la longueur de l'épi.	24
Figure 15	Couleur de la barbe.	24
Figure 16	Formes de la graine.	27
Figure 17	Longueurs des poils de la brosse.	27
Figure 18	Programme d'amplification de l'ADN par les amorces SSR utilisées.	31
Figure 19	Plaque de gel d'acrylamide.	32
Figure 20	Répartition des fréquences pour les caractères : nombre de jours d'épiaison, port de la plante, hauteur de la plante, hauteur de l'épi, forme de la glume inférieure, forme de troncature de la glume inférieure, largeur de troncature de la glume inférieure de blé dur.	36
Figure 21	Répartition des fréquences pour les caractères longueur du bec du glume inférieure, courbure du bec du glume inférieure, pilosité de la face externe du glume inférieure, couleur de la barbe, couleur de l'épi, densité de l'épi, forme de la brosse, longueur de poils de brosse de blé dur.	40
Figure 22	Dendrogramme montrant la relation entre l'ensemble des génotypes du blé dur étudiés généré par l'analyse des paramètres agromorphologiques.	44
Figure 23	Profil de migration du test de qualité sur gel d'agarose 1% des 50 échantillons d'ADN extraits à partir de 50 échantillons de blé dur.	45
Figure 24	Profil d'amplification par l'amorce microsatellite <i>Xgwm 130</i> sur gel d'acrylamide 6% des 48 échantillons de blé dur.	46
Figure 25	Profil d'amplification par l'amorce microsatellite <i>Xgwm 273</i> sur gel d'acrylamide 6% des 48 échantillons de blé dur.	46
Figure 26	Profil d'amplification par l'amorce <i>Xgwm 193</i> microsatellite sur gel d'acrylamide 6% des 48 échantillons de blé dur.	46
Figure 27	Distance génétique entre génotype de même origine	51
Figure 28	Dendrogramme des relations entre les génotypes Marocains et étrangers du blé dur étudié.	52

Liste des tableaux

Tableau 1	Classification du blé dur.	4
Tableau 2	Principales maladies du blé.	11
Tableau 3	Comparaison entre les différents marqueurs moléculaires.	18
Tableau 4	Liste de variétés et améliorées du blé dur étudiées et leur origine.	20
Tableau 5	Caractéristiques physico-chimiques du sol de site expérimental .de Sidi El Aidi.	21
Tableau 6	Observation de la glume inférieure.	26
Tableau 7	Nom du locus, séquences, motif de répétition des 8 marqueurs microsatellites utilisés dans cette étude.	30
Tableau 8	Composition du Master mix (50 échantillons) .	30
Tableau 9	Identification de quelques paramètres morphologiques.	35
Tableau 10	Polymorphisme chez l'ensemble des génotypes étudiés.	47
Tableau 11	Polymorphisme chez les 8 génotypes marocains sur locus microsatellites.	48
Tableau 12	Polymorphisme chez les 40 génotypes étrangers sur locus microsatellites.	49
Tableau 13	Distances génétiques entre les pays d'origine.	51

Liste des annexes

Annexe 1	Morphologie de blé
Annexe 2	Quelques maladies de blé
Annexe 3	Anciennes variétés de blé dur
Annexe 4	Récents variétés de blé dur
Annexe 5	Variétés nouvellement inscrites
Annexe 6	Protocole UPOV
Annexe 7	Appareillage du laboratoire
Annexe 8	Solutions nécessaires
Annexe 9	Marqueurs de tailles utilisés
Annexe10	Ecart-type, moyenne et coefficient de variation des variétés marocaines et des variétés exotiques des différents caractères agro-morphologiques.
Annexe 11	Matrice de similarité
Annexe 12	Matrice de jaccard

Sommaire

Introduction générale	1
-----------------------	---

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.	Historique, origine genetique et classification du blé dur	3
	a. Historique	3
	b. Origine génétique de blé dur	3
	c. Classification	4
II.	Morphologie et stades de développement du ble dur	4
	a. Morphologie	4
	b. Stades du développement du blé dur	5
III.	Production du blé	8
	a. Production mondiale	8
	a. Production nationale	8
IV.	Importance des céréales	10
	a. Importancesocio-économique	10
	b. Importance nutritionnelle du blé dur	10
V.	Contraintes du ble dur	11
	a. Contraintes biotiques	11
	b. Contraintes abiotiques	12
VI.	Caractérisation phénotypique	13
	a. Caractères agronomiques	13
	b. Caractères morphologiques	15
VII.	Caractérisaton génotypique	16
	a. Marqueurs RAPD (marqueurs ADN polymorphe amplifié aléatoire).	16
	b. Marqueurs RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction).	17
	c. Marqueurs AFLP (polymorphisme de longueur de fragment d'amplification).	17
	d. Marqueurs SSR (microsatellites répétitions de séquences simples).	17
	e. Marqueurs SNP (marqueurs polymorphisme nucléotidique)	18
	f. Comparaison entre des marqueurs moléculaires	18
VIII.	Variétés de blé dur au maroc	19

MATERIEL ET METHODES

I-	Matériel végétal	20
	A. Choix des géotypes	20
	B. Station expérimentale de sidi el aidi	21
	C. Parcelles étudiées	22
II-	Etude phénotypique	23
	Caractères agro-morphologiques	23
	1. Date d'épiaison	23
	2. Port de la plante	23
	3. Hauteur de la plante	23
	4. Hauteur de l'épi	23
	5. Longueur de la barbe à l'extrémité par rapport à la longueur de l'épi	25
	6. Glume inférieure	25
	7. Couleur de la barbe	25
	8. Couleur et densité de l'épi	25
	9. Forme et longueur des poils de la brosse	25
III-	Etude géotypique	27
	A. Collecte et préparation des feuilles	27
	B. Extraction de l'ADN génomique	27
	C. Quantification et test de qualité de l'adn par électrophorèse sur gel d'agarose	29
	1. Préparation du gel d'agarose	29
	2. Dépôt de l'ADN	29
	3. Fluorescence des bandes	29
	d. Etudes de polymorphisme moléculaire via les microsatellites SSR	30
	1. Procédures d'amplification de l'ADN	30
	2. Analyses moléculaires par PCR	30
IV-	Analyses statistiques	32
	A. Analyse statistique des traits agro-morphologiques	32
	B. Analyse statistique des traits génétiques	32

RESULTATS ET DISCUSSION

I.	Caractérisation phénotypique de blé dur	34
	A. Paramètres agro-morphologiques	34
	B. Degré de similarité	44

II. Caractérisation génotypique des blé dur	46
A. Test de qualité d'ADN	46
B. Amplification d'ADN par les amorces microsatellites de blé dur	47
C. Polymorphisme aux locus microsatellites SSR du blé dur	48
D. Distances génétiques et arbre phylogénique	51
Conclusion générale	55
Référence bibliographique	57

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*, $2n = 4x = 28$; AABB) est un blé tétraploïde, principalement cultivé dans le bassin méditerranéen, et dans d'autres parties du monde pour la consommation humaine. La demande en blé est présagée à une forte augmentation avec l'accroissement de la population mondiale estimée d'atteindre 9 milliards d'individus en 2050 (Hubert *et al.*, 2010). Ainsi, la production du blé aura un impact crucial sur la sécurité alimentaire et l'économie mondiale dans les prochaines décennies.

Le Maroc produit environ 1,2 million de tonnes de blé dur par an. Cependant, la plupart des années, le Maroc l'importe pour répondre à la demande croissante. Par conséquent, l'amélioration de cette culture en termes de rendement et de qualité est nécessaire. Au Maroc, le blé est la céréale la plus consommée, sa consommation est estimée à 258 kg/an/personne. Aussi, environ 4 millions d'hectares de blé sont cultivés annuellement, avec une production de 80 millions de quintaux (USDA, 2015). Ce rendement reste relativement bas à cause des stress abiotiques tels que la sécheresse et biotiques à savoir la rouille jaune, la rouille brune, la rouille noire, la séptoriose et la cécidomyie. Par conséquent, le Maroc n'arrive pas à assurer son autosuffisance et reste donc, parmi les plus grands importateurs du blé au monde (USDA, 2015).

La création de variété, par sélection, tolérantes aux stress biotiques et abiotiques et de qualité s'avère donc nécessaire pour l'amélioration du rendement et pour assurer la sécurité alimentaire au Maroc. La caractérisation et l'évaluation des variétés cultivées permettant ainsi la sauvegarde et la réhabilitation du patrimoine génétique et l'estimation de la diversité sont considérées comme un point de départ pour entamer les programmes de sélection variétale. (Schut *et al* ; 1997 ; Chentoufi *et al* ; 2014).

Cette diversité peut être aussi estimée sur la base de plusieurs critères dont le phénotype et les marqueurs moléculaires. Traditionnellement, la diversité est évaluée en mesurant la variation des traits phénotypiques. D'ailleurs, la caractérisation variétale et l'étude de la diversité génétique du germoplasme de l'INRA s'est basée essentiellement sur des critères phénotypiques physiologiques, technologiques et morphologiques (Chaabane *et al* ; 2011).

Plusieurs types de marqueurs appropriés pour les études de diversité génétique ont été développés ces dernières années. L'apparition de nouveaux marqueurs moléculaires basés sur la PCR, comme les RAPD, les SSR et les SNP, a créé l'opportunité de caractériser génétiquement les collections de matériel génétique étant auparavant impossible. Ces marqueurs basés sur la PCR sont hautement polymorphes (Broun et Tanksley ,1996) et simples à traiter, ils se traduisent par la génération de quantités relativement importantes de données par unité de temps (Powell *et al.*, 1996). Le niveau accru de variation détecté avec ces marqueurs moléculaires a permis aux gestionnaires de germoplasmes, aux sélectionneurs et aux généticiens de poursuivre avec une vigueur les questions importantes liées aux cultures et à leurs ressources génétiques (Bretting et Widrlechner ; 1995). Ils sont utiles à la fois dans la recherche basique et appliquée (Newbury *et al* ; 1997).

Les marqueurs microsatellites ont été utilisés pour l'analyse de la diversité génétique et l'identification des races autochtones et des variétés modernes (Huang *et al.*, 2007 ; Fu et Somers, 2009).

L'objectif du présent travail est, d'une part, l'évaluation de la diversité génétique à travers l'étude des caractères phénotypiques (Agro morphologique) à travers le protocole UPOV (Union internationale de protection des obtentions végétales) pour la distinction, l'uniformité et la stabilité suivi par l'étude géotypique *via* une approche moléculaire SSR et ce pour établir les relations inter géotypes. D'autre part, la comparaison des géotypes marocains avec les géotypes étrangers. La population étudiée est composée de 50 échantillons plantées dans la station expérimentale de l'ICARDA et l'INRA à Sidi el Aidi.

**REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

I. HISTORIQUE, ORIGINE GENETIQUE ET CLASSIFICATION DU BLE DUR

A. HISTORIQUE

Le blé est l'une des premières espèces plantées par l'humanité. Depuis plus de 7000 à 10000 ans, le blé occupe le croissant fertile, zone couvrant la Palestine, la Syrie, l'Irak et une grande partie de l'Iran (Croston et Williams, 1981). D'après Harlan (1975), les restes de blés diploïdes et tétraploïdes remontant à 7000 avant JC ont été découverts dans des sites archéologiques du Proche-Orient.

B. ORIGINE GENETIQUE DE BLE DUR

Le blé dur est une espèce largement connue depuis l'antiquité, appartient au tétraploïde et comprend de nombreuses espèces. Le blé (*Triticum*), le riz (*Oriza L.*) et le maïs (*Zeamays L.*) constituent la base alimentaire de la population mondiale et semblent avoir la même espèce ancestrale. Ces derniers contiendront tous les gènes dispersés chez les trois espèces actuelles (Yves et De Buyser, 2000).

Selon Mackey (1968), l'origine génétique du blé dur remonte au croisement entre deux espèces ancestrales *Triticum monococcum* et une graminée sauvage du nom d'*Aegilops sépaloïdes*.

Le blé dur (*Triticum durum*) appelé ainsi en raison de la dureté de son grain, possède $2n=4x=28$ chromosomes. D'après Feillet (2000), le croisement naturel de *Triticum monococcum* (porteur du génome A) et d'*Aegilops sépaloïdes* (porteur du génome B) a permis l'apparition d'un blé dur sauvage de type AABB (*Triticum turgidum ssp. Dicoccoïdes*) a ensuite progressivement évolué en *Triticum durum ssp. Dicoccum* puis vers *triticum durum* (blé dur cultivé) (Figure1).

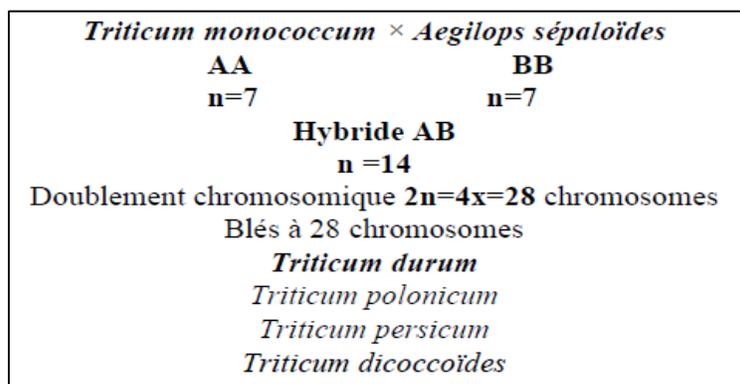


Figure 1 : Phylogénie du blé dur (Croston et Williams, 1981).

L'espèce *Triticum durum* s'est propagée dans trois centres secondaires différents : le bassin occidental de la Méditerranée, le Sud de la Russie et le Proche Orient. Chaque centre secondaire donna naissance à des groupes de variétés botanique aux caractéristiques phénologiques, morphologiques et physiologiques particulières (Monneveux, 1991).

C. CLASSIFICATION

Le blé dur est une plante monocotylédone appartenant au genre *Triticum* de la famille des *Poaceae*. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscent, appelé caryopse (annexe 1 a), constitué d'une graine et de téguments (Tableau 1).

C'est une espèce autogame se reproduisant sexuellement, qui a acquis une tolérance à la consanguinité au cours de son évolution. Enternes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre (*Triticum aestivum*) (Grignac, 1965 ; Prats, 1966).

Tableau 1: Classification du blé dur (Grignac, 1965 ; Prats, 1966).

Régne	• <i>Plantae</i>
Embranchement	• Spermaphytes
Sous-embranchement	• Angiospermes
Classe	• Monocotylédones
Sous-classe	• Commélinidés
Ordre	• <i>Poales</i>
Famille	• <i>Poaceae</i>
Sous-famille	• Pooidées
Genre	• <i>Triticum</i>
Espèce	• <i>Triticum durum</i>

II. MORPHOLOGIE ET STADES DE DEVELOPPEMENT DU BLE DUR

A. MORPHOLOGIE

Le blé est une céréale importante, puisqu'il constitu d'aliment de base du monde entier. Le rendement du blé varie largement en raison de son interaction avec l'environnement. En effet, le rendement en grain de blé est un trait polygénique hérité et c'est le produit de plusieurs facteurs affectant le rendement directement ou indirectement (Akram *et al.*, 2008).

1. Appareil aérien

Le système aérien est formé d'un certain nombre d'unités biologiques (Annexe 1b), les talles, les feuilles et les gaines. La talle est formée d'une tige feuillée ou chaume portant à son extrémité une inflorescence (Clarke *et al.*, 2002). Les feuilles se composent d'une base (graine) entourant la tige, d'une partie terminale qui s'aligne avec les nervures parallèles et d'une extrémité pointue.

Au point d'attache de la gaine de la feuille se trouve une membrane mince et transparente (glume) (Bozzini, 1988).

2. Appareil racinaire

Le système racinaire comprend des racines séminales (Annexe 1b) produites par la plantule durant la levée, ainsi que des racines adventives (latérales) se formant plus tard à partir des nœuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent (Bozzini, 1988).

3. Appareil reproducteur

L'inflorescence du blé est un épi (Annexe 1c). Ce dernier est constitué d'unités de base, les épillets. L'épillet est une petite grappe d'un à cinq fleurs enveloppées chacune par deux glumelles (inférieure et extérieure). La grappe est incluse entre deux bractées ou glumes, les fleurs sont attachées sur le rachis et sont autogames (Anonyme, 2003).

B. STADES DU DEVELOPPEMENT DU BLE DUR

Au Maroc, comme dans la plupart des pays méditerranéens tempérés, le blé dur est semé en automne, se croît en hiver et mûrit à la fin du printemps ou au début de l'été.

Les variétés de blé dur cultivées au Maroc ne nécessitent pas de vernalisation. Ce sont des variétés de printemps dont les stades de croissance commencent par la germination puis, la levée, le tallage, la montaison, l'épiaison, la floraison et la maturité physiologique (Figure 2). Différentes échelles ont été établies pour identifier les stades végétatifs clés du cycle de développement de la culture du blé. Selon Soltner (2005), les échelles de notation ayant été relevées sont celles de Zadoks *et al.*, (1974) (Figure 3). La majorité des stades de croissance sont eux-mêmes subdivisées en plusieurs sous-étapes.

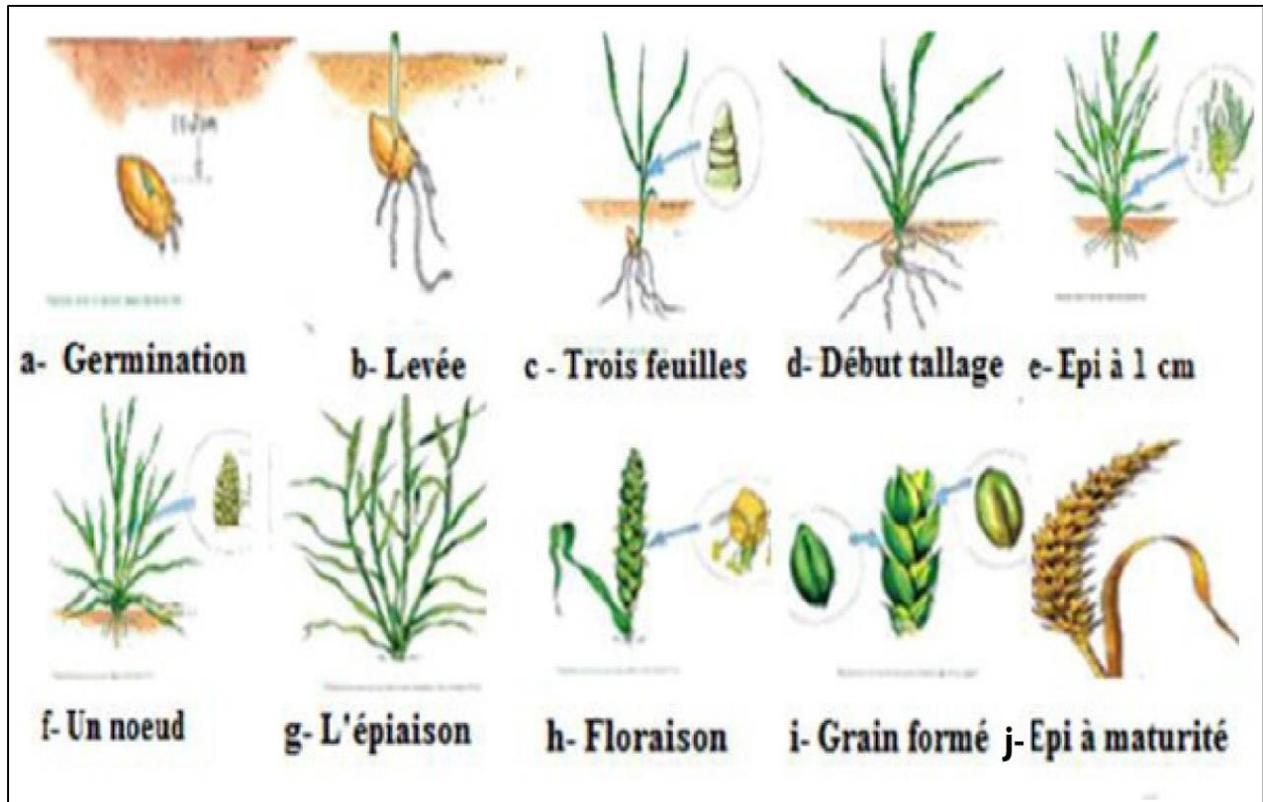


Figure 2 : Différents stades de développement du blé (Soltner, 2005).

	Seedling			Tillering				Stem elongation /jointing				Booting	Flowering			Ripening	
	Just coleoptile tip	First leaf unfolded	Three leaves unfolded	Main shoot and 1 tiller	Main shoot and 5 tiller	Leaf Sheaths lengthen	Leaf Sheaths strongly erected	First node from stem visible	Second node from stem visible	Last (Flag) leaf just visible	Ligule of the last leaf just visible	In boot	Head visible (heading)	Emergence of inflorescence completed	Anthesis	From milky to hard grain	Ripening
Zadocks	9	11	13	21	25	29	30	31	32	37	39	45	50	59	61-69	71-79	92
Feekes		1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	10.1	10.5		11	

Figure 3 : Stades de développement des céréales de Zadoks *et al.*, (1974).

1. Période végétative

Elle se caractérise par un développement strictement herbacé et s'étend du semis à la fin du tallage.

Elle se divise en deux phases :

- **Phase de germination - levée** : La germination est le passage de la semence de l'état de vie lente à l'état de vie active (Figure 2a). Le grain de blé ayant absorbé au moins 30% de son poids en eau. La coléoptile joue un rôle protecteur et mécanique pour percer le sol. À la levée des premières feuilles amorcent la photosynthèse (Figure 2b). Néanmoins les réserves du grain continuent à être utilisées. On parlera de levée lorsque 50% des plantes seront sorties de la terre (Figure 2c) (Chabi *et al.*, 1992).
- **Phase levée – tallage** : Le début du tallage est marqué par l'apparition de l'extrémité de la première feuille dutalle latérale primaire (Figure 2d). Il est caractérisé par la formation du plateau de tallage l'émission des talles, et la sortie des nouvelles racines.

2. Période reproductrice

Elle comprend :

- **Phase montaison – gonflement** : se manifeste à partir du stade épi à 1 cm (Figure 2e). C'est la fin du tallage herbacé et la tige principale ainsi que les talles les plus âgées commencent à s'allonger suite à l'élongation des entrenœuds, auparavant emplies sous l'épi (Belaid, 1996). Le gonflement est suivi du stade 1 à 2 nœuds (Figure 2f). Ici les nœuds sont aisément repérables sur la tige. Pendant cette phase de croissance active, les besoins en éléments nutritifs, notamment en azote, sont accrus (Merizek, 1992).
- **Phase épiaison –floraison** : C'est au cours de cette période que s'achève la formation des organes floraux et s'effectue la fécondation (Figure 2h). Le nombre de fleurs fécondées durant cette période critique dépendra de la nutrition azotée et de l'évapotranspiration (Clement et Prats., 1970). La floraison correspond au maximum de la croissance de la graine qui aura élaboré les trois quarts de la matière sèche totale et dépend étroitement de la nutrition minérale et de la transpiration influençant le nombre final de grain par épi.

3. Période de formation et de maturation du grain

Cette période concerne les étapes d'agrandissement des grains puis de maturation des mêmes grains :

- **Grossissement du grain** : Il correspond à la croissance de l'ovaire. Il s'agit d'une phase d'intense activité de la photosynthèse (Figure 2i). À la fin de cette phase 40 à 50% de réserves se sont accumulées dans le grain à taille définitive, restant mou et de couleur verte. C'est le stade grain laiteux (Chabiet *al.*, 1992).
- **Maturation du grain** : D'après Belaid (1996), la maturation correspond à l'accumulation de l'amidon dans les grains (Figure 2j). Par la suite, les grains perdent leur humidité à 45% d'humidité (stade pâteux), à 20% d'humidité (stade rayable à l'ongle) et à 15 – 16% d'humidité (stade cassant, mûr pour la récolte).

III. PRODUCTION DU BLE

A. PRODUCTION MONDIALE

Les indications actuelles laissent entrevoir une légère hausse de la production mondiale de céréales en 2021. Selon les prévisions préliminaires de la FAO (2021), la production mondiale de blé pourrait croître pour la troisième année consécutive en 2021 et atteindre 780 millions de tonnes, un nouveau record (Figure 4). Les cinq plus grands producteurs de blé sont l'union européenne, la Chine, l'Inde, la Russie et USA.

A. PRODUCTION NATIONALE

La campagne agricole céréalière 2020-2021 enregistrera un très bon niveau de production estimé environ : 98 Millions de quintaux (MQx), dont 48,2 Mqx de Blé Tendre, 23,4 MQx de Blé dur et 26 MQx d'Orge. Soit une hausse de 20,6% par rapport à la campagne 2019/2020 et 54,8% par rapport à la moyenne des cinq dernières années (Figure 5).

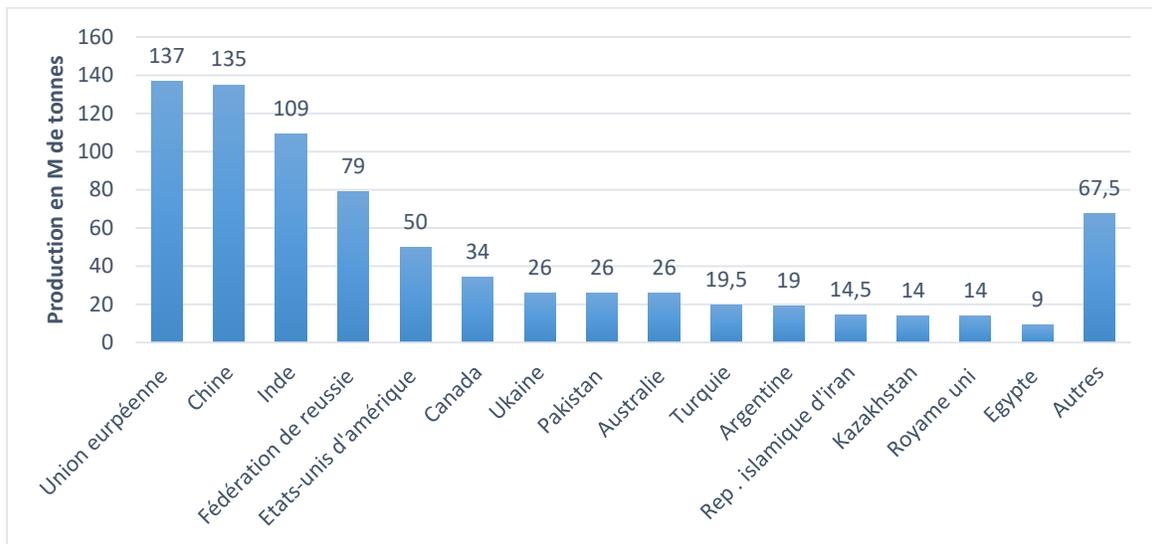


Figure 4 : Principaux producteurs de Blé (FAO, 2021).

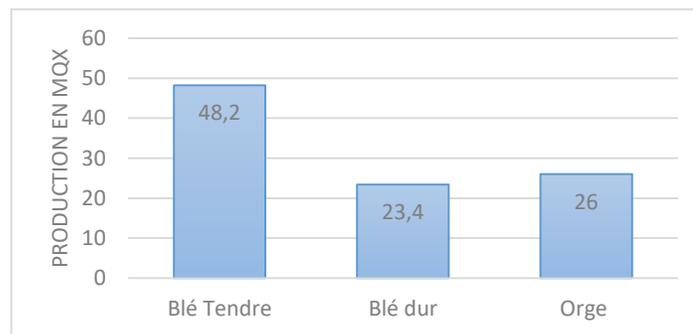


Figure 5 : Production des trois principales céréales au Maroc en MQx (MAPMDREF, 2021).

Cette augmentation est due aux conditions climatiques favorables. Ces résultats ont été enregistrés grâce à la combinaison des efforts des agriculteurs et l'impact positif de la stratégie des agriculteurs, déployés lors de la dernière décennie. Notamment de la sélection variétale, de la disponibilité des semences sélectionnées, de mécanisations agricoles, d'itinéraires techniques, d'assurances agricoles et de conseils agricoles (MAPMDREF, 2021).

Cette production résulte d'une superficie céréalière semée au titre de cette campagne de 4,35 millions d'hectares.

IV. IMPORTANCE DES CEREALES

A. IMPORTANCESOCIO-ECONOMIQUE

L'importance socio-économique de cette filière n'est plus à démontrer. Avec une superficie de 5,3 millions d'hectares, le Maroc produit, en moyenne, 50 millions de quintaux par an. La contribution au PIB agricole (PIBA) est située entre 10 et 20%. Les 1,4 millions d'exploitations agricoles nationales génèrent un chiffre d'affaires de 15 milliards de dirhams.

Chaque année, le Maroc importe des céréales à hauteur de six Milliard de dirhams (MAPMDREF, 2020).

Le tissu industriel de la filière céréalière est composé de 211 unités répartis comme suit :

- 134 minoteries industrielles de blé tendre ;
- 58 semouleries de blé dur ;
- 19 orgeries.

B. IMPORTANCE NUTRITIONNELLE DU BLE DUR

Triticum durum Desf occupe une place importante parmi les céréales dans le monde. Les grains de blé dur sont utilisés pour faire des pâtes, du couscous et de nombreux autres aliments comme le pain. Il est utilisé pour préparer des chappattis dans le sous-continent indien et des tortillas en Amérique centrale et du Sud (Pena et Pfeiffer, 2005). La paille est utilisée comme litière et comme alimentation animale (Bahlouli *et al.*, 2005).

Le blé dur a une valeur nutritive élevée en raison de sa haute teneur en protéines et de la présence de gluten, ce qui donne aux pâtes une meilleure condition de cuisson. Il contient également des acides aminés, des lipides, des glucides, des sels minéraux et des vitamines (Pena & Pfeiffer, 2005). C'est donc l'une des principales ressources alimentaires de l'humanité.

V. CONTRAINTES DU BLE DUR

L'analyse des contraintes à la production est une étape majeure dans la définition d'un programme d'amélioration génétique. Les contraintes à la production qui peuvent être surmontées par les techniques de l'amélioration génétique du blé dur peuvent être divisées en deux groupes :

A. CONTRAINTES BIOTIQUES

Les maladies cryptogamiques constituent une contrainte majeure à la production du blé dur au Maroc. Parmi les maladies les plus importantes, il y a la septoriose et les rouilles (Tableau 2).

Tableau 2 : Principales maladies du blé (Sayoud *et al.*, 1999).

	Agent causal/Organe touché	Description
Septoriose	<i>Septoria nodorum</i> ou <i>Stagonospora</i> Epis, feuilles, glumes, graine des feuilles, nœuds.	<ul style="list-style-type: none"> • La plus abondante chez le blé. • Apparition de taches ovales, initialement jaunes (chlorose), qui virent ensuite au brun (nécrose). • En présence d'humidité ou de pluie, les pycnides se gorgent d'eau, gonflent et les spores sont excrétées sous forme de gelée ressemblant à des spores. • Fruits de champignon sous forme de pycnides, points noirs dans les taches nécrotiques (Annexe 2a).
Rouille	Rouille jaune : <i>Puccinia striiformis f. sp. tritici</i> Feuille, épis et parfois les grains.	<ul style="list-style-type: none"> • Une maladie fongique principalement foliaire. • Une des maladies du blé les plus importantes au monde. • Les symptômes apparaissent environ une semaine après l'infection. • Le climat froid de l'hiver réduit la croissance du champignon (Annexe 2b).
	Rouille noire : <i>Puccinia Graminis Striiformis</i> Feuilles et tiges et épis.	<ul style="list-style-type: none"> • Pustules de couleur rouge-brique à marron foncé. • Elle est favorisée par l'eau et la chaleur (Annexe 2c).
	Rouille brune : <i>Puccinia recondita f.sp.tritici</i> Feuilles.	<ul style="list-style-type: none"> • Se manifeste souvent en automne, petites pustules circulaire ou ovales de couleur orange ou brune (urédospores), apparaissant sur la face supérieure des feuilles et parfois sur la face inférieure des feuilles (Annexe 2d).

B. CONTRAINTES ABIOTIQUES

Les contraintes abiotiques sont dues à des facteurs physiques environnementaux, principalement le sol et le climat. Ainsi on distingue l'éclairement, le stress thermique et le stress hydrique.

- **Eclairement** : La lumière est la source d'énergie permettant aux plantes de décomposer le CO₂ atmosphérique pour la fixation du carbone et la photosynthèse des glucides. Cependant, l'éclairement peut devenir une source de stress du fait de son intensité. Une intensité lumineuse trop faible ou trop élevée, conduit à des phénomènes de photosensibilisation dangereux pour la plante (Leclerc, 1988). Dans les conditions de croissance des hautes terres, un éclairage excessif est un stress, qui conduit à la photo-inhibition des centres réducteurs des photosystèmes (Ykhlef, 2001).
- **Stress thermique** : Les blés sont semés en automne qui connaît des températures changeables. Les gelées tardives peuvent se produire en début de printemps et causer des dégâts importants au niveau de la fertilité de l'épi et du rendement. Des températures excessivement élevées combinées à une sécheresse précoce peuvent endommager, d'une part, les plantes récemment levées, et d'autre part, la phase de maturation du grain et par conséquent aboutir à des échaudages au grain, des cassures pendant la récolte et une germination réduite des grains. Cependant, la tolérance aux températures élevées doit encore être améliorée dans les futures variétés. L'interaction entre l'effet variétal et les contraintes abiotiques liées à la structure minéralogique des sols est peu étudiée dans le cas du blé dur (Anonymes, 1996).
- **Stress hydrique** : Le stress hydrique survient pendant les périodes de sécheresse, mais aussi lors de l'augmentation de la salinité de l'environnement ou pendant les périodes de froid (Bousbaet *al.* 2009). D'un point de vue physique, le stress hydrique est causé par la réduction du potentiel hydrique des plantes en dessous de la spécificité de l'environnement et est finalement le principal facteur limitant la croissance et le rendement des céréales (Turner, 1986).

VI. CARACTERISATION PHENOTYPIQUE

L'analyse de la diversité au sein et entre les populations est déterminée par l'évaluation des différences morphologiques via des mesures des caractères phénotypiques. En effet, ces caractères ont l'avantage d'être immédiatement disponibles, ne nécessitant aucun équipement sophistiqué et permettant une caractérisation directe du phénotype. Cependant, ces déterminations morphologiques varient selon les stades de développement et peuvent être sujettes à des changements dus à des facteurs environnementaux (Pecettiet *al.*, 1992). Sur la base de la caractérisation phénotypique des variétés cultivées, il existe plusieurs caractères contribuant à la sélection pour la tolérance aux stress abiotique et biotique, à savoir, les caractères agronomiques et les caractères morphologiques.

A. CARACTERES AGRONOMIQUES

- **Précocité** : La précocité à l'épiaison et à maturité est souvent utilisée comme critère de sélection. C'est un mécanisme important d'esquive aux contraintes climatiques (Wardlaw et Moncur, 1995). D'après Blum (1988), la sélection en conditions de stress hydrique conduit à retenir des génotypes à cycle précoce dans les conditions favorables, ces génotypes accomplissent leur cycle de développement avant l'installation de la contrainte hydrique. Monneveux (1997) a ajouté que la précocité chez les céréales à paille cultivées en zones méditerranéennes est une manière de pallier aux conditions défavorables du milieu (sécheresse, stress hydrique, hautes températures, etc.).
- **Nombre de grains par épi** : C'est le caractère le plus associé au rendement, il joue un rôle primordial dans la variabilité du rendement (Nachit, 1986). Ce paramètre dépend de la fertilité des épillets et peut s'associer à d'autres composantes du rendement (Hamada, 2000).

L'amélioration du rendement passe nécessairement par le raisonnement sur le nombre de grains par épi qui explique, à 75%, les variations du rendement. Il est fonction du nombre d'épillets par épi et du nombre de grains par épillet. Ce nombre diminue au fur et à mesure que la densité en épis augmente (Grignac, 1981).

- **Poids de 1000 grains :** Utilisé surtout dans la sélection des variétés pour caractériser la grosseur et la densité des grains, le poids de mille grains est un critère variétal très important. Grignac (1981) a précisé que le poids de mille grains diminue lorsque la fertilité de l'épi augmente. Ce poids dépend fortement des conditions climatiques et de la nutrition azotée durant la maturation. De ce fait, le blé subit des fluctuations liées, en particulier, à l'échaudage.
- **Teneur en eau :** L'eau est un des constituants de base du grain (environ 13%). L'intérêt de connaître précisément la teneur en eau d'une céréale ou de la farine est avant tout réglementaire. En effet, la réglementation impose une teneur en eau $<$ à 15% afin de faciliter la conservation et d'éviter une altération (Scotti, 1997).
- **Pilosité des feuilles et des tiges :** La pilosité des feuilles et des tiges induit une augmentation de la réflexion des radiations incidentes et limitent donc l'élévation de la température des feuilles et contribuent par conséquent, à limiter les pertes d'eau par transpiration (Bengston *et al.*, 1978 ; Anderson *et al.*, 1984 ; Clarke et Richards, 1988; Arauset *et al.*, 1991).
- **Glaucescence :** La glaucescence réduit le taux de déperdition d'eau (transpiration cuticulaire) en conditions de déficit hydrique et influence fortement le rendement et l'efficacité d'utilisation de l'eau en retardant la sénescence foliaire (Richards, 1986 ; Ludlow et Muchow, 1990).
- **Production des cires :** Elle est liée à des facteurs environnementaux tels que : la faible humidité de l'air, une forte radiation lumineuse ; la réduction de la disponibilité de l'eau du sol (Bengston *et al.*, 1978 ; Levitt, 1980 ; Johnson *et al.*, 1983).
- **Rendement en grain :** Le rendement étant un caractère quantitatif complexe, sa variation est sous contrôle d'un grand nombre de gènes. Une méthode plus analytique, basée sur l'utilisation de caractères morphologique, physiologiques et liés à l'adaptation à la sécheresse a été proposée par (Richards, 1986 et Monneveux, 1991). Chez le blé dur, le rendement en grain est la résultante de plusieurs paramètres et des conditions environnementales dans lesquelles la plante est cultivée.

B. CARACTERES MORPHOLOGIQUES

Un paramètre morphologique ne peut, en toute rigueur, être utilisé en sélection qu'après la vérification de son rôle effectif dans la tolérance aux stress, en particulier, à la sécheresse et après d'être assuré que son héritabilité est suffisante pour donner lieu à une sélection.

- **Hauteur de la plante :** La hauteur de la plante apparaît comme un critère de sélection important. Meklich– Hanifi (1983) trouve une liaison positive et significative entre le rendement et la hauteur de la paille. Une paille haute s'accompagne souvent d'un système racinaire profond ce qui confère à la plante une capacité d'extraction de l'eau supérieure (Bagga *et al.*, 1970).
- **Longueur du col de l'épi :** constitue un bon indicateur de tolérance au déficit hydrique. Le rôle de ce paramètre s'expliquerait par la quantité d'assimilats stockée dans cette partie de la plante qui sont des organes susceptibles d'être transportés vers le grain en cas de déficit hydrique terminal (Gate *et al.*; 1990).
- **Barbe :** La longueur des barbes est un paramètre morphologique qui semble être étroitement lié à la tolérance au déficit hydrique terminal (Hadji, 1985). La présence des barbes augmente l'efficacité d'utilisation de l'eau et l'élaboration de la matière sèche lors de la phase de maturation du grain (Nemmar, 1980). Slama (2002) mentionne que la variété ayant la barbe la plus développée, sous contrainte hydrique présente le meilleur rendement. En plus, lors de la phase du remplissage des grains, la photosynthèse est moins sensible à l'action inhibitrice des hautes températures chez les génotypes barbus comparativement aux génotypes glabres (Fokar *et al.*, 1998).
- **Caractéristiques de l'épi :** Les caractéristiques de l'épi contribuent également à une limitation des pertes d'eau (Febrero *et al.*, 1989). En raison de la sénescence des feuilles, d'autres organes peuvent jouer le rôle de relais. L'épi assure une activité photosynthétique importante au cours du remplissage du grain (Febrero *et al.*, 1989). En cas de déficit hydrique, la photosynthèse de l'épi participe relativement plus au remplissage que la photosynthèse de la feuille étendard (Bammoun, 1997).

- **Surface foliaire :** La feuille est l'organe le plus sensible à la contrainte hydrique, elle change de forme et d'orientation en présence d'un déficit hydrique (Gate *et al.*, 1993). Les déficits survenant en pleine phase de floraison entraînent la sénescence de la feuille en réduisant la photosynthèse (Nachit *et al.*, 1992). La feuille étendue est la principale unité fonctionnelle des photosynthétats qui contribuent à la formation du grain.

VII. CARACTERISATION GENOTYPIQUE

Le caractère génotypique d'une espèce ou d'une population est lié au gène et varie selon l'environnement. Il est déterminé par l'étude des marqueurs moléculaires. Les programmes de sélection, d'amélioration et de conservation se basent sur des caractères génotypiques associés aux caractères phénotypiques.

Les marqueurs moléculaires sont des séquences d'ADN identifiables, situées à des emplacements spécifiques du génome, et associés à la transmission d'un gène lié à un caractère. Les marqueurs moléculaires représentent une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeur agronomique et dans les programmes de sélection assistée chez les céréales (Eagles *et al.*, 2001 ; Langridge *et al.*, 2001 ; Dekkers & Hospital, 2002).

Il existe un nombre croissant de marqueurs moléculaires et des techniques pour l'étude des caractères génotypiques chez le blé. Le choix des marqueurs moléculaires dépend de l'objectif fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire. Les principales méthodes sont : Les RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), les RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), les AFLP (Amplified Fragment Length polymorphism). Les SSR (Simple Sequence Repeat) et les SNP (Single Nucléotide Polymorphisme) sont les méthodes les plus récentes.

A. MARQUEURS RAPD (MARQUEURS ADN POLYMORPHE AMPLIFIE ALEATOIRE).

Il s'agit d'une amplification par PCR de fragments d'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de tailles courtes (10 pb). Une amorce RAPD permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des locus dominants. Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose. Le polymorphisme décelé est dû à des mutations soit dans les régions amplifiées soit au niveau des sites de fixation des amorces.

Cette technique ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique (Williams *et al.*, 1990 ; Najimi *et al.*, 2003).

B. MARQUEURS RFLP (POLYMORPHISME DE LONGUEUR DES FRAGMENTS DE RESTRICTION).

Développée en 1980 par Botstein *et al.*, cette technique permet la mise en évidence de la variabilité d'une séquence nucléotidique après digestion par des enzymes de restriction, permettant la régénération de plusieurs fragments d'ADN de taille variables. Les différences génotypiques sont révélées par autoradiographie si la sonde est marquée par le phosphore radioactif, ou par réaction colorée si elle est associée à un conjugué enzymatique (Botstein *et al.*, 1980 ; Najimi *et al.*, 2003).

C. MARQUEURS AFLP (POLYMORPHISME DE LONGUEUR DE FRAGMENT D'AMPLIFICATION).

Fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires. Afin d'augmenter la quantité d'ADN, une pré-amplification est réalisée avec des amorces de séquence complémentaires. Ainsi, une seconde amplification sélective permet d'augmenter encore le nombre de fragments. Par conséquent, plusieurs fragments peuvent être visualisés sur le gel d'acrylamide dénaturant après coloration au nitrate d'argent, ou révélés par marquage radioactif ou fluorescent (Vos *et al.*, 1995 ; Najimi *et al.*, 2003).

D. MARQUEURS SSR (MICROSATELLITES REPETITIONS DE SEQUENCES SIMPLES).

Les microsatellites sont des séquences constituées de répétitions en tandem de motifs nucléotidiques. Les plus courants sont CA, CAT, GATA ; développées par Morgante et Olivieri, (1993). Le nombre de répétitions de ces motifs varie de quelques unités à plusieurs dizaines. L'analyse d'un marqueur microsatellite permet de révéler ces répétitions et présente un taux de polymorphisme élevé. Pour détecter ce polymorphisme on fait appel à la technique PCR. Une paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche d'un microsatellite est utilisée pour amplifier le même microsatellite chez différents individus (Moulet *et al.*, 2008). L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide. Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, co-dominants et aisés d'utilisation), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde.

E. MARQUEURS SNP (MARQUEURS POLYMORPHISME NUCLEOTIDIQUE)

Les marqueurs SNP sont basés sur des différences de séquence à des positions de paires de bases uniques dans le génome. Il existe de nombreux échanges de nucléotides uniques dans les génomes. Par conséquent, les marqueurs SNP fournissent une densité de marqueurs élevée. Pour la détection SNP, les sections d'ADN cibles sont des produits de PCR et une discordance avec la sonde révèle des SNP dans le segment d'ADN cible amplifié. Les segments d'ADN non appariés peuvent, ensuite, être séquencés comme le moyen le plus direct d'identifier les polymorphismes SNP (Gupta *et al.*, 2001 ; Rafalski, 2002 ; Weising *et al.*, 2005).

F. COMPARAISON ENTRE DES MARQUEURS MOLECULAIRES

Le tableau 3 représente, les différentes caractéristiques de chacune des techniques de marquage moléculaire éventuellement utilisées pour identifier la diversité génétique chez le blé. La comparaison entre les différents types de marqueurs a montré que les marqueurs SSR révèlent le polymorphisme le plus élevé (100%), suivi des RFLP (83,2%), des RAPD (63,3%) et des AFLP (46,6%) (Russell *et al.*, 1997).

Tableau 3 : Comparaison entre les différents marqueurs (Russell *et al.*, 1997).

	RAPD	RELP	AFLP	SSR	SNP
Quantité d'ADN (ug)	0,02	10	0,5 - 1	0,05	0,05
Qualité d'ADN	Haute	Haute	Moyenne	Moyenne	Haute
PCR	Oui	Non	Oui	Oui	Oui
Nombre de locus polymorphes analysés	1,5 - 50	1 - 3	20 – 200	1 – 6	1
Codominance	Non	Oui	Non	Oui	Oui
Facilité d'usage	Facile	Difficile	Facile	Facile	Facile
Automatisation	Moyenne	Faible	Moyenne	Grande	Grande
Reproductibilité	Faible	Grande	Elevée	Elevée	Elevée
Coût de développement	Faible	Faible	Moyen	Elevé	Elevé
Coût par analyse	Faible	Élevé	moyen	Faible	Faible

VIII. VARIETES DE BLE DUR AU MAROC

La variété est le produit de la sélection mis à la disposition de l'agriculteur. Une variété nouvellement enregistrée au catalogue national est une sélection qui a émergé parmi des milliers des produits intermédiaires qui sont des lignées fixées et familles en ségrégation. Au Maroc, les obtentions sont classées en trois groupes (AbbadAndaloussi et Chahbar, 2005) :

- Le premier groupe représente des variétés produites entre 1949 et 1980 (Annexe 3). Parmi celles-ci, les variétés Zeramek, Oued Zenati, Selbera et Kyperounda qui sont le résultat des croisements des populations locales marocaines, elles sont toutes hautes, tardives, sensibles à la verse et aux maladies. Cependant, elles ont une bonne qualité technologique. Les variétés Haj Mouline, Cocorit et Jori qui ont été produites aussi par hybridation locale, ont une paille et un cycle plus court, un meilleur potentiel de rendement, une meilleure adaptation agronomique mais une faible qualité du grain.
- Le second groupe est constitué de variétés inscrites entre 1980 et 2000 (Annexe 4). Ces variétés sont toutes à cycle et à paille courts. Elles sont très productives et présentent une adaptation large, convenant aux différentes zones agro écologiques du Maroc. Elles présentent des améliorations en termes de résistance aux maladies foliaires (Rouilles, taches helminthosporiennes et septoriennes) et aussi une qualité desgrains. Ces variétés ont une meilleure tolérance aux stress hydrique et thermique. Cependant, à l'exception de la variété Tomouh, elles ne sont pas encore adaptées aux zones de montagne.
- Le dernier groupe est composé de variétés résistantes à la cécidomyie et de variétés résistances à la fois à la cécidomyie et à la rouille brune, les deux principaux fléaux du blé au Maroc (Annexe 5). Ces variétés sont basées sur des croisements marocaines incluant comme parents des variétés déjà adaptées au Maroc et des génotypes sauvages importées. La collaboration internationale a permis de disposer des ressources génétiques nécessaires à l'opération d'introgession de la résistance dans les nouveaux blés durs.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I- MATERIEL VEGETAL

A. CHOIX DES GENOTYPES

Cette étude a été réalisée dans le laboratoire de Biotechnologie de l'INRA/ICARDA (Centre International de Recherche Agricole dans les Zones Sèches), situé à l'Institut National de la Recherche Agronomique à Rabat.

Les génotypes de blé dur (*Triticum durum*) utilisés dans le présent travail sont fournis par l'ICARDA. Afin d'étudier les caractères agro-morphologiques, 50 échantillons provenant de différentes localités (34 d'Italie, 8 du Maroc, 2 du Liban, 5 de la Syrie et 1 de la France) sont plantés dans la station expérimentale de Sidi El Aidi.

On note que ces échantillons emportent certaines génotypes inscrites au catalogue officiel et des génotypes non encore inscrites (Tableau 4).

Tableau 4 : Liste de génotypes du blé dur étudiés et leur origine.

Génotype	Inscrite au Maroc	Origine	Génotype	Inscrite au Maroc	Origine
Karim	1985	Maroc (8)	Sy Nilo	-	Italie
Irden	2003		Reale	-	
Faraj	2007		Antalis	-	
Nassira	2003		Saragolla	2011	
Marouane	2003		Gibraltar	-	
Tarek	1995		Marco Aurelio	-	
Farah	-		Claudio	2015	
Amjad	1995		Egeo	-	
Don Ricardo	-	Cesare	-		
Anco marzio	-	Marakas	-		
Don Ortega	-	Ermes	-		
Secolo	-	Zetae	-		
Rgt Leondur	-	Daurur	-		
Euroduro	-	Aureo	-		
Giulio	-	Sculptur	-		
Re Di Denari	-	Svevo	-		
Monastir	-	Lg Anubis	-		
Sfinge	-	Margherita	-	Liban (2)	
Don Norman	-	Zagharin	-	Syrie (5)	
Beltorax	-	Cham 1	-		
Core	-	Cham 3	-		
Amilcar	-	Cham 5	-		
Odisseo	2014	Cham 7	-		
Ovidio	-	Cham 9	-		
Iride	2010	Ramirez	2011	France(1)	

B. STATION EXPERIMENTALE DE SIDI EL AIDI

Le domaine expérimental de Sidi El Aidi du Centre Régional de la Recherche Agronomique de Settât, se situe à 16 Km Nord Ouest de la ville de Settât, à 55 Km de l'océan atlantique à une altitude de 240 m. Il se localise à la latitude 33° 07' 16'' Nord et la longitude 7° 37' 48'' Ouest (Figure 6), et se caractérise d'un climat semi-aride et une précipitation annuelle d'environ à 300 mm. Le sol est de nature calcimagnésique à texture argileuse, influencé par la présence abondante de carbonate de calcium et de magnésium (fournis par la roche mère). L'humidité atteint 216 mm, le pH est basique variant de 7,9 à 8,63. La partie de Sidi El Aidi couvre actuellement une superficie totale de 47 ha, avec une superficie totale agricole de 37 ha (Tableau 5).



Figure 6 : Carte de situation géographique du site expérimental de Sidi El Aidi.

Tableau 5 : Caractéristiques physico-chimiques du sol de site expérimental de Sidi El Aidi.

Argile (%)	Limon (%)	Sable (%)	pH	Calcaire total (%)	Matière organique (%)
52,1	25,3	22,6	7,90	13,6	2,54

La station de Sidi El Aidi pour la campagne 2020-2021 est caractérisée par un déséquilibre de la répartition des pluies. Les mois de Décembre, Février et Mars ont été assez sec et le mois de Janvier plus pluvieux avec 73 mm et des températures moyennes de l'ordre 11,40°C et 23,38°C. Ainsi la température minimale est de 10,80°C et la température maximale atteint 24,07°C (Figure 7).

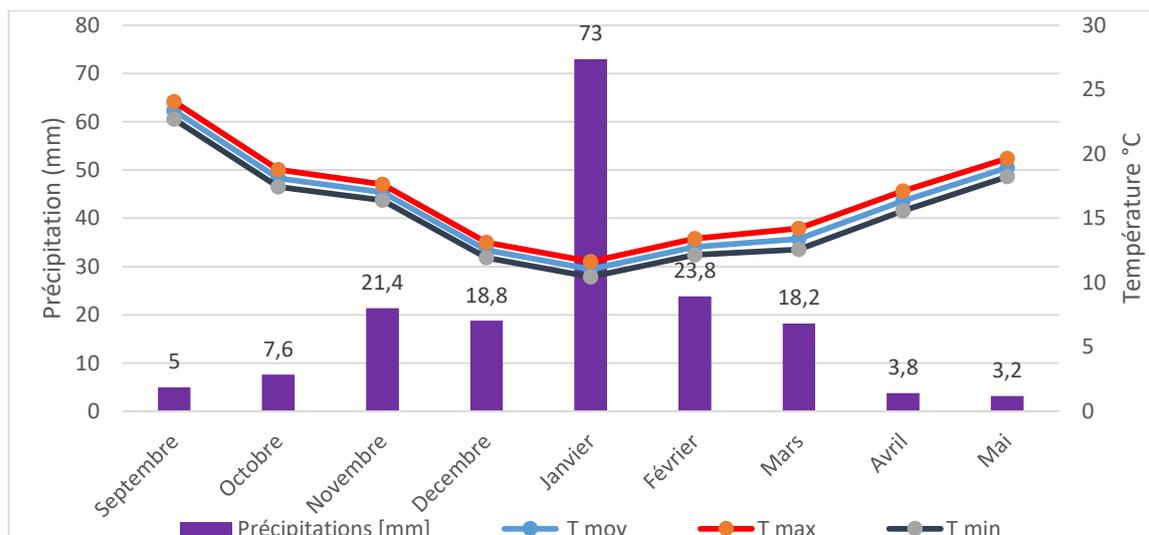


Figure 7: Données météorologiques de la station Sidi El Aidi en 2020-2021.

T min = température minimale

T max = température maximale

T moy = température moyenne

C. PARCELLES ETUDIÉES

Le site expérimental (Figures 8 & 9) s'étend sur 110 m de longueur et 10 m de largeur, il est composé de 50 parcelles de 10 /1,2 m. Un espacement d'un mètre a été appliqué entre les parcelles.

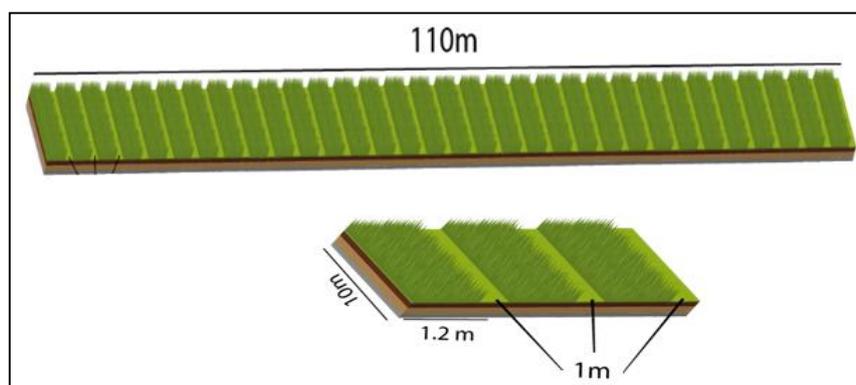


Figure 8 : Schémas de la parcelle étudiée en 3D.



Figure 9 : Terrain des parcelles étudiées.

II- ETUDE PHENOTYPIQUE

CARACTERES AGRO-MORPHOLOGIQUES

Le but de l'analyse des caractères agro-morphologiques est d'identifier et caractériser les génotypes en utilisant les recommandations de l'Union Internationale de Protection des Obtentions Végétales (UPOV, 1990) (Annexe 6). Ces derniers consistent en une série de mesures des différents caractères agro-morphologiques. Les observations sur les différents caractères sont enregistrées à différentes échelles de Zadoks *et al.*, (1974) (Figure 3).

1. Date d'épiaison

Cette caractéristique est notée lorsque le nombre de jours à partir du semis jusqu'au moment où 50 % de la pointe de l'épi apparaît. (Stade de développement de Zadok : 21-25) (Figure 10). Les mesures sont effectuées par évaluation visuelle.

2. Port de la plante

Les plantes de chaque parcelle sont observées au hasard. Le port est évalué visuellement à partir de l'attitude des feuilles et des talles au stade du tallage. (Stade de développement de Zadoks : 21-25) . Les angles formés par les feuilles extérieures sont enregistrés : érigé, semi érigé, intermédiaire, semi prostré et prostré (Figure 11).

3. Hauteur de la plante

La hauteur de la plante est mesurée au stade de maturité à partir du ras du sol jusqu'aux sommets des barbes de l'épi (Figure 12). (Stade de développement de Zadok : 75-92).

Dix répartitions ont été effectuées dans chaque parcelle alléatoire. Elle est exprimée en cm. On retient la moyenne de la hauteur de la plante.

4. Hauteur de l'épi

La hauteur de l'épi est mesurée à la maturation à partir de la base de l'épi (1^{er} rachis) jusqu'au sommet de l'épillet terminal (sans barbe) (Figure 13). (Stade de développement de Zadok : 90-92). Six mesures sont effectuées de chaque échantillon. Elle est exprimée en cm. On déduit la moyenne de la hauteur des épis.



Figure 10 : Etapes du stade de l'épiaison.

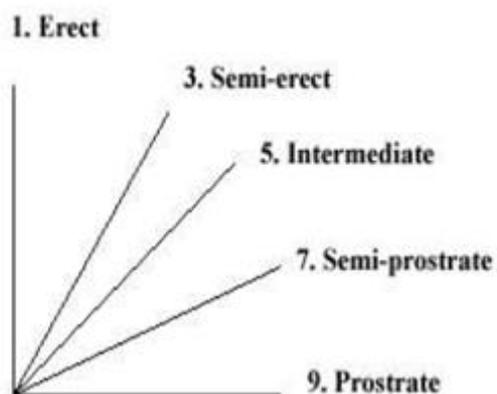


Figure 11 : Classement des habitudes de croissance des plantes.



Figure 12 : Hauteur de la plante.



Figure 13 : Hauteur de l'épi.

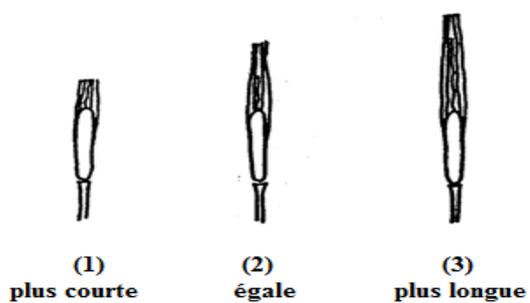


Figure 14 : Longueur des barbes par rapport à la longueur de l'épi.



Figure 15: Couleur de la barbe.

5. Longueur de la barbe à l'extrémité par rapport à la longueur de l'épi

La longueur de la barbe est mesurée pour chaque échantillon à partir du sommet de l'épi jusqu'à l'extrémité de l'arête la plus longue et on la compare avec la longueur de l'épi à travers trois classes. Six répétitions sont réalisées au stade de maturité (Stade de développement de Zadok : 75-92) (Figure 14).

6. Glume inférieure

Les notations effectuées au niveau de la glume inférieure à savoir : la forme, la forme de troncature, la largeur de la troncature, longueur du bec, la courbure du bec et la pilosité de la face externe de la glume inférieure sont des estimations visuelles. La touché fait partie également de ce genre d'observations. Ces dernières sont présentées en différentes modalités (Tableau 6) (Stade de développement de Zadok : 80-92).

7. Couleur de la barbe

Une évaluation visuelle faite sur les plantes de même génotype à travers une échelle de quatre classes est effectuée (Figure 15) (Stade de développement de Zadok : 90-92). :

- | | |
|------------------|-------------------|
| 1- Blanc | 2- Brun clair |
| 3- Pourpre moyen | 4- Pourpre foncé. |

8. Couleur et densité de l'épi

La couleur naturelle de l'épi du blé mature est évalué. Elle varie de blanc, faiblement coloré à fortement coloré (Stade de développement de Zadok : 90-92).

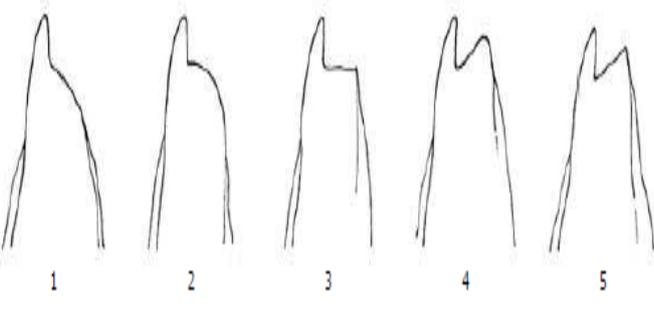
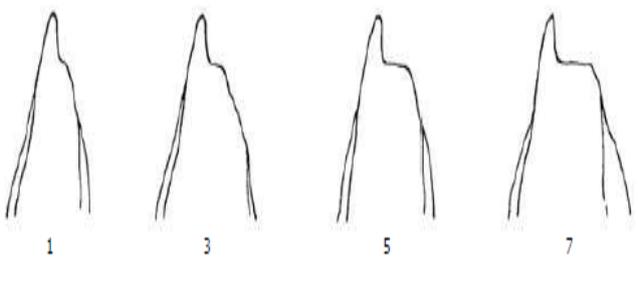
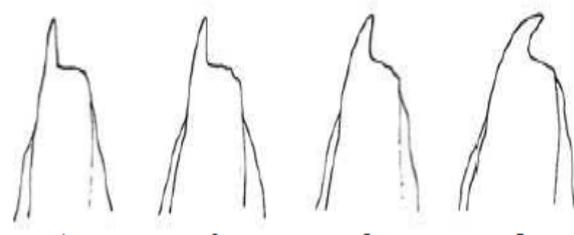
La densité des épis peut être déterminée en comptant le nombre d'épillets et en divisant ce nombre par la longueur de l'épi. Plus le rapport est élevé, plus la densité est importante.

9. Forme et longueur des poils de la brosse

La forme du grain est observée en vue dorsale (Figure 16). Les observations sont faites à la loupe.

La longueur des poils de la brosse est mesurée sur le sommet du grain et sur la face dorsale (Stade de développement de Zadok : 90-92) (Figure 17).

Tableau 6 : Observation de la glume inférieure.

<p>Forme de la glume inférieure</p>	<p>1- Ovoïde 2- Moyennement oblongue 3- Oblongue étroite</p>	
<p>Forme de la troncature</p>	<p>1- Inclinée 2- Arrondie 3- Droite 4- Echancrée 5- Echancrée avec Présence d'un 2^e bec</p>	
<p>Largeur de la troncature</p>	<p>1- Très étroite 3- Étroite 5- Moyenne 7- Large</p>	
<p>Longueur du bec</p>	<p>1- Très court 3- Court 5- Moyen 7- Long</p>	
<p>Courbure du bec</p>	<p>1- Nulle 3- Faible 5- Moyenne 7- Forte</p>	
<p>Pilosité de la face externe</p>	<p>1- Absente 9- Présente</p>	

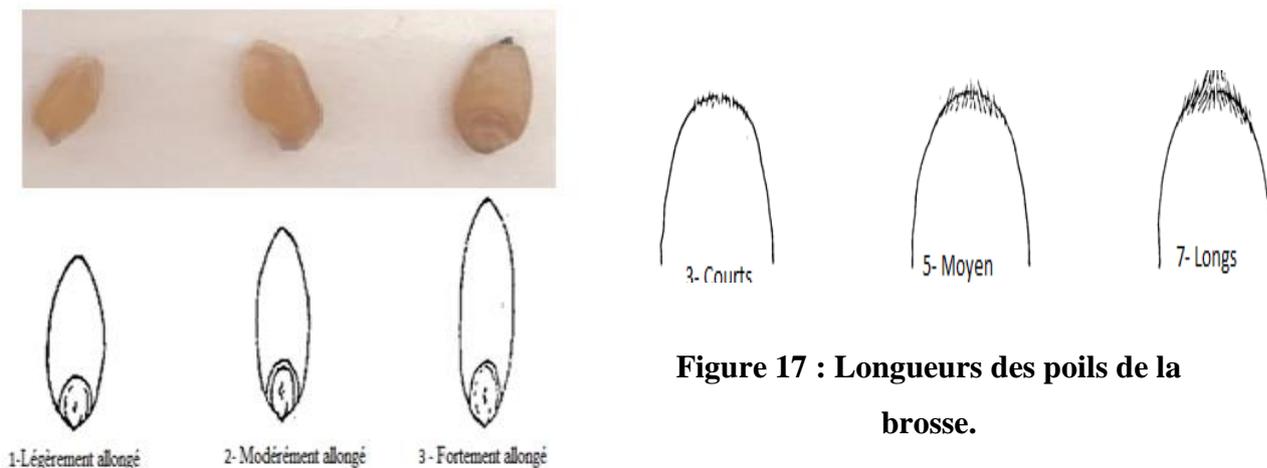


Figure 16 : Formes de la graine.

Figure 17 : Longueurs des poils de la brosse.

III- ETUDE GENOTYPIQUE

A. COLLECTE ET PREPARATION DES FEUILLES

Les feuilles de 48 échantillons sont prélevées à la station expérimentale de Sidi El Aidi ICARDA / INRA. Elles sont choisies sur la base de formes bien définies, afin que toutes aient la même taille et soient jeunes et saines de toutes maladies. Pour éviter la dégradation de ces feuilles, elles sont conservées à -80°C et placées dans un lyophilisateur pendant 72 heures, afin de permettre la déshydratation à basse température et une pression contrôlée. Ceci permet l'élimination de la majeure partie d'eau (Annexe 7a).

B. EXTRACTION DE L'ADN GENOMIQUE

Dans le présent travail, nous avons appliqué le protocole CTAB (Doyle *et al.*, 1987), très utilisé pour extraire l'ADN génomique des plantes, modifié par (Udupa *et al.*, 1998).

Le tampon d'extraction CTAB (Annexe 8a) pour un volume de 100 ml est composé de :

- 10 ml 1M Tris-HCl (pH 8) ;
- 28 ml 5M NaCl ;
- 4 ml 0.5M EDTA (pH 8) ;
- 2 g 2% (p/v) CTAB;
- 200 μl (v/v) du β -mercaptoéthanol à 0.2%.

Les différentes étapes suivies dans le protocole d'extraction, optimisé, sont :

- 20 mg des feuilles sont lyophilisées et broyées pour chaque échantillon pour servir à l'extraction d'ADN (Annexe 7a et 7b) ;

- Ajouter 1,5 ml de tampon d'extraction 2×CTAB chauffé à 65°C. Le CTAB est considéré comme un détergent cationique qui fragilise les liens entre l'ADN et les protéines ; ainsi, il détruit les structures lipidiques membranaires et fixe les polysaccharides et les polyphénols ;
- Incuber les tubes eppendorfs contenant le mélange dans un bain-marie à 65°C, pendant une heure, avec une agitation manuelle douce toutes les 15 min ;
- Ajouter 500 µl du chloroforme /alcool isoamylique (24/1) pour solubiliser les pigments et séparer les acides nucléiques du contenu cellulaire ;
- Agiter vigoureusement, pendant 10 à 15 min, à température ambiante ;
- Centrifuger, pendant 10 à 15 minutes, à 13000 trs/mn, à 4°C. A cette étape, se produit deux phases, une phase aqueuse supérieure contenant l'ADN, et une phase inférieure du chloroforme contenant des protéines dégradées, des lipides, et de nombreux composés secondaires. L'interface entre ces deux phases contient la plupart des débris cellulaires, et de nombreuses protéines dégradés, ...etc.;
- Récupérer le surnageant contenant l'ADN dans de nouveaux tubes eppendorfs de 2 ml ;
- Ajouter 666 µl d'isopropanol refroidir à -20°C, permettant la précipitation de l'ADN;
- Homogénéiser doucement jusqu'à la formation des filaments d'ADN. Il s'agit surtout de se débarrasser des impuretés en suspension dans la phase aqueuse ;
- Laisser reposer à 4°C, pendant 30 minutes ;
- Inverser les tubes doucement jusqu'à l'apparition d'une pelote blanche ;
- Récupérer le culot d'ADN par centrifugation, à 4°C à 13 000 trs/mn, pendant 10 minutes ;
- Laver le culot avec 1ml d'éthanol 70% refroidi à -20°C. L'éthanol permet d'éliminer les sels ou les traces d'isopropanol (lavage 2 fois) ;
- Agiter doucement et centrifuger à 4°C à 13000 trs/ mn, pendant 5 minutes ;
- Sécher le culot sous vide à température ambiante ;
- Diluer dans 100 µl d'eau distillée stérile et stocké à 4°C pour une nuit. A ce stade l'ADN obtenu est suffisamment pure et adapter à l'amplification ;
- Après 24h, centrifugé à 13000 trs/min pendant 5 min ;
- Transférer les surnageant dans des nouveaux tubes eppendorf de 1.5 ml à 4°C.

C. QUANTIFICATION ET TEST DE QUALITE DE L'ADN PAR ELECTROPHORESE SUR GEL D'AGAROSE

Après extraction de l'ADN, un test qualité par électrophorèse permet de révéler la présence de l'ADN et évaluer sa qualité. Cette évaluation est réalisée sur gel d'agarose 1% en comparant la bande d'ADN génomique avec un marqueur de poids moléculaire connu. Ce test comprend différentes étapes.

1. Préparation du gel d'agarose

Un gel d'agarose 1% d'un volume total de 100 ml est préparé (1 g de poudre d'agarose auquel on ajoute 10 ml de 10x TBE puis complété à 100 ml de l'eau distillée). Ensuite, le mélange est fondu au micro-onde pendant 2 min jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Puis, le gel est refroidi avec de l'eau. En suite, il est coulé lentement dans la cuve, en veillant à ce qu'il entoure bien les dents du peigne et le laisser refroidir.

2. Dépôt de l'ADN

Un mélange de 10 µl est composé de 5 µl d'eau distillée, 3 µl d'ADN et 2 µl du bleu d'agarose. Ce mélange est déposé dans les puits, en ajoutant le tampon de migration TBE (Tampon Tris-Borate-EDTA) qui couvre le volume du gel. La migration initiée à 40 V pendant 15 min puis 80 V pendant 1h à 1h30 min.

Après on passe à la coloration du gel dans un bain de Bromure d'éthidium (0,1%) (Annexe 7f), pendant 30 min, puis 20 min dans l'eau distillée stérile. Ce gel est visualisé sous UV puis scanné par le logiciel image-lab (Annexe 7e).

3. Fluorescence des bandes

La fluorescence des échantillons de l'ADN dans le gel d'agarose après électrophorèse est comparée à l'ADN standard du marqueur de poids moléculaire de l'ADN lambda (Annexe 9b) et à la concentration estimée de l'ADN isolé des échantillons.

Sur la base de l'ADN estimé, les 48 échantillons sont dilués à une concentration de 20ng/µl (environ 20 µl d'ADN isolé sont dilués en ajoutant 180 µl d'eau distillée stérile). Cet ADN est en suite utilisé pour l'analyse PCR.

D. ETUDES DE POLYMORPHISME MOLECULAIRE VIA LES MICROSATELLITES SSR

1. Procédures d'amplification de l'ADN

Les amorces SSR utilisés dans le présent travail, sont citées dans le tableau 7. En effet, les six premières amorces ont été citées par Röder *et al.* (1998) et les deux dernières par Somers *et al.* (2004), dans leurs travaux sur l'espèce *Triticum durum*.

Tableau 7 : Marqueurs microsatellites utilisés dans la présente étude.

Locus	Location	Séquence de l'amorce	Motif de répétition
<i>Xgwm11</i>	1B	F : 5' GGA TAG TCA GAC AAT TCT TGT G 3' R : 5' GTG AAT TGT GTC TTG TAT GCT TCC 3'	(TA) ₆ CATA(CA) ₁₉ (TA) ₆
<i>Xgwm389</i>	3B	F : 5' ATC ATG TCG ATC TCC TTG ACG 3' R : 5' TGC CAT GCA CAT TAG CAG AT 3'	(CT) ₁₄ (GT) ₁₆
<i>Xgwm273</i>	1B	F : 5' ATT GGA CGG ACA GAT GCT TT 3' R : 5' AGC AGT GAG GAA GGG GAT C 3'	(GA) ₁₈
<i>Xgwm146</i>	7B	F : 5' CCA AAA AAA CTG CCT GCA TG 3' R : 5' CTC TGG CAT TGC TCC TTG G 3'	(GA) ₅ GG(GA) ₂₀
<i>Xgwm130</i>	7A 2B 7B	F : AGC TCT GCT TCA CGA GGA AG 3' R : CTC CTC TTT ATA TCG CGT CCC 3'	(GT) ₂₂
<i>Xgwm193</i>	6B	F : CTT TGT GCA CCT CTC TCT CC 3' R : AAT TGT GTT GAT GAT TTG GGG 3'	(CT) ₂₄ imp(CA) ₈
<i>Xwmc24</i>	1A	F : GTGAGCAATTTTGATTATACTG 3' R : TACCCTGATGCTGTAATATGTG3'	(GT) ₂₈
<i>Xwmc89</i>	4A	F : ATGTCCACGTGCTAGGGAGGTA 3' R : TTGCCTCCCAAGACGAAATAAC3'	(CA) ₁₉ or (CT) ₈

B : Génome B

A : Génome A

2. Analyses moléculaires par PCR

La réaction en chaîne par polymérase PCR est réalisée avec une concentration de 20 ng/μl de l'ADN dans un volume total de 10 μl, conjointement avec le Master Mix (Tableau 8). Dans chaque tube PCR, placé à froid, on distribue 9 μl du Master mix (dans l'ordre du tableau 8) et 1 μl de l'échantillon d'ADN (Annexe 8b).

Tableau 8 : Composition du Master mix (50 échantillons)

Elément du mélange	[] finale	V final de 10μl	V total pour 53 échantillons
Eau ultra-pure ou ddH ₂ O	-	4.35 μl	230,55μl
Tampon 5x PCR	1x	2 μl	106 μl
25 mM MgCl ₂	1.5 mM	0.6 μl	31.8 μl
2 mM dNTP mix	200 μM	1 μl	53 μl
10 μM d'amorce chacun	0,1 μM	1 μl	53 μl
5u <i>Taq</i> polymerase	0.25 U	0.05 μl	2,65 μl

a- Mise au point de programme PCR

Afin d'assurer une amplification des séquences répétitives présentant une complémentarité avec les amorces utilisées, les tubes PCR sont centrifugés et placés dans un thermocycleur (Annexe 7d) réglé sur un programme adéquat. En effet, chaque programme utilise plusieurs cycles, au cours desquels le nombre de copies des fragments augmentent.

Une technique PCR comprend en général trois étapes à savoir :

- La dénaturation permettant la séparation des brins d'ADN par chauffage sous une température de 94 °C ;
- L'hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée sous une température de 65 °C ;
- L'élongation grâce à l'action de la *Taq* polymérase à 72 °C.

Cette technique PCR consiste à préparer les mix dans des tubes PCR, contenant l'ADN. L'amplification est réalisée dans un thermocycleur au cours de 32 cycles (Figure 18).

a- Electrophorèse sur gel d'acrylamide

Cette étape est primordiale, notamment pour l'étude du polymorphisme des constituants biologiques et nécessite les étapes suivantes :

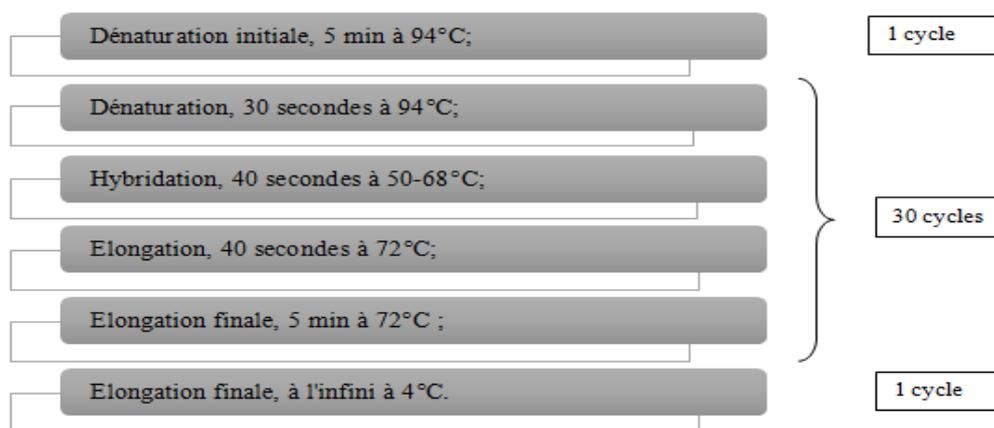


Figure 18 : Programme d'amplification de l'ADN par les amorces SSR utilisées.

• Préparation du gel de polyacrymide 6%

- Deux plaques en verre sont lavées dans un bain rempli de NaOH pour éliminer les résidus du gel, puis à l'eau de robinet, puis à l'eau distillée. Ces plaques sont séchées avec du papier adsorbant en gardant un peu d'humidité, ensuite, elles sont attachées avec des crochets (espaceur 1,5mm) ;

- Entre ces plaques, on place d'abord les peignes, puis on coule le gel d'acrylamide (22,3 ml d'acrylamide 6%, 110 µl de TEMED et 450 µl d'APS 25 %) et ajustement jusqu'à 150 ml ;
- Attendre la solidification du gel (40 min) (Figure 19) ;
- Après la solidification, les peignes et les crochets sont enlevés et la plaque est mise dans la cuve en versant le TBE 1x jusqu'au remplissage des puits (Annexe 8c) ;



Figure 19 : Plaque de gel d'acrylamide.

- Dépôt de 2 µl du marqueur de taille 100pb (Annexe 9a) + 6µl (ADN amplifié par PCR + bleu d'acrylamide) dans la plaque ; puis lancement du courant à 300 V pendant 1h à 2h.
- Lorsque la migration des bandes s'achève, le gel d'acrylamide est coloré par le BET, puis lavé instantanément avec de l'eau distillée pendant une minute, et enfin visualisé puis scanné. Le scanne du gel PCR/SSR est transféré vers le logiciel Image-Lab pour le traitement (Annexe 7e).

IV- ANALYSES STATISTIQUES

A. ANALYSE STATISTIQUE DES TRAITS AGRO-MORPHOLOGIQUES

La moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation sont estimés à l'aide d'EXCEL pour construire les histogrammes à l'aide du site socscistatistics.

<https://www.socscistatistics.com/descriptive/histograms/>

Les données agro-morphologiques ont également été utilisées pour l'estimation de la similarité génétique à l'aide de la distance euclidienne. Sur la base de l'indice de similarité, une analyse a été réalisée à l'aide de la méthode UPGMA. La distance euclidienne est définie comme suite :

$$D_{EU} = \frac{1}{m} \sum_j^m \sqrt{\sum_i^{a_j} (p_{ij} - q_{ij})^2}$$

B. ANALYSE STATISTIQUE DES TRAITS GENETIQUES

- **Présence / absence des allèles :** La notation des bandes d'ADN relative aux SSR débute par un comptage manuel des allèles pour chaque profil électrophorétique, (1) pour présence et (0) pour absence. La taille de chaque allèle par locus est déterminée en se référant à un marqueur de taille d'ADN de 100 pb.
- **Fréquence de l'allèle majeur :** L'allèle majeur est défini comme étant l'allèle le plus fréquent au niveau de chaque profil électrophorétique obtenu sur gel de polyacrylamide 6%.
- **Diversité génétique :** L'indice de la diversité génétique (H) obtenu pour chacun des huit loci SSR est déterminé en utilisant la formule de Nei 1987 :

$$H = n (1 - \sum p^2) / (n-1)$$

où n est le nombre d'échantillons et p est la fréquence allélique à un locus SSR donné. Le calcul est fait en utilisant le programme Microsoft Excel.

- **Contenu informatif du polymorphisme (PIC) :** Une mesure de la diversité est étroitement liée au contenu des informations du polymorphisme (PIC) (Boststein *et al.*, 1980). Il a été estimé comme suit :

$$\widehat{PIC}_l = 1 - \sum_{u=1}^k \tilde{p}_{lu}^2 - \sum_{u=1}^{k-1} \sum_{v=u+1}^k 2\tilde{p}_{lu}^2 \tilde{p}_{lv}^2$$

- **Distance génétique :** La matrice binaire qui est obtenue à partir de la lecture des profils électrophorétiques correspondant à tous les microsatellites analysés a été utilisée pour calculer la distance génétique entre chaque paire d'accèsion en utilisant la formule de Jin & Chakraborty (1993).

$$D_{SAB} = 1 - [2P_{SAB} / (P_{SAX} + P_{SAY})]$$

Avec P_{SAX} et P_{SAY} : la proportion moyenne d'allèles partagés entre les populations X et Y.

P_{SAB} , P_{SAX} , P_{SAY} : sont calculées par toutes les combinaisons possibles entre les génotypes pris deux à deux.

- **Etablissement du dendrogramme :** La matrice de la dissimilarité de Jaccard (1901) entre chaque paire de génotypes étudiés, elle est utilisée afin de construire un dendrogramme par la méthode Weighted Neighbor-Joining (Perrier *et al.*, 2003). Les valeurs de bootstrap sont calculées après 1000 ré-échantillonnages.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DE BLE DUR

A. PARAMETRES AGRO-MORPHOLOGIQUES

Les traits agro-morphologiques à différents stades de croissance chez la plante saine, de l'épis, de la glume et les grains sont étudiés au sein de 50 génotypes de blé dur (8 marocains et 42 étrangers). Cette étude a permis de mettre en évidence la diversité phénotype au sein des espèces comparées.

1. Phase d'épiaison

Selon les phases du cycle biologique des génotypes et à la lumière des résultats obtenue, nous pouvons classer les échantillons en 3 groupes (Tableau 9) :

- Groupe 1 : Comprend 64% sont échantillons considérés très précoces. Les individus ont une durée d'épiaison allant de 86 à 94 jours. Ce groupe est composé de 32 génotypes provenant du Maroc (dont 6 parmi 8), de l'Italie et de la Syrie.
- Groupe 2 : Renferme 30% des échantillons ayant une durée d'épiaison variant entre 94 à 102 jours, Il contient des génotypes Marocains, Italiens et Français ;
- Groupe 3 : Sont des génotypes à épiaison semi tardifs correspond aux génotypes italiens Sculptur, cesare et Daurur (Figure 20a).

La moyenne globale de ce caractère est de $93,02 \pm 3,86$ cm, avec un coefficient de variation de 4,15% (Annexe 10).

En effet, plusieurs études expliquent l'intérêt de la précocité comme un mécanisme qu'utilise la plante pour s'échapper à la sécheresse. Selon Berger (1985), la précocité au stade épiaison est associée à la réduction de la hauteur de la paille et à l'augmentation de la capacité du tallage-épi. Une plus grande persistance de la chlorophylle, donc de l'activité photosynthétique post-anthèse, est souvent notée chez les génotypes précoces (Al Hakim et al., 1994).

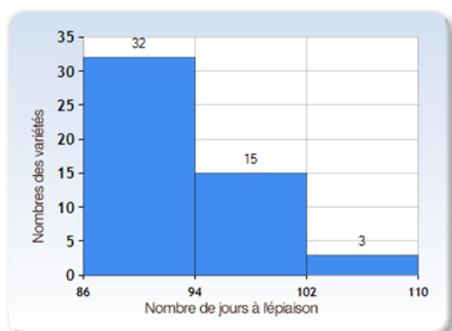
1. Port de la plante

Les résultats montrent que 45 génotypes provenant du Maroc, de l'Italie, de la Syrie, du Liban et de la France ont un port entre érigé et semi érigé. Alors que cinq, parmi les génotypes italiens, sont semi érigés (Figure 20b).

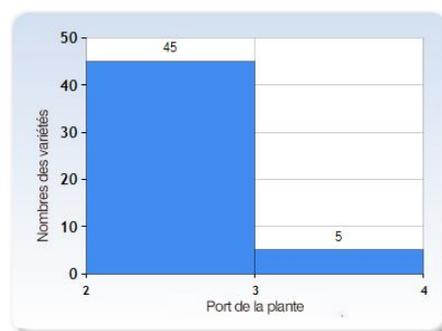
La moyenne globale est de $2,1 \pm 0,30$ et d'un coefficient de variation de 14,28% (Annexe 10). C'est un trait favorable à la sélection de génotypes à haute production et à faible perte de grain et de paille.

Tableau 9 : Identification de quelques paramètres morphologiques.

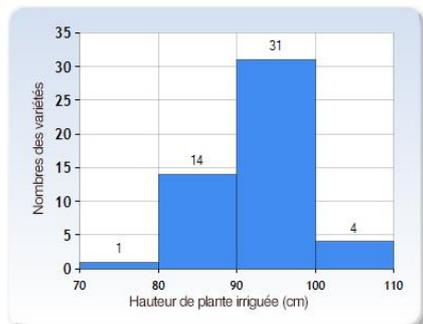
Géotypes	Origine	Hauteur de la plante en (cm)		Longueur de la barbe	Longueur de l'épi	Date d'épiaison (Jours)
		Non irriguées	Irriguées			
Karim	Maroc	80,9 ± 3,54	90,6 ± 7,14	12,08 ± 0,80	7,25 ± 0,41	91
Faraj	Maroc	82,7 ± 3,74	101,1 ± 5,53	11,08 ± 0,99	7,55 ± 0,50	92
Irden	Maroc	84,7 ± 3,83	93,1 ± 5,82	12,25 ± 2,39	8 ± 1,05	91
Nassira	Maroc	77 ± 3,09	96,4 ± 2,88	11,37 ± 0,80	6,78 ± 0,34	94
Marouane	Maroc	74,4 ± 2,84	89,4 ± 3,40	9,35 ± 1,13	7,8 ± 0,31	92
Tarek	Maroc	75,2 ± 3,36	84,3 ± 3,83	11,85 ± 0,72	6,48 ± 0,50	92
Amjad	Maroc	75,2 ± 2,78	87,6 ± 6,62	12,25 ± 0,88	6,28 ± 0,40	89
Farah	Maroc	72,7 ± 3,92	94,8 ± 5,69	6,52 ± 1,12	7,98 ± 0,86	99
Don Ricardo	Italie	81,3 ± 4,60	89,6 ± 7,57	8,76 ± 0,29	6,78 ± 0,46	91
Anco_marzio	Italie	83 ± 4,69	94,5 ± 6,82	8,76 ± 0,79	6,83 ± 0,51	91
Don Ortega	Italie	84 ± 3,40	99,1 ± 3,96	7 ± 2,26	8,3 ± 0,36	97
Secolo	Italie	77,3 ± 4,00	93,6 ± 6,74	10,55 ± 1,24	7,53 ± 0,52	92
Rgt Leondur	Italie	79,7 ± 4,19	98,5 ± 5,04	9,53 ± 2,36	9,1 ± 0,51	95
Euroduro	Italie	80,1 ± 3,14	86,3 ± 3,37	11,48 ± 1,20	6,01 ± 0,50	93
Giulio	Italie	68,4 ± 3,84	98,4 ± 4,10	8,28 ± 0,66	7,08 ± 0,42	98
Ovidio	Italie	82,5 ± 3,37	101,1 ± 4,48	12,87 ± 1,48	6,51 ± 0,49	92
Iride	Italie	73,7 ± 2,31	90,5 ± 6,43	12,23 ± 2,45	7,63 ± 0,46	92
Sy Nilo	Italie	84,8 ± 3,52	96 ± 4,94	11,13 ± 0,77	7,38 ± 0,39	94
Reale	Italie	82,8 ± 4,98	81,8 ± 3,82	10,45 ± 1,15	7,91 ± 0,56	92
Antalis	Italie	79,7 ± 3,71	88 ± 2,75	8,93 ± 0,35	8,48 ± 0,49	91
Saragolla	Italie	80 ± 3,94	87,1 ± 5,95	12,3 ± 0,64	8,25 ± 0,40	91
Gibraltar	Italie	71,7 ± 3,23	95,8 ± 3,68	6,81 ± 2,51	8,3 ± 0,76	96
Re Di Denari	Italie	90,7 ± 8,21	95,5 ± 4,94	13,81 ± 1,08	5,98 ± 0,24	91
Monastir	Italie	82,1 ± 3,37	90,6 ± 3,74	11,85 ± 0,79	7,13 ± 0,59	92
Sfinge	Italie	72,3 ± 3,50	76,9 ± 3,25	12,2 ± 0,55	7 ± 0,43	94
Don Norman	Italie	83,7 ± 2,95	98,1 ± 5,13	8,5 ± 1,85	7,05 ± 0,59	92
Beltorax	Italie	82,9 ± 4,33	99,6 ± 3,95	11,16 ± 1,17	7,46 ± 0,81	95
Core	Italie	82,1 ± 4,48	95,1 ± 4,72	10 ± 0,86	6,35 ± 0,41	91
Amilcar	Italie	76,6 ± 3,41	84,7 ± 4,57	9,83 ± 0,67	7 ± 0,12	91
Odisseo	Italie	73,4 ± 2,80	97,2 ± 4,83	8,433 ± 0,79	6,8 ± 0,35	99
Marco Aurelio	Italie	66,9 ± 6,38	85 ± 5,01	9,2 ± 0,65	6,83 ± 0,28	99
Claudio	Italie	82,5 ± 5,19	94,3 ± 4,74	11,2 ± 0,77	6,26 ± 0,63	94
Egeo	Italie	85,9 ± 5,40	100,5 ± 6,86	9,5 ± 0,35	6,36 ± 0,22	95
Cesare	Italie	76,6 ± 4,06	93,5 ± 4,84	7,68 ± 0,66	9,18 ± 0,41	103
Marakas	Italie	78,5 ± 4,70	89,9 ± 4,88	10 ± 0,75	6,63 ± 0,70	94
Ermes	Italie	79,8 ± 4,78	98,9 ± 8,19	11,8 ± 0,91	7,03 ± 0,42	92
Zetae	Italie	76,3 ± 3,74	85,3 ± 6,11	11,68 ± 1,45	7,08 ± 0,45	91
Daurur	Italie	63,9 ± 5,11	94,5 ± 1,78	6,26 ± 2,35	7,15 ± 0,41	104
Aureo	Italie	79,5 ± 4,30	101,4 ± 5,78	13,33 ± 1,25	7,53 ± 0,32	90
Sculptur	Italie	59,1 ± 4,51	84,4 ± 6,24	8,716 ± 0,61	8,76 ± 0,65	102
Svevo	Italie	83,6 ± 4,50	93,5 ± 4,17	11,5 ± 0,62	5,08 ± 0,26	87
Lg Anubis	Italie	81,8 ± 2,35	85,6 ± 4,81	11,61 ± 0,84	5,41 ± 0,49	90
Margherita	Liban	90 ± 3,62	98 ± 4,24	9,73 ± 0,58	7,41 ± 0,36	86
Zagharin	Liban	90,6 ± 10,52	96,3 ± 2,58	12,75 ± 0,69	6,45 ± 0,38	87
Ramirez	France	80,5 ± 5,44	99,4 ± 2,80	6,9 ± 2,08	8,31 ± 0,87	95
Cham 7	Syrie	89 ± 5,10	91,5 ± 5,36	9 ± 0,65	6,6 ± 0,62	91
Cham 5	Syrie	99,1 ± 6,15	99,6 ± 3,53	9 ± 0,45	6,75 ± 0,61	92
Cham 9	Syrie	86,9 ± 2,88	95,4 ± 3,57	7,3 ± 1,65	7,13 ± 0,42	88
Cham 3	Syrie	79 ± 5,52	95,5 ± 4,09	11,33 ± 0,50	6,38 ± 0,37	92
Cham 1	Syrie	88,4 ± 2,75	96,3 ± 11,69	15,1 ± 1,57	7,25 ± 0,32	89



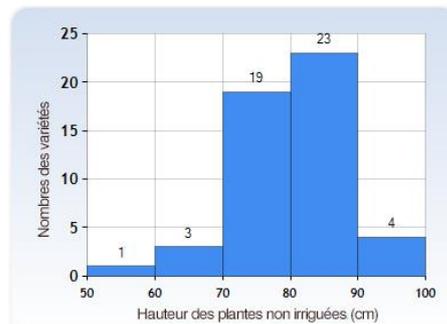
a : Nombre de jours d'épiaison.



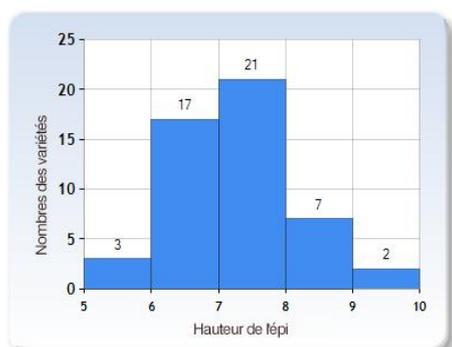
b : Port de la plante.



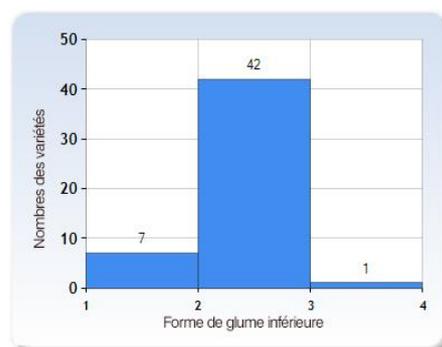
c : Hauteur de la plante irriguée (cm).



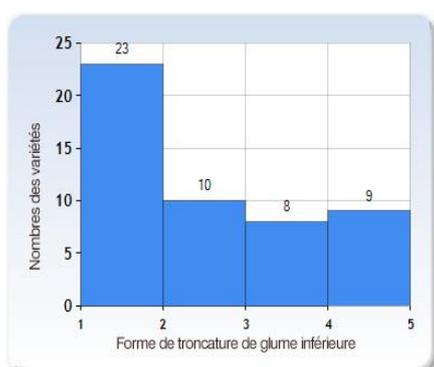
d : Hauteur de la plante non irriguée (cm).



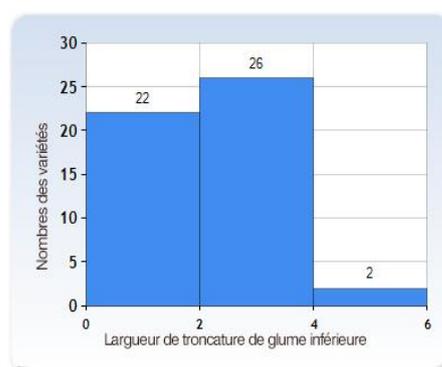
e : Hauteur de l'épi.



f : Forme du glume inférieure.



g : Forme de troncature du glume inférieure.



h : Largueur de troncature du glume inférieure.

Figure 20 : Répartition des fréquences pour les caractères : nombre de jours d'épiaison, port de la plante, hauteur de la plante, hauteur de l'épi, forme de la glume inférieure, forme de troncature du glume inférieure, largeur de troncature de la glume inférieure de blé dur.

2. Hauteur de la plante

La hauteur de la plante pour les parcelles irriguées varie entre plante de très petite ayant 76,9 cm, à très longue ayant 101,1 cm, valeur maximale enregistrée chez les génotypes Faraj, Ovidio, Egeo, et Aureo (Tableau9) (Figure 20 c). Le génotype italienne Sfinge est la plus petite. La moyenne globale est de $93,05 \pm 5,78$ cm et un coefficient de variation de 6,20%.

La hauteur des plantes des parcelles non irriguée varie fortement de 59.1 cm à 99.1 cm avec une valeur maximale enregistré chez les génotypes Cham5, Margherita, Zagharin et Re Di Denari(Tableau9). La valeur minimale est notée chez le génotypes Sculptur (Italie) avec une moyenne globale de $79,98 \pm 7,10$ cm avec un coefficient de variation 8,87% (Annexe 10). Cependant, la classe la plus abondante est la semi-naine chez les génotypes Marocains, Italiens, Syriennes et Française (Figure 20 d).

Nos résultats indiquent pour les 50 génotypes non irriguées ont une variabilité importante par aux génotypes irriguées. La valeur de la hauteur des plantes permet d'identifier deux groupes différents : semi-naines et naines. Néanmoins, la catégorie la plus abondante dans la population étudiée est la semi-naine où la hauteur varie de 70 à 100 cm chez les génotypes étrangers.

Nos résultats confirmant la conclusion du Passioura (1997) qui a mentionné que les effets du stress hydrique touchent toutes les fonctions de la plante chez le blé. Une réduction de la quantité d'eau disponible influence sur le métabolisme et les processus physiologiques contrôlant la croissance et le développement de la plante. Ces effets se répercutent par la suite sur le rendement et les composantes de rendement ainsi que sur la qualité. Ainsi, nos résultats sont en accord avec ceux d'Oudjani (2008) étudiant les caractères morphologiques de 25 génotypes de blé dur (*Triticum durum*). Cet auteur montrent que les moyennes de la hauteur de la plante varient de 80.1 cm 149.4 cm. Plusieurs auteurs cités par Allam *et al.* (2015) indiquent que les génotypes de céréales les plus tolérantes à la sécheresse sont des génotypes à paille haute. Selon les mêmes auteurs, cette tolérance est induite par un développement racinaire important en profondeur permettant l'extraction de l'eau des horizons profonds.

3. Hauteur de l'épi

Les résultats obtenus montrent que l'épi le plus long mesure $9,1 \pm 0,51$ cm et l'épi le plus petit mesure $5,08 \pm 0,26$ cm. La moyenne est de l'ordre de $7.17 \pm 0,86$ cm avec un coefficient de variation 11,99% (Tableau 9). L'analyse de la figure 20e révèle une différence entre les échantillons et permet d'identifier trois groupes différents :

- Groupe 1 : Hauteur de l'épi entre 5 et 6 cm. Il regroupe les échantillons avec épi court Svevo, Lg Anubis et Re Di Denari.

- Groupe 2 : Entre 6 et 8 cm et regroupe 38 échantillons avec épi moyen : 7 génotypes marocains et 31 génotypes étrangers
- Groupe 3 : Entre 8 et 10 cm ce groupe comprend les épis de grande taille est constitué de neuf échantillons RgtLeondur, Cesare, Antalis, Ramirez, Saragolla, Gibraltar, Daurur, Irden et Sculptur (Figure 20 e).

Une longueur élevée de l'épi est un paramètre prédictif d'un indice de récolte et d'un potentiel de rendement élevé. De même, le rôle important d'un épi long dans la photosynthèse et la transpiration contribuant à la production des assimilats pour le remplissage de grains (Blum, 1985 ;Febrero *et al.*, 1990 ;Monneveux et This, 1997).

4. Longueur de la barbe à l'extrémité par rapport à la longueur de l'épi

La longueur de la barbe par rapport à la longueur de l'épi varie entre les 50 génotypes et sont donc divisés en trois catégories (Tableau 9) :

- Groupe 1 : Courtes : Farah, Gibraltar, Cesare, Daurur, Ramirez ;
- Groupe 2 : Egaux : RgtLeondur, Antalis, Sculptur, Cham 9 ;
- Groupe 3 : Longues : Dans ce groupe, on retrouve 7 génotypes marocains et 31 génotypes étrangers. (Annexe 10).

D'après nos résultats, il est à noter que les génotypes étudiés présentent toutes des barbes variant entre 6 et 12 cm. Ceci est en accord avec le travail de Araus *et al.*, (1991), Kramer (1981) signale qu'en conditions de stress hydrique, les barbes contribuent au remplissage du grain chez le blé dur. En effet ce paramètre joue un rôle considérable dans la production des photosynthétas.

5. Glume inférieure

- **Forme** : Les 50 génotypes étudiés varient en fonction de la forme des glumes inférieures et ont une moyenne de $1,88 \pm 0,38$ avec et un coefficient de variation de 20,50%. La majorité des génotypes sont moyennement oblongue. Sept sont ovoïdes (Faraj, Giulio, Nassira, Cham 1, Sy Nilo, Cham 7, Don Norman). Seule RgtLeondur a une forme oblongue étroite dans la glume inférieure (Figure 20f) (Annexe 10).
- **Forme de la troncature** : Les 50 génotypes de cette étude varient en termes de forme de troncature de la glume inférieure. 23 d'entre eux sont inclinées, dont : (3 marocains et 20 étrangers). Dix génotypes étrangers ont une forme de troncature de glume arrondie. Huit génotypes ont une forme droite de la troncature à savoir : 2 marocains et 6 étrangers. Les neuf génotypes restants ont une forme échancrée 3 marocains et 6 étrangers (Figure 20g).

Une moyenne totale de $2,08 \pm 1,17$ avec un coefficient de variation de 56,68% pour les génotypes étudiés (Annexe 10).

- **largeur de la troncature** : Il y a trois types de largeur de la troncature de la glume inférieure parmi les 50 génotypes de cette étude :
 - Type 1 : Les génotypes évalués présentent une largeur très étroite (3 marocains et 19 étrangers).
 - Type 2 : Ont une largeur étroite (5 marocains et 21 étrangers).
 - Type 3 : Seuls les deux génotypes Don Ricardo, Marco Aurelio ont une largeur moyenne (Figure 20h).

La moyenne des 50 génotypes étudiés est de $2,18 \pm 1,13$ avec un coefficient de variation de 52,37%. (Annexe 10).

- **Longueur du bec** : Les résultats obtenus pour la longueur du bec montrent que 18 génotypes étrangers et un génotype marocain ont un bec long.

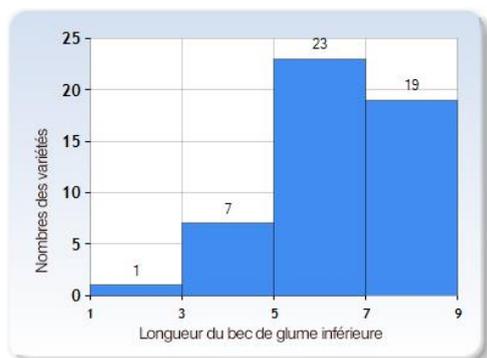
Ainsi, 18 génotypes étrangers et 5 génotypes marocains ont une longueur du bec moyenne.

Les 7 étrangers ont une longueur courte du bec. Une seule génotype Cham 5 a un bec très court (Figure 21a).

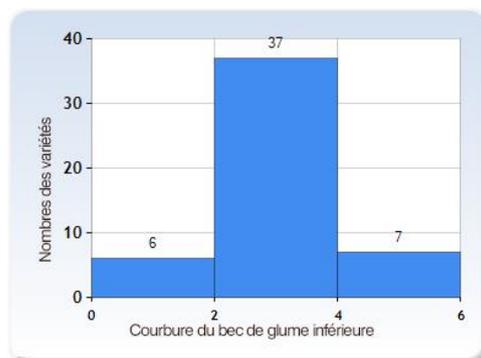
La moyenne globale des génotypes étudiés est de $5,41 \pm 1,53$ avec un coefficient de variation de 28,22% (Annexe10).

- **Courbure du bec** : Six génotypes étrangers sont dépourvues d'une courbure du bec. Tandis que cinq génotypes marocains et 32 génotypes étrangers ont une faible courbure. Alors que trois génotypes marocains et quatre génotypes étrangers ont une courbure moyenne (Figure 21h). La moyenne globale est de $3,08 \pm 0,99$ avec un coefficient de variation atteint 33,86% (Annexe 10).

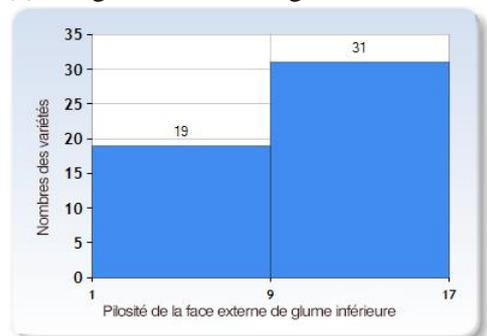
- **Pilosité de la face externe** : Un niveau élevé de variation entre les génotypes étudiés en fonction de la pilosité externe de la glume inférieure est observé. 19 génotypes n'ont pas de pilosité (2 génotypes marocains et 19 génotypes étrangers). Le reste des génotypes ont une pilosité à savoir (4 génotypes marocains et 28 génotypes étrangers). Cette grande variation reflète une large base phénotype de ce trait. Bien que la plupart des génotypes aient des poils de glume, indiquant un polymorphisme pour ce caractère, au sein des génotypes Marocains, Syriennes, Italiens et française (Figure 21c).



(a) Longueur du bec du glume inférieure.



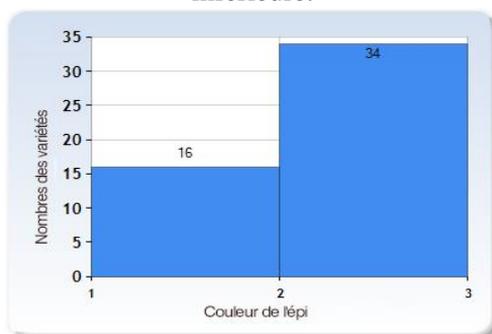
(b) Courbure du bec du glume inférieure.



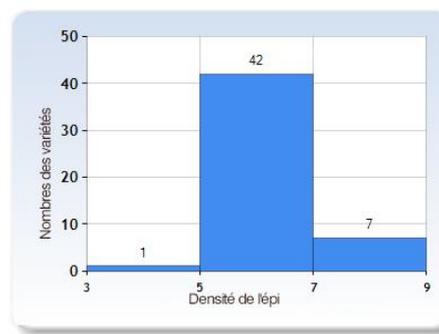
(c) Pilosité de la face externe du glume inférieure.



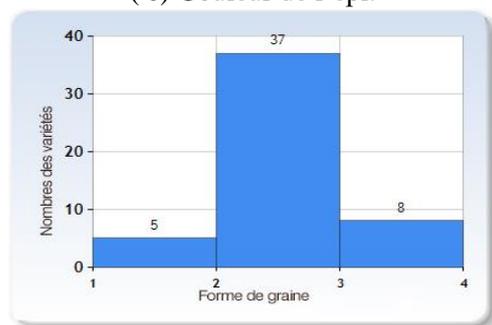
(d) Couleur de la barbe.



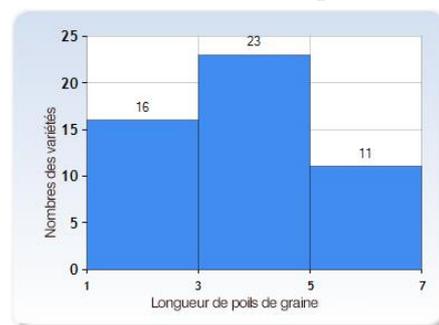
(e) Couleur de l'épi.



(f) Densité de l'épi.



(g) Forme de la brosse.



(h) Longueur de poils de brosse.

Figure 21 : Répartition des fréquences pour les caractères longueur du bec du glume inférieure, courbure du bec du glume inférieure, pilosité de la face externe du glume inférieure, couleur de la barbe, couleur de l'épi, densité de l'épi, forme de la brosse, longueur de poils de brosse de blé dur.

La moyenne globale des génotypes est de $6,06 \pm 3,92$ avec un coefficient de variation de 64,29% (Annexe 10).

Sachant que la pilosité des glumes est un caractère mono-génique dominant (Mcintoch, 1988), la dominance des glumes glabres suggère ainsi la présence d'une sélection désavantageuse liée à ce gène. Le rôle de la pilosité des glumes dans l'adaptation du blé n'est pas bien élucidé, mais certains auteurs ont rapporté son association à la résistance contre les insectes et les ravageurs (Negassa, 1986 ; Warham, 1988).

6. Couleur de la barbe

La couleur de la barbe varie considérablement. 21 génotypes sont blancs (2 marocains et 19 étrangers). 16 ont une couleur brun clair (3 marocains et 13 étrangers). 12 sont pourpre moyen (3 marocains et 9 étrangers), le génotype Sfinge a une couleur Pourpre foncé (Figure 21d). La moyenne globale est de $1,88 \pm 0,86$, avec un coefficient de variation de 46,09% (Annexe 10). La grande variation de la couleur de la barbe parmi les génotypes étudiés reflète la variation de la structure phénotype parmi ces génotypes, dont les couleurs sont : blanc, pourpre moyen et pourpre foncé. Ceci confirme la conclusion de Ruiz et Martin (2000) qui montrent que les données concernant les génotypes de blé espagnoles indiquent que la couleur des barbes varie du blanc au brun rouge, tandis que les génotypes d'Oman présentent des barbes de couleur noire dominante (Al-Khanjari *et al.*, 2008).

7. Couleur et densité de l'épi

16 génotypes présentent une couleur blanche de l'épi (3 marocains et 13 étrangers). Les 34 génotypes restants sont fortement colorées (5 marocains et 29 étrangers) (Figure 21e). La moyenne globale est de $1,69 \pm 0,47$ avec un coefficient de variation de 28,04%. (Annexe 10). Des résultats similaires sont rapportés, concernant les races de blé espagnoles dont la couleur de l'épi varie largement du blanc au noir en passant par le gris pourpre (Ruiz et Martin, 2000). La Figure 21f montre que 42 génotypes ont une densité moyenne d'épis (7 marocains, 35 étrangers) ; sept ont un épi dense (Don Ricardo, Karim, Secolo, Rgt Leondur, Cham 1, Iride, Marakas). Le génotype Re Di Denari a une densité lax des épis (Annexe 10). La grande variation entre les génotypes étudiés en termes de densité d'épis reflète une variation génétique. En particulier, les génotypes à épi dense, à moyennement dense. Des résultats similaires sont enregistrés par Ruiz et Martin (2000) qui ont montré une plus grande variation entre les races de blé espagnoles, allant des épis moyen à épis dense.

8. Forme et longueur des poils de la brosse

37 des génotypes étudiés ont une forme modérément allongée, alors que huit sont fortement allongées et cinq génotypes ont une forme légèrement allongée (Figure 21g). La moyenne totale des génotypes étudiés est de $2,08 \pm 0,49$ avec un coefficient de variation de 24,83%. (Annexe 10)

Les poils sont longs chez 11 génotypes : Euroduro, Giulio, Margherita, Cham 1, Re Di Denari, Cham 7, Sfinge, Cham 5, Core, Cesare et Cham 9. 23 ont des poils moyens et 16 ont des poils courts : (Don Ricardo, Anco_marzio, Karim, Don Ortega, RgtLeondur, Faraj, Nassira, Iride, Sy Nilo, Beltorax, Farah, Egeo, Marakas, Zetae, Svevo et Lg Anubis (Figure 21h).

La moyenne totale de 50 génotypes étudiés est de $2,8 \pm 1,49$ avec un coefficient de variation de 52,52%. (Annexe 10).

Selon Mebatsion *et al.* (2012), la forme du grain est l'un des paramètres le plus important utilisé dans la classification, l'identification et l'étude de la variabilité des génotypes de blé. En effet, ces auteurs signalent une grande variation de la forme du grain dans les génotypes étudiés reflète une large variabilité phénotype parmi les génotypes de blé palestiniennes qui peuvent être facilement distinguées par la forme du grain .

L'analyse à l'aide de logiciel Excel des moyennes, des écart-types et des coefficients de variation (Annexe 10), dans l'ensemble des génotypes marocains d'une part et des génotypes étrangers d'autres part montre que :

- Les génotypes marocains ont une variabilité importante par rapport aux étrangers pour les trois caractères "Forme et courbure du bec de la glume inférieure et longueur des poils de la brosse) ;
- Tandis que les génotypes étrangers ont une variabilité élevée face aux génotypes marocains pour les 13 caractères agro-morphologiques à savoir : date d'épiaison, port et hauteur de la plante, longueur de l'épi, longueur de la barbe par rapport à la longueur de l'épi, forme et largeur de troncation de la glume inférieure, longueur du bec de la glume inférieure, pilosité de la surface externe de la glume inférieure, couleur de la barbe, couleur et densité de l'épi, forme des poils de la brosse.

B. DEGRE DE SIMILARITE

A partir de la matrice de similarité calculée (Annexe 11), nous avons effectué une analyse selon la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method With Arithmetic mean) est développés. Cette méthode sur la base des caractères agro morphologiques des 50 génotypes (marocains et étrangers) de blé dur. Le dendrogramme résultant de cette analyse (Figure 22) révèle une diversité de haut niveau de ces caractères entre les différents génotypes du blé dur étudiés.

Ainsi, on constate du dendrogramme quatre groupes avec un degré de similarité de 0,8. A savoir :

- Le premier groupe : est constitué de 21 génotypes, dont 16 sont étrangers (Amilcar, Zetae, Cham7, Don Ricardo, Marakas, Marco Aurelio, Antalis, Reale, Secolo, Iride, Monastir, Saragolla, Lg Anubis, Euroduro, ReDiDenari, Sfinge) et 5 génotypes marocains (Irden, Karim, Farah, Faraj, Tarek).
- Le second groupe : est composé de 14 génotypes dont 13 étrangers (AncoMarzio, Core, Cham5, Don Norman, Cham9, Margherita, Svevo, Aureo, Ovideo, Beltorax, Ermes, Cham1, Zagharin) et un génotype marocain Faraj.
- Le 3^{ème} groupe : est composé de 3 génotypes étrangers (Cesaré, Sculptur, Daurur).
- Le 4^{ème} groupe : est composé de 12 génotypes dont 10 sont étrangers (Cham3, Claudio, Sy Nilo, Egeo, Giulio, Odisseo, Don Ortega, Ramirez, Gibraltar, Rgt Leondur) et 2 marocains (Nassira, Farah).

Il en résulte donc que, cinq génotypes marocains dans le 1^{er} groupe ont un degré de similarité élevé entre eux. Alors que le génotype marocain Faraj est différent morphologiquement par rapport aux génotypes de même origine.

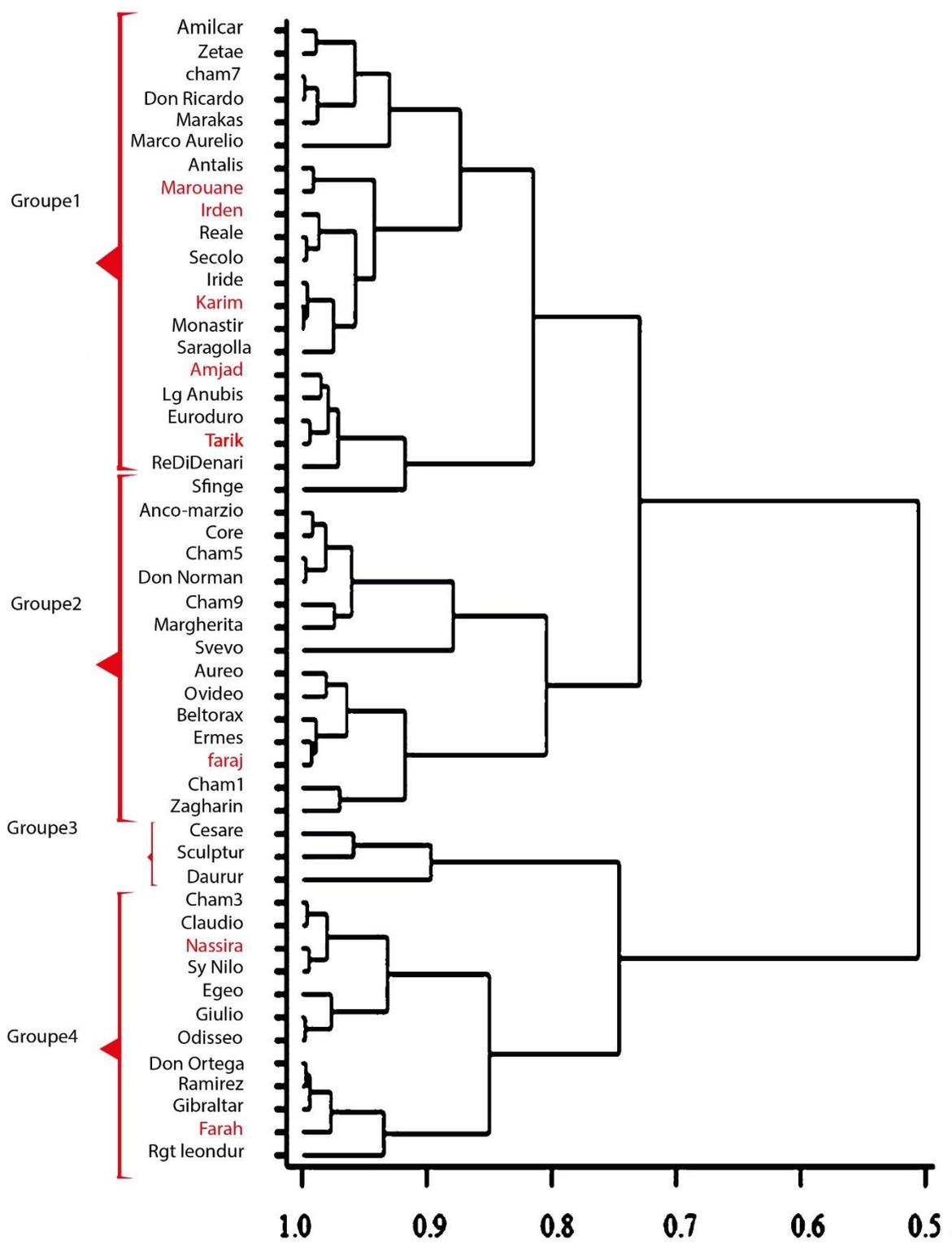


Figure 22 : Dendrogramme montrant la relation entre l'ensemble des génotypes du blé dur étudiés généré par l'analyse des paramètres agro-morphologiques.

II. CARACTERISATION GENOTYPIQUE DES BLE DUR

A. TEST DE QUALITE D'ADN

L'extraction de l'ADN génomique des plantes du blé dur par la technique CTABx2 (Doyle *et al.*, 1987), modifié par (Udupa *et al.*, 1999) suivie par des tests de qualité des ADN extraits (Figure 23), montre la présence de l'ADN génomique de bonne qualité avec une taille à 48 502 pb. le premier puits représente le marqueur de taille lambda DNA (Annexe 8b) et le dernier puits représente 100pb (Annexe 8a). Avant de procéder à l'amplification par PCR, une dilution d'ADN est effectuée afin d'obtenir une concentration de 20 ng/ μ l.

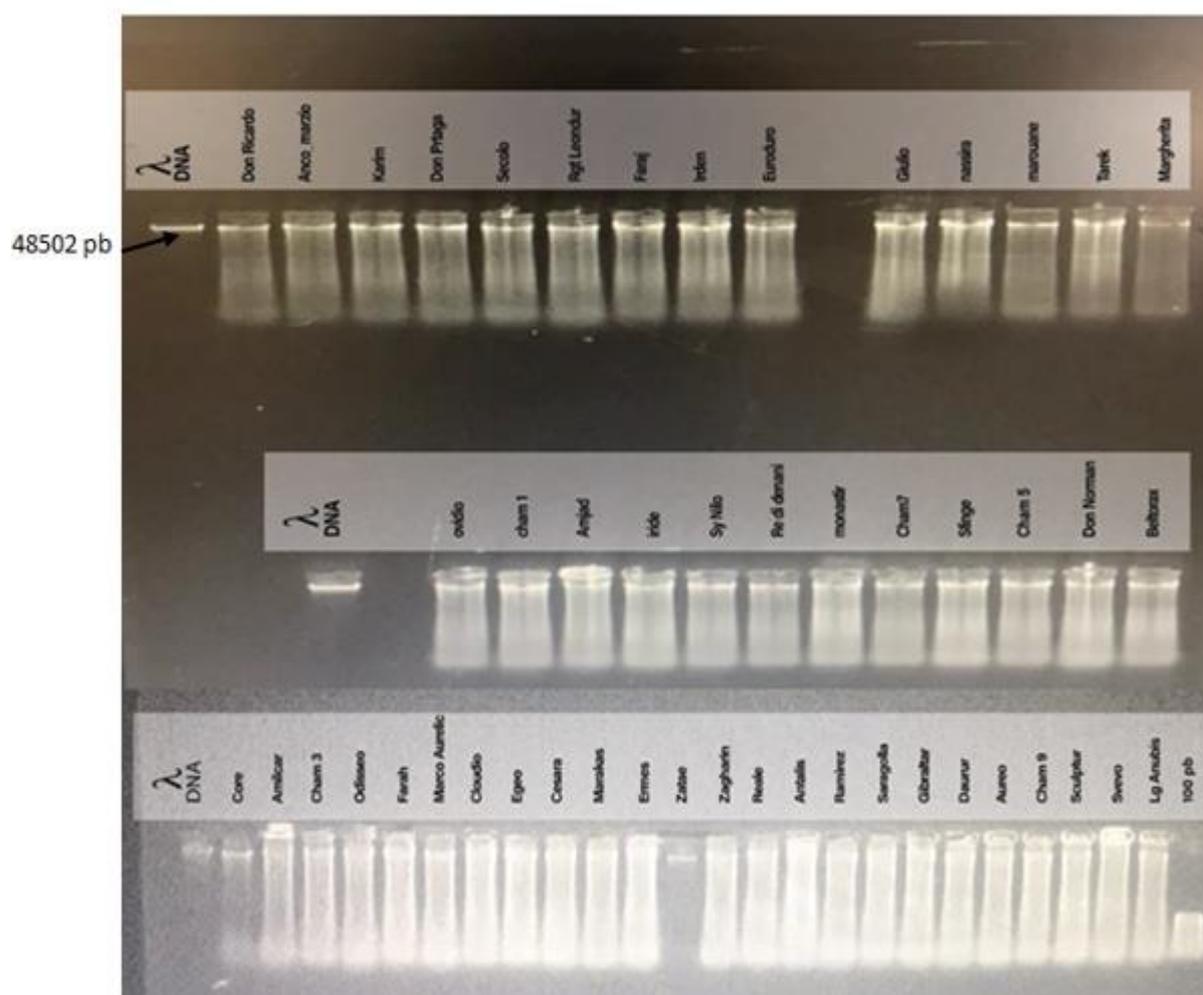


Figure 23 : Profil de migration du test de qualité sur gel d'agarose 1% des 50 échantillons d'ADN extraits à partir de 50 échantillons de blé dur.

Après la dilution des échantillons, la séquence recherchée au sein des génomes analysés a été amplifiée par la technique des microsatellites. Le choix de cette technique est basé sur le fait qu'ils détectent un polymorphisme élevé (Gupta *et al.*, 1996).

B. AMPLIFICATION D'ADN PAR LES AMORCES MICROSATELLITES DE BLE DUR

Pour caractériser et évaluer la diversité génétique des génotypes de blé dur, huit marqueurs microsatellites du génome du blé (génomes appartenant à A et B) sont utilisés pour l'électrophorèse sur gel d'acrylamide 6%, le marqueur utilisé est 100 pb (Annexe 8a). Ce type de gel a une capacité de résolution et de séparation plus élevée que le gel d'agarose.

On constate que chacune des huit amorces utilisées dans cette étude a révélé un nombre d'allèles important. Ainsi les 8 amorces sont polymorphes.

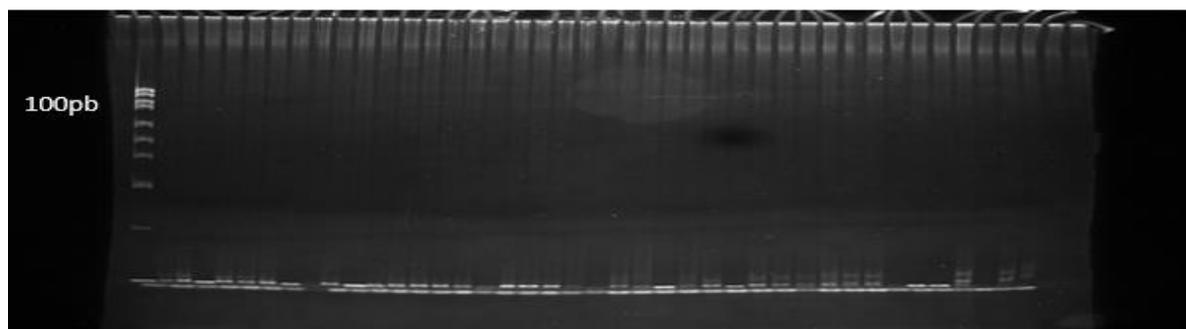


Figure 24 : Profil d'amplification par l'amorce microsatellite *Xgwm 130* sur gel d'acrylamide 6% des 48 échantillons de blé dur.

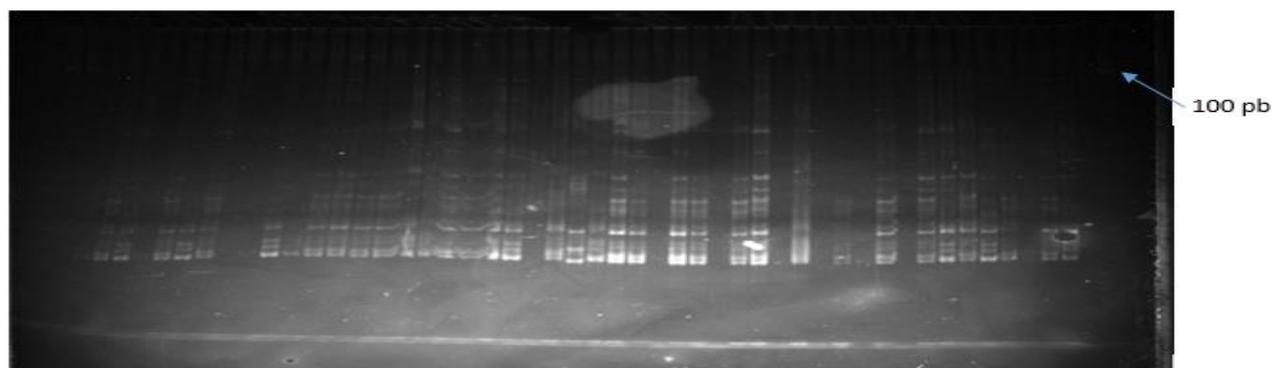


Figure 25 : Profil d'amplification par l'amorce microsatellite *Xgwm 273* sur gel d'acrylamide 6% des 48 échantillons de blé dur.

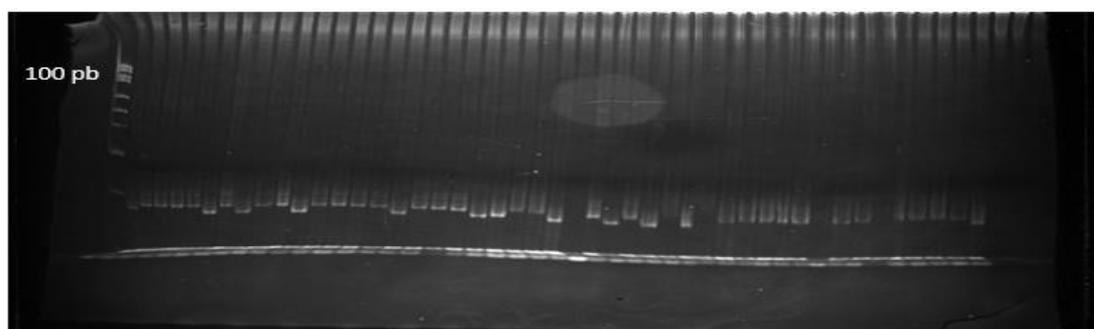


Figure 26 : Profil d'amplification par l'amorce *Xgwm 193* microsatellite sur gel d'acrylamide 6% des 48 échantillons de blé dur.

C. POLYMORPHISME AUX LOCUS MICROSATELLITES SSR DU BLE DUR

1- Polymorphisme chez l'ensemble des géotypes étudiés.

L'analyse des 48 géotypes montre que le nombre d'allèles par locus varie entre deux pour *Xgwm 273*, *Xgwm 89*, *Xgwm 130*, trois pour *Xgmc 24*, quatre pour *Xgwm 146*, *Xgwm 389* et cinq pour *Xgwm 11* et *Xgwm 193*. Un total de 27 allèles dans les 48 géotypes est observé, avec une moyenne de 3,375 allèles .

Les allèles montrent une fréquence oscillant entre 0,31 et 0,58, avec une moyenne de 0,44.

Le plus grand indice de diversité génétique ($H = 0,7556$) , est obtenu chez les géotypes de blé dur dont l'ADN est amplifié par l'amorce *Xgwm 11*. Tandis que la plus faible diversité avec un indice d'environ 0,4867 est obtenu chez les géotypes de blé dur dont l'ADN est amplifié par l'amorce *Xgwm 89* avec une moyenne de 0,6281.

Les amorces *Xgwm 273*, *Xgwm 89*, *Xgwm 130* ont donnés l'indice de diversité le plus faible respectivement, (0,4950), (0,4867) et (0,4889) chez les géotypes étudiés.

En qui concerne l'amorce *Xgwm 11*, elle a généré la valeur PIC (Contenu de l'information polymorphisme) la plus élevée (0,7180), tandis que la valeur du PIC la plus faible (0,3683) est enregistrée chez les géotypes de blé dur dont l'ADN est amplifiée par l'amorce *Xgwm 89*, avec une moyenne est de 0,5501 (Tableau 10).

Le nombre de géotypes ayant réagi avec l'amorce *Xgwm 130*, *Xgwm 193* est le plus élevé de 47 géotypes d'un pourcentage de 97,92%. Le nombre de réaction de l'amorce des géotypes le plus faible chez l'amorce *Xgwm 146* est de 33 géotypes observés d'un pourcentage de 68,75% avec une moyenne de 39,625

Tableau 10 : Polymorphisme chez l'ensemble des géotypes étudiés.

Locus SSR	Fréquence allélique majeur	Nombre de géotypes	Nombre des géotypes observés	Nombre d'allèles détectés	% d'allèles détectés	Diversité génétique Indice (H)	PIC
<i>XGWM 11</i>	0,36	48	30	5	0,62	0,7556	0,7180
<i>XGWM 89</i>	0,58	48	43	2	0,89	0,4867	0,3683
<i>XGWM 273</i>	0,55	48	40	2	0,83	0,4950	0,3725
<i>XGWM 146</i>	0,42	48	33	4	0,68	0,7016	0,6506
<i>XGWM 130</i>	0,57	48	47	2	0,97	0,4889	0,3694
<i>XGWM 389</i>	0,31	48	38	4	0,79	0,7313	0,6816
<i>XGWM 193</i>	0,40	48	47	5	0,97	0,7008	0,6489
<i>XGMC 24</i>	0,35	48	39	3	0,81	0,6654	0,5913
Total				27,0000			
Moyenne	0,44	48	39,62	3,37	0,82	0,6281	0,5501

2- Polymorphisme chez les génotypes marocains

Le nombre détecté des allèles chez l'ensemble des génotypes marocains de blé dur varie entre deux pour *Xgwm 89*, *Xgwm 273*, *Xgwm 146*, *Xgwm 130*, trois pour *Xgmc 24*, *Xgwm 389* et quatre pour *Xgwm 11* et *Xgwm 193*. Ces deux derniers amorces montrent une fréquence allant de 0.4 et 0.75 avec une moyenne de 0.5850 (Tableau 11).

La plus grande diversité génétique ($H=7200$) est obtenue chez les génotypes marocains de blé dur dont l'ADN a été amplifié par l'amorce *Xgwm 11*, contrairement, la plus faible diversité génétique d'environ 0,2778 est enregistrée par l'amorce *Xgwm 273*.

En ce qui concerne l'amorce *Xgwm 11* elle a généré la valeur de PIC (contenu de l'information polymorphisme) la plus élevée (0,6720), tandis que la valeur de la PIC la plus faible, (0,2392) est amplifiée par l'amorce *Xgwm 273* (Tableau 11).

Le nombre de génotypes ayant réagi avec l'amorce *Xgwm 130*, *Xgwm 193* est le plus élevé de 8 génotypes d'un pourcentage de 100%. Le nombre de réaction de l'amorce des génotypes le plus faible chez l'amorce *Xgwm 146* est de 4 génotypes observés d'un pourcentage de 50 % avec une moyenne de 6,2500.

Tableau 11 : Polymorphisme chez les 8 génotypes marocains sur locus microsatellites .

Locus SSR	Fréquence allélique majeur	Nombre de génotypes	Nombre des génotypes observés	Nombre d'allèles détectés	% d'allèles détectés	Diversité génétique Indice (H)	PIC
<i>XGWM 11</i>	0,40	8	5	4	0,62	0,7200	0,6720
<i>XGWM 89</i>	0,57	8	7	2	0,87	0,4898	0,3698
<i>XGWM 273</i>	0,83	8	6	2	0,75	0,2778	0,2392
<i>XGWM 146</i>	0,75	8	4	2	0,50	0,3750	0,3047
<i>XGWM 130</i>	0,62	8	8	2	1,00	0,4688	0,3589
<i>XGWM 389</i>	0,50	8	6	3	0,75	0,6111	0,5355
<i>XGWM 193</i>	0,50	8	8	4	1,00	0,6563	0,6050
<i>XGMC 24</i>	0,50	8	6	3	0,75	0,6111	0,5355
Moyenne	0,58	8	6,25	2,75	0,78	0,5262	0,4526

3- Polymorphisme chez les génotypes étrangers

Le nombre détecté des allèles, chez l'ensemble des génotypes étrangers de blé dur, varie entre deux pour *Xgwm 273*, *Xgwm 89*, *Xgwm 130*, trois pour *Xgmc 24*, quatre pour *Xgwm 146*, *Xgwm 389* et cinq pour *Xgwm 11* et *Xgwm 193*. Ces deux derniers ont montré une fréquence

respectivement de 0.4000 et 0.4359. Les allèles secondaires représentent une fréquence variant entre 0,3438 et 0,6176 avec une moyenne de 0,4708 (Tableau 12).

La plus grande diversité génétique est de l'ordre 0,7392, obtenue chez les génotypes étrangers de blé dur dont l'ADN amplifié par l'amorce *Xgwm 11*. La plus faible diversité génétique est d'environ 0,4723 est enregistrée par l'amorce *Xgwm 273*.

L'amorce *Xgwm 11* a généré la valeur de PIC (contenu de l'information polymorphisme) la plus élevée 0,7007, tandis que la valeur de la PIC la plus faible 0,3608 est amplifiée par l'amorce *Xgwm 273*.

Le nombre de génotypes ayant réagi avec l'amorce *Xgwm 130*, *Xgwm 193* est le plus élevé de 39 génotypes d'un pourcentage de 97,5%. Le nombre de réaction d'amorce des génotypes le plus faible chez l'amorce *Xgwm 11* a réagi avec un plus faible nombre 25 de génotypes, d'un pourcentage de 62,50 % avec une moyenne de 33,37.

Tableau 12 : Polymorphisme chez les 40 génotypes étrangers sur locus microsatellites .

Locus SSR	Fréquence allélique majeur	Nombre de génotypes	Nombre des génotypes observés	Nombre d'allèles détectés	% d'allèles détectés	Diversité génétique Indice (H)	PIC
<i>XGWM 11</i>	0,40	40	25	5	0,62	0,7392	0,7007
<i>XGWM 89</i>	0,61	40	36	2	0,90	0,4753	0,3623
<i>XGWM 273</i>	0,61	40	34	2	0,85	0,4723	0,3608
<i>XGWM 146</i>	0,37	40	29	4	0,72	0,7182	0,6675
<i>XGWM 130</i>	0,61	40	39	2	0,97	0,4734	0,3613
<i>XGWM 389</i>	0,34	40	32	4	0,80	0,7246	0,6741
<i>XGWM 193</i>	0,43	40	39	5	0,97	0,6956	0,6460
<i>XGMC 24</i>	0,36	40	33	3	0,82	0,6648	0,5908
Moyenne	0,47	40	33,37	3,37	0,83	0,6204	0,5454

Nous avons déduit que les amorces *Xgwm 11* et *Xgwm193* présentent la plus grande diversité génétique chez les génotypes marocains et les génotypes étrangers, ces amorces situées respectivement sur le chromosome 1B et 6B, indiquant que les loci microsatellites du génome B ont une grande variabilité. Ces résultats confirment ceux de Zarkti *et al.* (2010) qui ont trouvé que le génome B montre plus de variabilité en étudiant 23 génotypes marocains du blé dur avec sept microsatellites. Tandis que la plus faible diversité génétique est notée par l'amorce *Xgwm 273*.

Le nombre détecté des allèles chez l'ensemble des génotypes de blé dur varie entre 2 et 5. Chez les génotypes de blé dur marocains entre ce nombre 2 à 4 allèles, alors que chez les génotypes de blé étrangers ce nombre d'allèles varie entre 2 et 5.

La valeur de la PIC la plus faible, 0,2392 chez les génotypes marocains et 0,3608 chez les génotypes étrangers. Elle est amplifiée par l'amorce Xgwm 273.

La moyenne de PIC (contenu de l'information polymorphisme) est de 0,5501. Selon Bostein *et al.*,(1980), la valeur $PIC > 0.5$ pour les comptes d'un marqueur très informatif, $0.5 > PIC > 0.25$ pour un marqueur informatif et $PIC < 0.25$ pour un marqueur peu informatif. En conséquence, les marqueurs utilisés dans l'étude de Bostein *et al.*,(1980) étaient soit de marqueurs hautement informatifs ou informatives. Ce qui suggère que les microsatellites, pourraient distinguer toutes les génotypes.

En revanche, nos résultats ont montré similarité élevée chez les génotypes étudiés. Probablement l'ajout d'autres amorces pourraient surmonter cette discordance. Ces résultats sont en désaccord avec la conclusion de Plaschke *et al.*, (1995) qui montre que le petit nombre de marqueurs est suffisant pour distinguer les génotypes de blé étroitement liées. En outre, des déductions similaires ont été faites par Salem *et al.* (2008) où ils pourraient distinguer cinq génotypes de blé de l'Egypte à l'aide de marqueurs microsatellites.

Nous notons que la plus grande diversité génétique ($H = 0,7200$), est obtenue chez les génotypes marocains. Elle est de l'ordre ($H = 0,7392$) chez les génotypes étrangers de blé dur. Nous en concluons que les génotypes étrangers de blé dur présentent un nombre élevé d'allèles et un indice de diversité génétique important et par conséquent, ils auront une diversité assez importante.

D. DISTANCES GENETIQUES ET ARBRE PHYLOGENIQUE

1- Distances génétiques

La distance génétique entre génotypes marocains et étrangers du blé dur est présentée au Tableau 14. La distance la plus élevée (0.4800) est obtenue entre les génotypes marocains et le génotype français. Toutefois, la distance la plus faible est de 0.1791 et elle est obtenue entre les génotypes marocains et les génotypes Italiens.

Le calcul des distances génétiques entre les génotypes marocains et étrangers, effectué par la méthode « Shared allele distance », sur la base des allèles identifiés au niveau des loci SSR, a permis d'établir un dendrogramme (Figure 27).

Tableau 13 : Distances génétiques entre les pays d'origine.

Groupes	France	Italie	Liban	Maroc	Syrie
France	0,0000				
Italie	0,3643	0,0000			
Liban	0,3529	0,1828	0,0000		
Maroc	0,4800	0,1797	0,2171	0,0000	
Syrie	0,4197	0,2171	0,2111	0,2875	0,0000

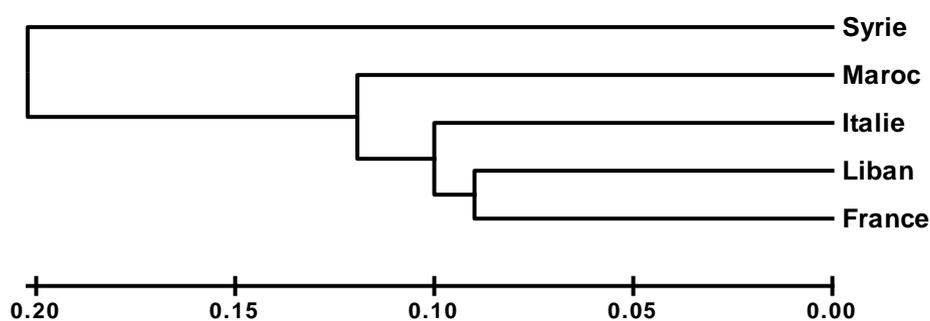


Figure 27 : Distance génétique entre génotype de même origine

Le dendrogramme présenté ici obtenu sur la base des 8 amorces testées montrent que les variétés marocaines s'approchent plus du groupe (Italie - liban - France) que des variétés syriennes (Figure 27) .

2- Arbre phylogénique

La Dissimilitié de Jaccard (Annexe 11) ainsi que le dendrogramme (Figure 28), sont développés sur la base des profils de bandes quantifiables des 48 génotypes de blé dur en utilisant huit amorces SSR . Le dendrogramme est construit par la méthode Weighted Neighbor-Joining. Les valeurs de bootstraps ont été calculées après 1000 ré-échantillonnages et sont indiquées au niveau des nœuds majeurs.

L'analyse génétique du blé dur à l'aide de données moléculaires montre des différences entre les groupes.

Le dendrogramme montre neuf groupes de génotypes, bien définis, robuste et distinct avec des valeurs de bootstrap variant de 54% à 71 % .

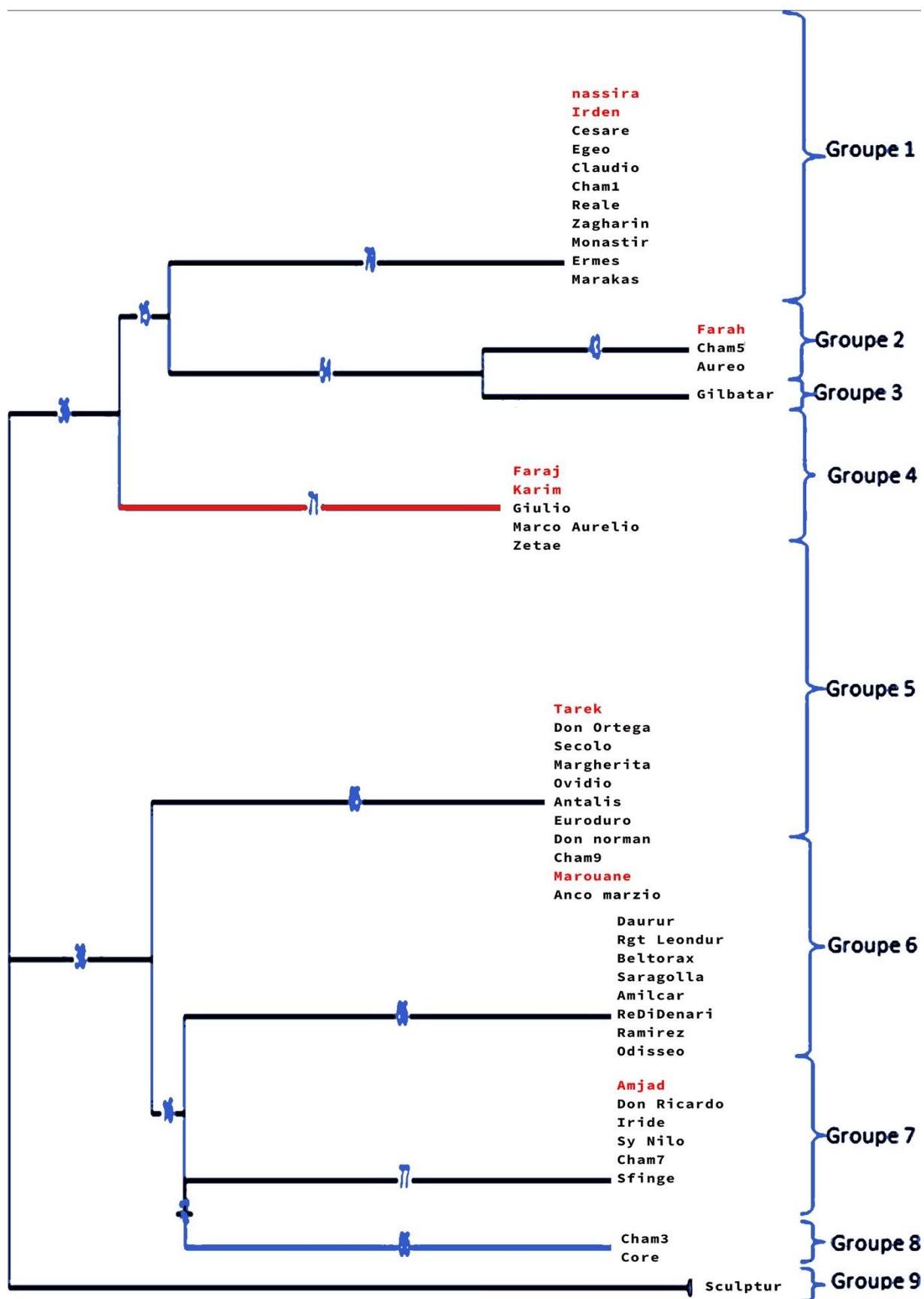


Figure 28: Dendrogramme des relations entre les génotypes marocains et étrangers du blé dur étudié.

- Groupe 1 : est composé de 9 génotypes étrangers (Cesare, Egeo, Claudio, Cham1, Reale, Zagharin, Monsatir, Ermes, Markas) et de 2 génotypes marocains (Nassira et Irden) avec une valeur de bootstrap de 70% ;
- Groupe 2 : est composé de 2 génotypes étrangers (Aureo et cham 5) et d'un génotype marocain (Farah) à 54% de valeurs bootstrap ;
- Groupe 3 : composé du seul génotype Gibraltar, cette dernier est regroupée avec le 2^{ème} groupe avec une valeur de bootstrap de 54% .Les trois groupes se regroupent avec une valeur bootstrap de 15% ;
- Groupe 4 : est composé de 3 génotypes étrangers (Giulio, Marco Aurelio, Zetae) et de 2 génotypes marocains (Faraj et Karim). Ils sont été réunies avec une valeur bootstrap de 71% ;
- Groupe 5 : est composé de 9 génotypes étrangers (Don ortega, Secolo, Margherita, Ovidio, Antalis, Euroduro, Don Norman, Cham9, Anco marzio) et de 2 génotypes marocains (Tarek et Marouane) avec des valeurs bootstrap de 65% ;
- Groupe 6 : Un pourcentage de 66% de regroupement des valeurs bootstrap est constaté dans ce groupe qui contient strictement de 8 génotypes étrangers (Daurur, Rgt Leondur, Beltorax, Saragolla, Amilcar, Re Di Denari, Ramirez, Odisseo) ;
- Groupe 7 : est composé de 5 génotypes étrangers (Don Ricardo, Iride, Sy Nilo, Cham7, Sfinge) et d'un génotype marocain Amjad, ces génotypes sont regroupés avec un pourcentage bootstrap de 77 ;
- Groupe 8 : est composé de 2 génotypes étrangers ; (Cham 3, Core), regroupés avec une valeur bootstrap de 66%.
- Le groupe 9 est composé d'un seul génotype sculptur. Ce dernier est le plus dissimilaire de tous les génotypes.

En générale, la distance génétique Jaccard de (0) indique l'absence de différences entre les génotypes. Alors que la distance (1) montre une différence. Dans le présent travail, la distance génétique la plus élevée de (1) est observée entre les génotypes marocains les génotypes étrangers comme exemple (Karim et Don Ricardo), (Faraj et Don Ricardo), (Nassira et Anco marzio), (Faraj et iride) et (Tarek et Cham1). Tandis qu'une distance nulle est observée entres les génotypes marocains et les génotypes étrangers à titre d'exemple (Amjad et Don Ricardo), (Tarek et Anco marzio), et (Farah et Cham 5) (Annexe 12).

Les huit marqueurs utilisés dans la présente étude révèlent la dissimilarité entre les groupes. Par conséquent, des marqueurs microsatellites supplémentaires sont nécessaires pour distinguer toutes les géotypes.

L'information sur la distance génétique et les relations génétiques entre les géotypes aidera à choisir les géotypes comme parents dans le programme de sélection du blé dur pour le croisement.

Sur la base des caractères agro-morphologiques, on constate, d'une part que le géotype marocain Faraj s'est montrée différente par rapport à tous les autres géotypes de même origine. Cependant, il est semble génétiquement plus proche de le géotype marocain Karim. D'autre part et sur la base des huit amorces SSR, le géotype italien Sculptur est différent de tous les géotypes étudiés, mais il s'est montré similaire avec deux géotypes étrangers (Cesare et daurur) sur la base des caractères agro-morphologiques.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le blé dur est considéré comme l'une des céréales la plus consommée au monde. Le blé dur cultivé a une origine génétique tétraploïde. La production du blé aura un impact crucial sur la sécurité alimentaire et l'économie mondiale dans les prochaines décennies.

L'objectif du présent travail s'est fixé sur, d'une part, l'évaluation de la diversité génétique à travers l'étude des caractères phénotypiques (Agro morphologique) à travers le protocole UPOV (Union international de protection des obtentions végétales) pour la distinction, l'uniformité et la stabilité suivi par l'étude génotypique *via* une approche moléculaire SSR et ce pour établir les relations inter variétés. D'autre part, la comparaison des génotypes marocains avec les génotypes exotiques.

La connaissance, l'identification de la diversité génétique des génotypes de blé dur, sont indispensables pour la conservation du germoplasme.

Les résultats obtenus à partir de la caractérisation agro-morphologique (date d'épiaison, port et hauteur de la plante, longueur de l'épi, longueur de la barbe par rapport à la longueur de l'épi, forme de troncature de la glume inférieure, largeur de troncature de la glume inférieure, longueur du bec de la glume inférieure, pilosité de la surface externe de la glume inférieure, couleur de la barbe et forme des poils de la brosse ...) ont montré l'existence d'une diversité importante chez les génotypes étrangers par rapport aux génotypes marocains. Sur la base de ces résultats, des matrices de similarités sont générées en utilisant les caractères agro-morphologiques a fin de construire des dendrogrammes et d'estimer les relations génétiques entre les génotypes.

L'analyse génétique et *via* les calculs des paramètres du taux de diversité génétique H et le nombre d'allèles détectés, les loci microsatellites ont détecté une diversité dans l'ensemble de la collection (gamme allélique : 2-5 ; diversité génétique : 0.7556). Cependant, la collection de blé dur étranger a révélé une plus grande diversité génétique au niveau des loci microsatellites (gamme allélique : 2-5 ; diversité génétique : 0,7392) par rapport aux génotypes de blé dur marocains (gamme allélique : 2-4 ; diversité génétique : 0,72).

Un dendrogramme est construit à partir de la matrice de dissimilarité de Jaccard montre au sein de chaque groupe, la distance génétique de Jaccard est de 0, indiquant qu'il n'y avait pas de différence dans les profils alléliques des huit marqueurs microsatellites. Les huit marqueurs utilisés dans la présente étude révèlent la dissimilarité entre les groupes. Par conséquent, des marqueurs microsatellites supplémentaires sont nécessaires pour distinguer toutes les génotypes. Cependant, la distance génétique de Jaccard entre les groupes était de 1, ce qui montre une différence dans les profils alléliques intergroupes par conséquent une diversité génétique importante.

Nos résultats suggèrent que la caractérisation agro-morphologique et l'analyse génétique permettent de distinguer certains génotypes et sont donc utiles pour l'identification de ces génotypes. Ainsi de montré l'existence d'une variabilité élevée chez les génotypes étrangers par rapport aux génotypes marocains.

Ceci révèle une grande importance pour l'identification, la distinction, l'uniformité et la stabilité (DUS) lors de l'enregistrement dans le catalogue des génotypes de blé dur. Les informations sur la distance génétique et la diversité génétique sont également importantes pour la sélection du blé dur.

Ainsi, nous aboutissons à la conclusion confirmant que sur la base des caractères morphologiques et génétiques, les génotypes étrangers ont une plus grande variabilité par rapport aux génotypes marocains.

Cependant, l'ouverture de nouvelles perspectives, dans le but de rentabiliser d'avantage nos investigations, reste judicieuse. Entre autre l'utilisation d'un grand éventail des marqueurs microsatellites et SNP pour mieux identifier et évaluer la diversité génétique de ces génotypes. Et l'étude d'un plus grand nombre de génotypes afin de mieux distinguer éventuellement une diversité plus large.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abbad Andaloussi F. & A. Chahbar (2005).** - La création variétale à l'Institut National de la Recherche Agronomique. *Méthodologie acquis et perspectives*. INRA 2005, 172p.
- Akram Z., S U Ajmal & M Mounir. (2008).** - Estimation of correlation coefficient among some yield parameters of Wheat under rainfed conditions. *Pakistan J. Bot.* 40 (4) : 1777-1781.
- Alem C., M Labhilili, K Brahim, M Jlibene, N Nasrallah & A Filali-Maltouf, (2002).** - Adaptations hydrique et photosynthétique du blé dur et du blé tendre au stress salin. *C. R. Biologies*, 325 : 1097-1109.
- Allam A., Tirichine A., H Madani., W Benlamoudi., Y Attali., M Anumalla., R Roychowdhury., G.C, Kumar., M,Mazid & R, Ashok Kumar, (2015).** - Utilization of plant genetic resources and diversity analysis tools for sustainable crop improvement with special emphasis on rice. *International Journal of Advanced Research*, 3 (3) : 1155-1175.
- Anderson W.H., J L Gellerman & H Schlenk, (1984).** - Effects of drought on phytol wax esters in Phaseolus leaves. *Photochemistry*, 23 : 2695-2696.
- Anonyme (2003).** - International Grains Council. *World Grains Statistics* : 13-17.
- Anonymes (1996).** - Programme céréales, programmes par objectifs, Institut National de la Recherche Agronomique. Rabat.
- Araus J L., L Alegre., T Ali Dib., M Benlaribi & P Monneveux (1991).** - Epidermal and stomatal conductance in seedlings of durum wheat landraces and varieties. In physiology Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments. INRA Montpellier ed., *les colloques*, 55: 225-242.
- Attab S (2014).** - Etude de quelques altérations physiologiques et biochimiques chez le blé causées par une maladie cryptogamique (l'oïdium). Thèse de Doctorat. Algérie: Université Badji Mokhtar, Annaba, 145p.
- Bagga A.K., K N Ruwali & R D Asana (1970).** - Comparison of responses of some Indian and semi dwarf Mexican wheat to irrigated cultivation. *Indien J, Agri, Sci*, 40 : 421- 427.
- Bahlouli F, H Bouzerzour., A Benmahammed & K L Hassous (2005).** - Selection of high yielding and risk efficient durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Cultivars under Semi-arid Conditions. *Journal of Agronomy*, 4 : 360-365.
- Bammoun A (1997).** - Contribution à l'étude de quelques caractères morpho physiologiques, biochimiques et moléculaires chez 13 génotypes de blé dur, *Triticum turgidum*

- SSP *durum*, pour l'étude de la tolérance à la sécheresse dans la région des hauts plateaux de l'ouest algérien : Thèse de Magistère. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, 96 p.
- Belaid D (1996).** - Aspects de la céréaliculture algérienne. INES. D'Agronomie. Batna.187 p.
- Benaceur M., C Rahmoun., H Sdiri., M Medahi., & M Selmi (2001).** - Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production de grains de blé. *Secheresse*, 12 (3): 167-174.
- Bengeston G., S Larson & G Lilienberg (1978).** - Effect of water stress on cuticular transpiration rate and amount and composition of epicuticular wax in seedling of six out varieties. *Physiol. Plant*, 44 : 319-324.
- Berger M (1985).** - Étude des caractères morpho physiologiques, des composantes du rendement et de leurs corrélations génétiques et environnementales chez le blé tendre. Thèse docteur Ingénieur, école nationale supérieure d'agriculture (Ensa), Toulouse, 1985.182 p
- Blum A., (1988).** Photosynthesis and transpiration in leaves and ears of wheat and barley varieties. *J .exp.Bot.*, 36: 432- 440.
- Bostein D., R L White., M Skolnick & R.W. Davis., (1980).** - Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32 : 314-331.
- Bozzini A. (1988).** - Origin, distribution and production of durum wheat in the world. [*Durum wheat : chemistry and technology*](#), Rome : 1-16.
- Chabi H., M Derouiche., M Kafi & E Khilassi (1992).** - Estimation du taux de chaque génotype son époque de survie, *Perspectives agricoles*, 148: 20-27.
- Clark J M., W A Norvell., F R Clark & T W Buckley (2002).** - Concentration of cadmium and other elements in the grain of near-isogenic durum lines. In. *Revue canadienne de phytotechnie*. 82 : 27-33.
- Clarke J M & R A Richards (1988).** - The effect of glaucousness, epicuticular wax, leaf age, plant height, and growth environment on water loss rates of excised wheat leaves. *Can. J. Pant Sci*, 68: 975-982.
- Clement G & J Prats., (1970).** - Les céréales. *Collection d'enseignement agricole. Climatique*. INRA Maroc, 217: 59-70.
- Corniquel B & L Mercier (1994).** - Date plam (*Phoenix dactylifera L*) cultivar identification by RFLP and RAPD. *Plant Sci*. 101: 163-172.

- Croston R P & J T Williams (1981).** - A world survey of wheat genetic resources. Rome. IPBGR. 58p.
- Dekkers J C M & F Hospital (2002).** - The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Natl. Rev. Genet.*, 3 (1): 22-32.
- Dellaporta S L., J Wood & J B Hicks (1993).** - A plant DNA miniprepation: Version II. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 1: 19-21.
- Doyle C J., H Post., R E Burney., J Maino., M Keefe & K J Rhee (1987).** - Family Participation During Resuscitation: An option. *Annals of Emergency Medicine*, 16(6) : 673-675.
- Dreisigacker S., P Zhang., M L Warburton., B Skovmand., D Hoisington & A E Melchinger (2005).** Genetic diversity among and within CIMMYT wheat landrace accessions investigated with SSRs and implications for plant genetic resources management *Crop Sci* 45 : 65-661.
- Dwivedi S.L., S Gurtu., S Chandra., W Yuejin & S N Nigan (2001).** - Assessment of genetic diversity among selected groundnut germplasm. I: PARD analysis. *Plant Breeding*, 120: 345-349.
- Eagles H A., H S Bariana., F C Ogonnaya., G J Rebetzke., G J Hollamby., R J Henry., P H Henschke & M Carter., (2001).** - Implementation of markers in Australian wheat breeding. *Aust. J. Agric. Res.* 52 (12): 1349 - 1356.
- FAO (2021).** Situation alimentaire mondiale, <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/> consulté le 08/04/2021
- Febrero A., P Vendrell., L Alegre & J Araus (1989).** - Epidermal conductance in flag leaves and ears of several durum wheat landraces and varieties : Morphological and anatomical characteristics involved. *Physiology breeding of winter cereals for stressed Mediterranean environments*. Montpellier, France : 3 - 6.
- Feillet P (2000).** - Le grain du blé, Composition et utilisation. INRA, Paris, 17 - 18.
- Fokar M., H T Nguyen., A Blum (1998).** - Heat tolerance in spring wheat Grain filling. *Euphytica* 104 : 9-15.
- Gate P (1995).** - Ecophysiologie du blé. Ed. ITCF. Technique et Documentation. Lavoisier, Paris, 419 p.
- Grignac P (1965).** - Contribution à l'étude du genre *Triticum durum Desf.* Thèse doctorat. Université de Toulouse, 246p.

- Grignac P (1981).** - Rendement et composantes du rendement du blé d'hiver dans l'environnement méditerranéen français. *Séminaire scientifique*. Bari, Italie : 185-194.
- Gupta P K., J K Roy., & M Prasad (2001).** - Single Nucleotide Polymorphism: A new Paradigm for Molecular Marker Technology and DNA Polymorphism Detection with Emphasis on Their Use in Plants. *Current Science* 80 : 524-535.
- Hadji ch A (1985).** - Stability of Performance of Cereals in Low- Rain fall Areas as Related to Adaptive Traits. *Drought Tolerance in Winter Cereals Proceedings of an International Workshop, Capri, Italy* : 191-199.
- Hamada A M (2000).** - Amelioration of drought stress by ascorbic acid, thiamin or aspirin in wheat plants. *Indian J plant physiol* 5: 358-364.
- Harlan J R (1975).** - Our vanishing genetics resources. *Science*. 188 : 618-621.
- Jaccard P (1901).** - « Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et du Jura ». *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 37 : 547-579.
- Johnson D A., R A Richards & N C Turner (1983).** - Yield water relations, gas exchange and surface reflectance or near-isogenic wheat lines differing in glaucousness. *Crop Sci*, 23 : 318-325.
- Konvalina P., I Z M Capauchova., Stehno Z & J Dry. (2010).** - Caractéristiques agronomiques des formes printanières des races de blé (einkorn, emmer, spelt, intermediate bread wheate) cultivées en agriculture biologique .j *Agrobiol* 27 (1) : 9 – 17.
- Kramer P J (1981).** -Carbon dioxide concentration, photosynthesis, and dry matter production. *Biosciences*, 31 : 29-33.
- Langridge P., E S Lagudah., T A Holton., R Appels., P J Sharp., & K J Chalmers., (2001).** - Trends in genetic and genome analyses in wheat: *Aust. J. Agric. Rest*, 52 : 1043-1077.
- Lemekeddem H., H Debbache (2014).** - Synthèse bibliographique sur l'effet du stress salin sur la germination de blé Mémoire de Licence. Algérie: Université Kasdi Merbah Ouargla, 45 p.
- Levitt J (1980).** - Water stress in responses of plant environmental stress, water, radiation, salt and other stresses. New York, *Academic Press* : 225-282.
- Li Z & R L Neson (2002).** - RADP marker diversity among cultivated and wild soybean accession from Chinese provinces. *Published in Crop Sci*. 42 : 1737-1744.

- Ludlow M M & R C Muchow (1990).** - A critical evaluation of traits for improving crop yield in water-limited environments. *Advances in Agronomy*, 43: 107-153.
- Mackey J (1968).** - Species relations in Triticum. Second International Wheat Genetic Symposium, *Hereditas*, 2 : 237-276.
- MAPMDREF (2020).** <http://www.agriculture.gov.ma/pages/acces-filieres/filiere-cerealiere>. Consulté le 20/05/2021.
- MAPMDREF (2021).** <http://www.agriculture.gov.ma/pages/actualites/campagne-cerealiere-2020-2021-mise-en-place-de-mesures-pour-la-commercialisation-de>. Consulté le 18/05/2021.
- Mekaoussi R (2015).** - Etude de comportement variétal du blé dur *Triticum durum Desf.* vis-à-vis de *Rhopalosiphum maïdis* (Homoptera : Aphididae) dans la région de Batna en vue de l'amélioration de la plante. Mémoire de Master. Algérie : Université El-Hadj Lakhdar Batna, 127p.
- Mekhlouf A., H Bouzerzour., A Benmahammed., A Hadj Sahraoui., N Harkati (2006) .** Adaptation des génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) au climat semi-aride. *Edi : INRA*. 17 (4) : 507-513.
- Mekliche H L (1983).** - Etude agronomique, analyses diallèles et cytogénétique de quatre génotypes de blé tendre cultivées en Algérie. Thèse de Magister. INA. El-Harrach, 150 p.
- Mongkolporn O., G P Kadkol., E C K Pang., & W J Taylor (2003).** - Identification of RADP markers linked to recessive genes conferring silique shatter resistance in *Brassica rapa*. *Plant Breeding*. 122 : 479 - 484.
- Monneveux P (1991).** - Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver. *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides* AUPELF – UREF, John Libbey Eurotext, Paris, 165 - 186.
- Morgante M & A M Olivieri (1993).** - PCR-amplified microsatellites as maskers in plant genetics. *Plant J*, 3: 175-182.
- Moulet O., D Fossati., F Mascher., A Schori., & R Guadagnuolo (2008).** - Les marqueurs moléculaires comme outils dans la sélection des céréales. *Revue suisse d'Agriculture* 40 (3): 133-138.
- Nachit (1986).** - Association of some morphological characters to grain yield in durum wheat under Mediterranean dry land conditions. *Rachis*, 5: 33-35.

- Najimi B., S El Jaafari., M Jlibène., & J Jacquemin (2003).** - Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé pour la résistance aux maladies et aux insectes, 7 : 15-13.
- Nemmar M (1980).** - Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*) et chez le blé tendre (*Triticum.aestivumL.*) : étude de l'accumulation de la proline sous l'effet du stress hydrique. *Agronomie*, 6 (6) : 583-590.
- Oudjani W (2008).** - Diversité de 25 génotypes de blé dur (*Triticum durum Desf.*) : étude des caractères de production et d'adaptation. Mémoire de magister, département des sciences biologie végétale, université Mentouri de Constantine. 113p.
- Passioura J B (1997).** - Drought and drought tolerance. *Plant Growth Regulation*, 20: 79-83
- Pena R J., W H Pfeiffer (2005).** - Breeding methodologies and strategies for durum Wheat quality improvement . *Durum wheat breeding: current approaches and future strategies food product press*: 663-686.
- Plaschke P., M W Ganal & M S Roder (1995).** - Detection of genetic diversity and in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 91: 1001-1007.
- Prats J (1966).** - La fertilisation raisonnée. Ministère de l'agriculture. Direction générale de production et de marchés. 7 édition. Paris. 87 p.
- Rafalski A (2002).** - Applications of Single Nucleotide Polymorphisms in Crop Genetic. *Current Opinion in Plant Biology* 5 : 94-100.
- Richards R A (1986).** - Glauconsness in wheat: its development and effect on water use efficiency, as exchange and photosynthetic tissue. *Aust. J. plant. Physiol.*13 : 465-473.
- Russell J R., J D. Fuller., M Macaulay., B G Hatz., A Jahoor., W Powell & R Waugh (1997).** - Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor. Appl. Genet.* 95 : 714-722.
- Sayoud R., B Ezzahiri & Z Bouznad (1999).** - Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb, Guide Pratique. Projet Maghrébin sur la Surveillance des Maladies et le Développement de Germoplasme Résistant des céréales et des Légumineuses Alimentaires. PNUD RAB/91/007 Maroc-Algérie - Tunisie. Trames Ed, Algérie. 64 p.

- Scotti G (1997).** - Analyses physicochimiques, partie I, analyse physiques des grains du blé tendre et du blé dur, chapitre, 5. 76-119. In : (guide pratique d'analyse dans les industries des céréales). 79 p.
- Slama A (2002).** - Étude comparative de la contribution des différentes parties du plant du blé dur dans la contribution du rendement en grains en irrigué et en conditions de déficit hydrique. Thèse de doctorat en biologie, faculté des sciences de Tunis : 225-229.
- Soltner D (2005).** - Les grandes productions végétales. 20^{ème} Edition. Collection science et techniques agricoles. 472 p.
- Strelchenko P., K Street., O Mitrofanova., M Mackay & F Balfourier (2004).** Genetic diversity among hexaploid wheat landraces with different geographical origins revealed by microsatellites: Comparison with AFLP, and RAPD data. Proceedings of the fourth International Crop Science Congress, Brisbane, *Australia Crop Sci*, 39: 228 - 237.
- Udupa SM., F, Weigand., M C Saxena., & G Kahl. (1998).** Genotyping with RAPD and microsatellite markers resolves pathotype diversity in the adcochyta blight pathogen of chickpea. *Theor Appl Genet* 97 : 299-307.
- UPOV (1990).** - Union internationale de protection des obtentions végétales .principes directeurs pour la conduite des caractères distinctifs de l'homogénéité et stabilité .Genève.
- Vos P., R Hogers., M Bleeker., M Reijans., T Van de Lee., M Hornes., A Frijters., J Pot ., J Peleman ., M Kuiper & M Zabeau. 1995:** - AFLP: a New Technique for DNA Fingerprinting.-*Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.
- Wei YM., YC Hou., ZH Yan., W Wu., ZQ Zhang., DC Liu & Y,L Zheng. 2005.** - DNA polymorphism divergence in chinese wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces highly resistant to Fusarium Head Blight. *J Appl Genet.* 46: 3-9.
- Weising. K., H Nybom., N Hilde., K Wolff., & G Kahl., (2005):** - DNA Fingerprinting in Plants – Principles, Methods, and Applications. Boca Raton, CRC Press. 472pp.
- Williams J.G., A.R. Kubelik., K.J. Livak., J.A. Rafalski., & S.V. Tingey., 1990:** - DNA polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acids Research* 18 (22) : 6531 - 6535.
- Ykhlef N (2001).** - Photosynthèse, activité photochimique et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse de doctorat d'Etat, Université Mentouri Constantine, 146 p.

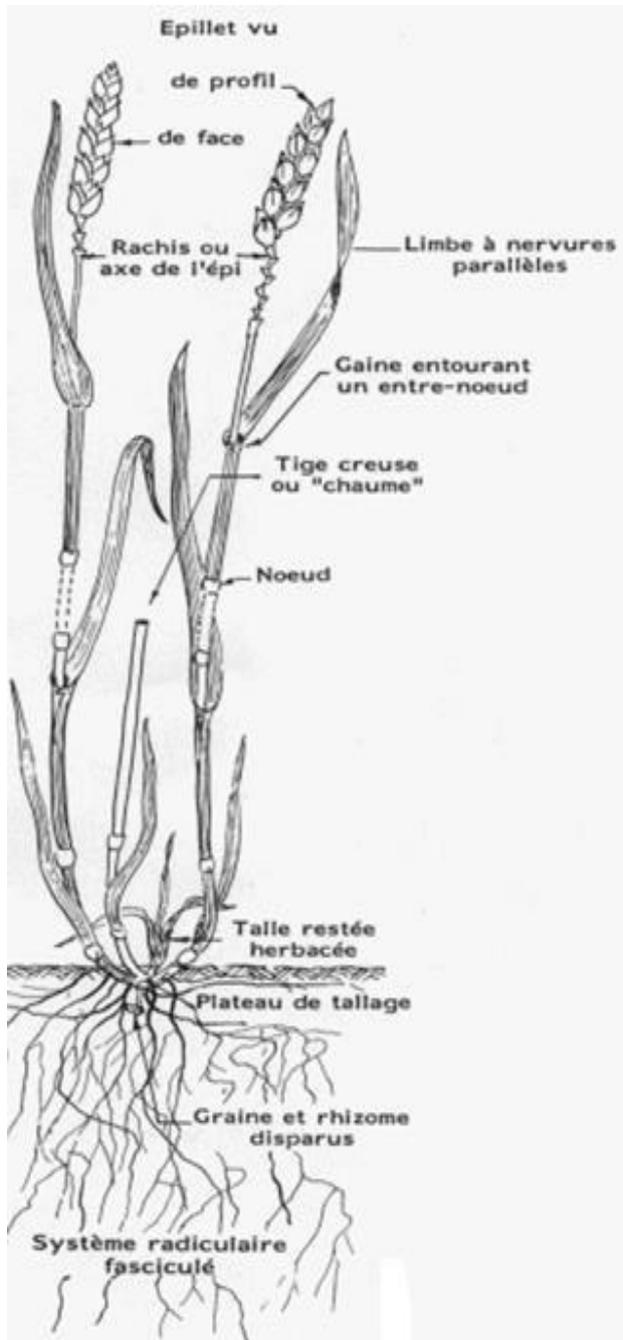
Yves H. & J De Buyser (2000). - L'origine des blés, *Pour la science*. 26 : 60-62.

Zadoks J.C., P, T Chang & E, F Konzak. (1974). - A decimal code for growth stages of cereals. *Ecarpia Bul.*, 7: 42-52

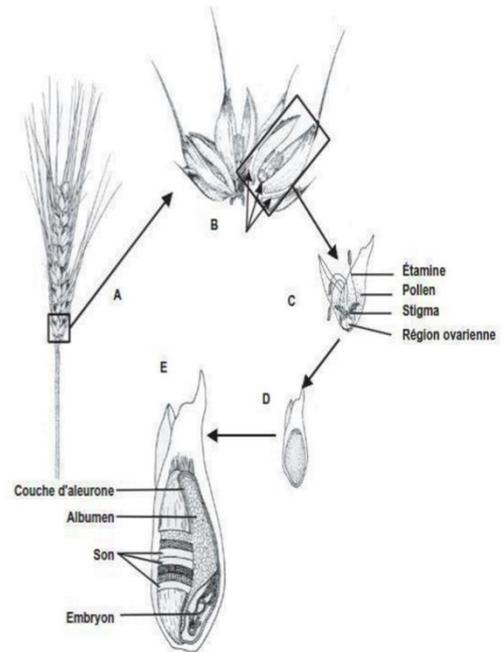
Zarkti H., H Ouabbou., A Hilali A & S M Udupa. (2010). - Detection of genetic diversity in Moroccan durum wheat accessions using agro-morphological traits and microsatellite markers. *African Journal of Agricultural Research*. 5 : 1837-1844.

ANNEXES

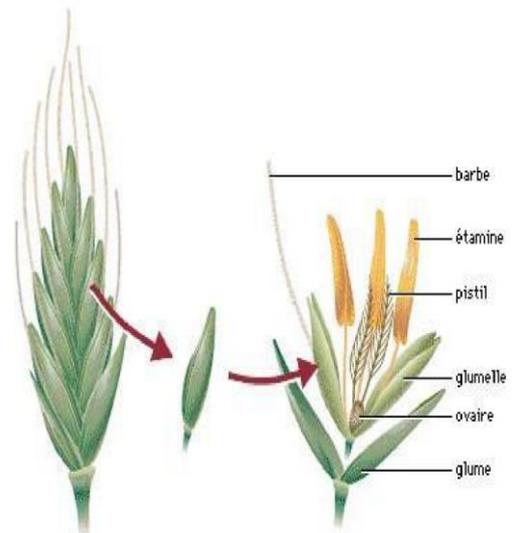
Annexe 1 Morphologie de blé



(b) Appareil végétatif du blé (Attab, 2014)

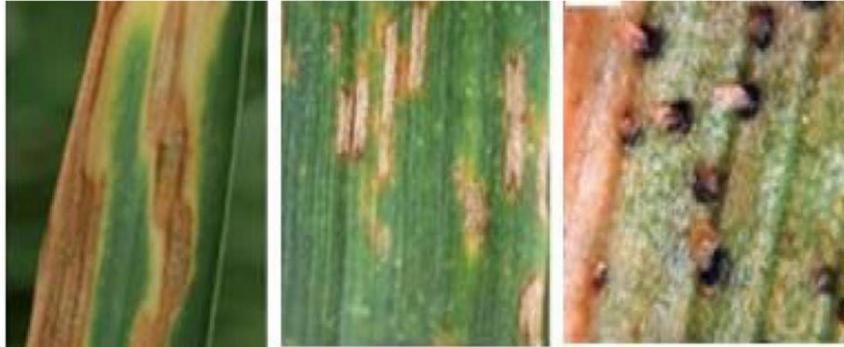


(a) Fleurs et graine (caryopse) de blé (Mekaoussi, 2015).



(c) Structure d'un épi et épillet du blé (Lemekeddem et Debbache, 2014)

Annexe 2
Quelques maladies de blé



(a) Symptômes de la Septoriose *Source : ARVALIS.*



(b) Symptômes de la rouille jaune (*WheatDisease Identification, 2011*).



(c) Symptômes de la rouille noire (*CECAMA, 2016*).



(d) Symptômes de la rouille brune (*Kolmer, 2013*).

Annexe 3
Anciennes variétés de blé dur

Variété	Zones de cultures préconisées	Réaction aux Maladies	Caractérisation technologique
Zeramek (1949)	Nord montagne	Sensibles à la rouille brune et la séptoriose	Taux de protéine 13,5%, Bonne valeur semoulière, faible valeur pastière
Zenati O. (1949)	Nord montagne		Taux de protéine 14,7%, moyenne valeur semoulière, faible valeur pastière
Selbera (1949)	Nord montagne		Taux de protéine : 15,7 %, bonne valeur semoulière, faible valeur Pastière
Kypernda (1949)	Nord montagne Bour favorable		Taux de protéine : 14,0 %, bonne valeur semoulière, faible valeur Pastière
Mouline H (1949)	Bour favorable		Taux de protéine 12,0 %, moyenne valeur semoulière, moyenne valeur pastière
Cocorit (1949)	Large	Résistance moyenne à la rouille brune et la séptoriose	Taux de protéine 11,7%, faible valeur semoulière, faible valeur pastière
Jori(1949)	Nord, Large		Taux de protéine 13,3 %, moyenne valeur semoulière, faible valeur pastière

Annexe 4
Récentes variétés de blé dur

Variété	Zones de cultures préconisées	Réaction aux Maladies	Caractérisation technologique
Marzak (1984)	Large	Sensibilité moyenne à la Rouille brune	Taux de protéine 13.2%, moyenne valeur semoulière, faible valeur pastière
Karim (1985)	Large, irrigué	Sensibilité à la Rouille brune	Taux de protéine 12.7 %, moyenne valeur semoulière, faible valeur pastière.
Acs.65 (1984)	Semi-aride		Le taux de protéine 12.7 %, bonne valeur semoulière, faible valeur pastière.
Belbachir (1987)	Large, Irrigué		Le taux de protéine 12.8 %, moyenne valeur semoulière, faible valeur pastière.
Sebou (1987)	Large. Semi-aride		Le taux de protéine 13.3 %, bonne valeur semoulière, faible valeur pastière.
O.Rabia (1988)	Large. Semi-aride		Le taux de protéine 14.2 %, bonne valeur semoulière, faible valeur pastière.
Sarif (1988)	Large	Résistance à la Rouille brune	Le taux de protéine 12.7%, moyenne valeur semoulière, faible valeur pastière.
Tensift (1988)	Large		Le taux de protéine 13.2 %, moyenne valeur semoulière, faible valeur pastière.
Isly (1988)	Large		Le taux de protéine 14.7%, bonne valeur semoulière, moyenne valeur pastière.
Massa (1988)	Large. Attitudes moyennes	Résistance moyenne à la Rouille brune	Le taux de protéine 13.7 %, bonne valeur semoulière, faible valeur pastière.
Jawhar (1993)	Large, irrigué		Le taux de protéine 13.1 %, bonne valeur semoulière, faible valeur pastière.
Anouar (1993)	Large		Le taux de protéine 12.4 %, bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière.
Yasmine (1993)	Large		Le taux de protéine 13.2 %, bonne valeur semoulière, faible valeur pastière.
Tomouh (1997)	Large, Attitudes moyennes, Aride		Le taux de protéine 13.4 %, bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière.
Tassaout (1988)	Large.	Sensibilité moyenne à la Rouille brune	Le taux de protéine 12.7%, bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière.
Amjad (1995)	Large		Le taux de protéine 13.0%, bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière.
Tarek (1995)	Large		Le taux de protéine 13.1%, bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière.
Ouregh (1995)	Large		Le taux de protéine 13.5 %, bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière.
Majrana (1996)	Large		Le taux de protéine 13.0 %, bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière.

Annexe 5
Variétés nouvellement inscrites

Variété	Zones de cultures préconisées	Réaction aux Maladies	Caractérisation technologique
Irden (2003)	Semi-aride	Sensibilité moyenne à la Rouille brune, Résistance à la cécidomyie.	Taux de protéine : 13.5% bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière, bonne valeur boulangère
Nassira (2003)	Semi-aride		Le taux de protéine : 13.5% bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière, bonne valeur boulangère
Chaoui (2003)	Semi-aride		Le taux de protéine : 13.3% bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière, bonne valeur boulangère
Marouane (2003)	Semi-aride		Le taux de protéine : 13.1% bonne valeur semoulière, bonne valeur pastière, bonne valeur boulangère
Amria (2003)	Semi-aride		Résistance moyenne à la Rouille brune, Résistance à la cécidomyie.

Annexe 6
Protocole UPOV

CPVO N°	UPOV N°	Stage1 Method	Characteristics	Examples	Note
1.		00	Seed: coloration withphenol		
(+)		VG	absent or very light	Lupidur (W), Qualidou	1
QN			light	Kiradur (W), Iride	3
G		A	medium	Italo	5
			dark	Matt	7
			verydark	Donduro	9
2.	1.	09-11	Coleoptile: anthocyanin coloration		
(+)		VG	absent or veryweak	Ciccio	1
QN			weak	Arcangelo	3
		A	medium	Don Jaime	5
			strong	Iride	7
			verystrong	Don Ricardo	9
3.	2.	25-29	Plant: growth habit		
(+)	(*)	VG	erect	-	1
QN		B	semi-erect	Actisur	3
			intermediate	Don Sebastian	5
			semi prostrate	Clidur (W), Soldur	7
			prostrate	-	9
4.	3.	50-51	Frequency of plants with recurved flag leaves		
(+)		VG	absent or very low	Colosseo	1
QN		B	low	Don Jose	3
			high	Orobel	7
				very high	-
				medium	Don Jaime
					5
					9
(+)	(*)	5.	4. 50-51 Time of ear emergence		
	B	MG	very early	Ismur	1
			medium	Kiradur (W), Iride	5
				late	Creso
					7
				early	Superdur (W), Cantico
					3
					QN
		6	5. 55-59 Flag leaf: anthocyanin coloration of auricles		
		QN	VG	absent or very weak	Don Pedro
			B	weak	Carpio, Amilcar
				medium	Don Jose, Don Ricardo
					3
					4
				strong	Carioca, Arcobaleno
				very strong	Tiziana
					5

CPVO N°	UPOV N°	Stage1 Method	Characteristics	Examples	Note
7.	6.	55-65	Flag leaf: glaucosity of sheath		
QN	(*)	VG	absent or veryweak	Meridiano	1
		B	weak	-	3
			medium	Aceres	5
			strong	Don Sebastian	7
			verystrong	Kiradur (W), Colosseo	9
8.	7.	55-65	Flag leaf: glaucosity of lower side of leaf blade		
QN	(*)	VG	absent of veryweak	Aventur	1
		B	weak	Duilio	3
			medium	Colosseo	5
			strong	Elsadur (W), Chiara	7
9.	8.	55-69	Culm: density of hairiness of uppermost node		
(+)		VG	absent or very weak	Lupidur (W), Don Sebastian	1
QN		A	weak	Kiradur (W), Canyon	3
			medium	Arnacoris	5
			strong	Superdur (W), Levante	7
			verystrong	-	9
10.	9.	60-69	Culm: glaucosity of neck		
		QN (*) VG	absent or very weak	Meridiano	1
			weak	-	3
			medium	Don Jose	5
			strong	Elsadur (W), Don Sebastian	7
			verystrong	Sy Lido	9
11.	10.	60-69	Ear: glaucosity		
QN (*) VG			absent or very weak	Ofanto	1
B			weak	Marco	3
			medium	Don Jose	5
			strong	Don Sebastian	7
			very strong	Atoudur	9
12.	11.	75-92	Plant: length		
(+) (*) MG			very short	Arcangelo	1
QN B			short	Ciccio	3
			medium	Don Jose	5
			long	Kiradur (W), Valbelice	7
13.	13.	75-92	Ear: length of awns at tip relative to length of ear		
(+)	(*)	VG	shorter	Plussur	1
QN		B	equal	Arcobaleno	2

CPVO N°	UPOV N°	Stage1 Method	Characteristics	Examples	Note
			longer	Qualidou	3
14.	14.	80-92	Lower glume: shape		
(+)		VG	ovoid	Canyon	1
PQ		A	medium oblong	Don Jose	2
		(a)	narrow oblong	Don Sebastian	3
15.	15.	80-92	Lower glume: shape of shoulder		
(+)		VG	sloping	Colosseo	1
PQ		A	rounded	Iride	2
		(a)	straight	Don Jose	3
			elevated	Kiko Nick	4
			elevated with a 2 nd beak	Don Sebastian	5
16.	16.	80-92	Lower glume: width of shoulder		
(+)		VG	very narrow	Don Sebastian	1
QN		A	narrow	Lupidur (W), Asdrubal	3
		(a)	medium	Orobel	5
			broad	-	7
17.	17.	80-92	Lower glume: length of beak		
QN		VG	very short	Duilio	1
		A	short	Logidur (W), Pictur	3
		(a)	medium	Superdur (W), Don Jose	5
			long	Levante	7
			very long	Vetrodur	9
18.	18.	80-92	Lower glume: curvature of beak		
(+)		VG	absent	Simeto	1
QN		A	weak	Iride	3
			moderate	Don Jaime	5
			strong	Don Isidoro	7
19.	19.	80-92	Lower glume: hairiness of external surface		
(+)	(*)				
QL		VG	absent	Don Sebastian	1
		A			
G		(a)	present	Don Jose	9
20.	20.	90-92	Straw: pith in cross section		
(+)	(*)	VG	thin	Canyon	1

QN	A	medium	Arnacoris	2
G		thick	Lupidur (W), Chiara	3

CPVO N°	UPOV N°	Stage1 Method	Characteristics	Examples	Note
21.	21.	90-92	Awn:colour		
PQ	(*)	VG	white	Lupidur (W), Don Sebastian	1
G		B	light brown	MV Makaroni (W), Duilio	2
			medium purple	Auradur (W), Grecale	3
			darkpurple	Karur (W), Don Jose	4
22.	22.	90-92	Ear:length (excludingawns)		
QN	(*)	VG/MS	short	Don Jaime	3
		B/A	medium	Duilio	5
			long	Kiradur (W), Levante	7
23.	23.	90-92	Ear: coloration		
PQ	(*)	VG	white	Lupidur (W), Don Jose	1
G		B	slightly coloured	MV Makaroni (W)	2
			strongly coloured	GK Basa (W)	3
24.	24.	92	Ear:density		
(+)	(*)	VG/MS	lax	Levante	3
QN		B/A	medium	Elsadur (W), Iride	5
			dense	Auradur (W), Arcangelo	7
25.	25.	92	Grain: length of brush hair		
(+)	(*)	VG	short	Logidur (W), Arcangelo	1
QN		A	medium	Auradur (W), Carpio	3
			long	Kiradur (W), Orssur	5
26.	26.	92	Grain:shape		
(+)		MS/VG	slightlyelongated	Amilcar	1
QN		A	moderatelyelongated	Bolo	2
			stronglyelongated	Creso	3
27.	28.	VG	Plant:seasonal type		
(+)			winter type	Lupidur (W), MV Makaroni (W)	1
PQ			alternative type	Simeto	2
G			spring type	Levante, Amilcar	3

Annexe 7
Appareillage du laboratoire



(a) Lyophilisateur utilisé



(b) Broyeur utilisé



(c) Centrifugeuse utilisée



(d) Thermocycleur utilisé



(e) Visualisation sous l'UV matériels



(f) Coloration par BET

Annexe 8

(a) Solutions nécessaires pour l'extraction

Solution stock de Tris-HCL :

1M Tris-HCl (Ph 8)	Pour 100 ml
Tris base (Amresco)	12,114g
Eau distillée	Compléter jusqu'à 100 ml
Ajuster le pH avec le HCl concentrée jusqu'à pH 8.	

Solution stock de NaCl :

5M NaCl	Pour 250 ml
NaCl (Merck)	73.05g
Eau distillée	Compléter jusqu'à 100 ml

Solution stock d'EDTA :

0,5 M EDTA (pH 8)	Pour 250ml
EDTA (Amresco)	18.6 g
Eau distillée	Compléter jusqu'à 100 ml

Ajuster le pH avec NaOH jusqu'à pH 8.

Solution stock du tampon d'extraction 2xCTAB :

2xCTAB	Volume final de 50ml	Volume final de 250ml
1M Tris-HCl (pH8)	5 ml	25 ml
5M NaCl	14 ml	70 ml
0.5M EDTA (Ph8)	2 ml	10 ml
CTAB(Amresco)	1 g	5 g
Eau distillée	Compléter jusqu'à 50 ml	Compléter jusqu'à 250 ml

Solution de Chloroforme / Isoamyl alcool :

Chloroforme / isoamyl alcool (24 : 1)	Pour 25 ml	Pour 100 ml
Chloroforme	24 ml	96 ml
isoamyl alcool ou 3- Methylbutanol (Sigma)	1 ml	4 ml

Solution de 70% Ethanol :

70% Ethanol	Pour 100 ml
Ethanol absoluou Ethanol Anhydrous denatured (Amresco)	70 ml
Eau distillée	30 ml

(b) Produits nécessaires pour PCR

Préparation de 2Mm dNTPs:

2mM dNTPs	Pour 1000 µl
100 Mm dATP(Promega)	20 µl
100 Mm dTTP(Promega)	20 µl
100 Mm dCTP(Promega)	20 µl
100 Mm dGTP(Promega)	20 µl
Eau bi-distillée stérile	920 µl

Préparation de l'amorce 10 pmol/ µl:

Amorce F/R	Pour 500 µl
100 µl Amorce Forward (Sigma)	50 µl
100 µl Amorce Reverse (Sigma)	50 µl
Eau bi-distillée stérile	400 µl

(c) Solutions stock pour les gels

Tampon de migration 5x TBE :

5x TBE	Pour 1L
Acide borique (Amresco)	27.5 g
Tris base (Sigma)	54g
0.5 M EDTA	20 ml
Eau distillée	Compléter jusqu'à 1 L

Ajuster le pH avec l'acide borique jusqu'à pH 8.

Gel de 1, 2% agarose:

Solution d'agarose	Pour 90ml	Pour 300 ml
Agarose (Promega)	1.08g	3.6g
5x TBE	18ml	60ml
Eau distillée	Compléter jusqu'à 90 ml	Compléter jusqu'à 300ml

Solution de 40% acrylamide :

40% Acrylamide	Pour 50 ml	Pour 250 ml
Acrylamide (Promega)	19.33g	96.65g
Bis acrylamide	0.67g	3.35g
Eau distillée	50 ml	250 ml

Solution de 6 % acrylamide natif :

6% Acrylamide	Pour 50 ml	Pour 250 ml
40% Acrylamide natif	10 ml	50 ml
5x TBE	10 ml	50 ml
Eau distillée	30 ml	150 ml

Préparation de bleu d'agarose :

Bleu d'agarose	Pour 10ml
1M Tris-HCl (pH8)	0.5 ml
0.5M EDTA (pH8)	0.1 ml
50% Glycérol (AcroOrganics)	5 ml
Bleu de bromophénol	20 mg

Préparation du bleu d'acrylamide :

Bleu d'acrylamide	Pour 25 ml
Formamide (Roche)	24.75 ml
Bleu de bromophénol	12.5 ml
Xylenecyanole (Sigma)	12.5 ml
Eau distillée	1.25 ml

(d) Solutions pour la coloration des gels

Solution de bromure d'éthidium (BET)

Solution diluée de bromure d'éthidium	Pour 1L
Bromure d'éthidium (10mg/ml)	100 µl
Eau distillée	1 L

Annexe 9
Marqueurs de taille utilisés
(a)

HyperLadder™ 100bp

<https://www.bioline.com/mwdownloads/download/link/id/4350/>

Ordering

Cat. No.

Size

BIO-33056

100 Lanes

BIO-33029

200 Lanes

BIO-33030

500 Lanes

*link will take you to our exclusive distribution partner site

Description

Ready-to-use molecular weight marker, designed for easy size determination of nucleic acids from 100 bp to 1 kb.

Product Highlights

- Broad size range – 10 evenly distributed bands from 100 bp to 1 kb
- Easy to orientate – several brighter reference bands
- Stable – can be stored at room temperature for up to 6 months
- Supplied with loading dye – for loading sample DNA

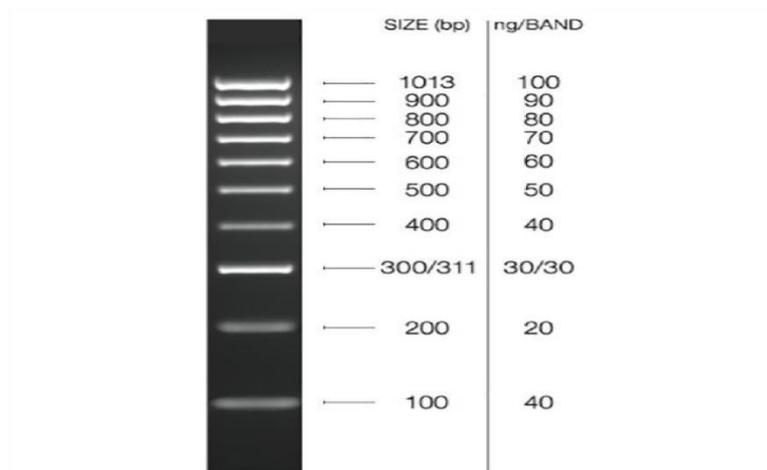
Product Description

HyperLadder™ 100bp is a molecular weight marker, composed of a restriction digest plus one or more PCR products, especially designed for easy size determination of linear doublestranded DNA fragments on 1% to 2% agarose gels.

The 10 regularly spaced bands, ranging from 100 bp to 1013 bp, with a doublet band at 300/311 bp and higher intensity reference bands at 1013 bp allow for easy identification and orientation of your band at a glance. This ready-to-use format reduces handling steps and saves time; simply transfer HyperLadder 100bp from the vial to the gel. The concentration of DNA in each of the HyperLadder 100bp bands is provided for optionally determining the approximate mass of DNA in comparably intense sample bands of similar size. The HyperLadder100bp is also supplied with a 5x loading dye for loading of sample DNA. HyperLadder 100bp is perfect for size determination in techniques such as confirmation of plasmid construction and PCR products as well as other downstream techniques.

Applications

- Restriction fragment mapping
- Determination of PCR amplicon size
- Confirmation of plasmid construction
- Detection of DNA polymorphisms
- Southern/Northern blotting
- Cloning



[HyperLadder Selection Chart](#)

Product Selection

Please refer to the [HyperLadder Selection Chart](#) to confirm the HyperLadder 100bp is the most suitable kit for your application.

Related Products

[MyTaq DNA Polymerase Kits Alpha-Select](#)

[Competent Cells](#)

[Agarose](#)

[Agarose Tablets](#)

[5x DNA Loading Buffer Blue](#)

[ISOLATE II PCR & Gel Kit](#)

Specification

Components

Reagent	200 Lanes	500 Lanes
HyperLadder™ 100bp	2 x 500 µL	5 x 500 µL
5x Sample Loading Buffer	1 mL	1 mL

Storage & Stability

All components are shipped at room temperature or on dry/blue ice and should be stored at 20°C upon receipt for optimum stability. Repeated freeze/thaw cycles should be avoided.

When stored under the recommended conditions and handled correctly, full activity of the reagents is retained until the expiry date on the outer box label.

Components may also be stored at +4°C or room temperature if required, although storage at 20°C is always recommended.

When stored at +4°C, reagents will remain stable for a period of 12 months.

When stored at room temperature, reagents will remain stable 6 months from date of receipt.

Shipping conditions Ambient temperature.

Resources

Documents

[Hyperladder - Fact Sheet](#)

[HyperLadder 100bp - Product Manual](#)

[HyperLadder 100bp - MSDS](#)

(b)

Lambda DNA

<https://worldwide.promega.com/products/biochemicals-and-labware/nucleic-acids/lambdadna/?catNum=D1501>



Size



Catalog number selected: D1501

Lambda DNA

[Please Enquire](#)

[Overview](#)[Specifications](#)[Resources](#)[Related Products](#)

Lambda DNA *c*1857 *Sam7* is isolated from infected *E. coli* strain W3350. Restriction enzymedigested lambda DNA (48,502bp) may be used as a molecular weight size marker in gel analysis of nucleic acids. Lambda DNA is also a commonly used substrate in restriction enzyme activity assays. The nucleotide sequence has been determined.

Storage Buffer: 10mM Tris-HCl (pH 7.5), 10mM NaCl, 1mM EDTA.

GenBank - EMBL Accession Number:[J02459](#).

Learn more about our custom options for this product at: www.promega.com/custom/

Reference

1. Sanger, F. *et al.* (1982) *J. Mol. Biol.* **162**, 729–73.

Specifications

What's in the box?

Item	Part #	Size
------	--------	------

Lambda DNA	D150A	1 × 250µg
------------	-------	-----------

SDS

Choose language:

[Download SDS PDF \(180 KB\) – English \(United States\)](#)

Certificate of Analysis

[Search by lot number](#)

Use Restrictions

For Laboratory Use. Outside of the United States, this product is intended for research use only unless otherwise stated.

Annexe 10
Écart-type, moyenne et coefficient de variation des variétés marocaines et des variétés exotiques des différents caractères agromorphologiques.

Caractères	Marocaines						Exotiques					
	Moyenne		Ecart-type		Coefficient de variation %		Moyenne		Ecart-type		Coefficient de variation %	
Phase d'épiaison	92,5		2,97		3,21		93,02		3,86		4,15	
Port de la plante	2		0		0		2,11		0,32		15,46	
Hauteur de la plante	Ir	Non ir	Ir	Non ir	Ir	Non ir	Ir	Non ir	Ir	Non ir	Ir	Non ir
	92,16	77,85	5,32	4,35	6,77	5,59	93,25	80,25	5,90	7,49	6,33	9,33
Hauteur de l'épi	7,265		0,68		9,36		7,153		0,905		12,67	
Longueur de la barbe	10,84		1,99		18,36		10,20		2,07		20,30	
Forme de la glume inférieure	1,75		0,46		26,45		1,904		0,37		19,435	
Forme de troncature de la glume inférieure	2,625		1,407		53,63		1,952		1,103		56,50	
Largueur de troncature de la glume inférieure	2,25		1,03		46,004		2,142		1,159		45,12	
Longueur du bec de la glume inférieure	5,25		0,707		13,46		5,428		1,625		29,936	
Courbure du bec de la glume inférieure	3,5		1,414		40,40		2,952		0,935		31,696	
Pilosité de la face externe de la glume inférieure	8		2,82		35,35		5,571		4,006		71,919	
Couleur de la barbe	2,125		0,834		39,27		1,809		0,862		47,645	
Couleur de l'épi	1,75		0,462		26,45		1,666		0,477		28,62	
Densité de l'épi	5,25		0,707		13,46		5,23		0,79		5,09	
Forme de la graine	2		1,069		53,45		2,95		1,49		50,71	
Longueur des poils de la graine	1,875		0,353		18,856		2,095		0,532		25,40	

Ir : irriguée ; Non Ir : Non irriguée