

## Résumé

Les variétés locales et les anciens cultivars de blé dur présentent une grande variation génétique et constituent une ressource précieuse pour l'amélioration des variétés modernes, notamment en termes de rendement et de qualité. Par conséquent, la caractérisation et l'analyse de la diversité génétique de ces ressources pourraient fournir aux obtenteurs une source inestimable de gènes pour des croisements futurs. À ce fin, la présente thèse a été réalisée dans le but d'une part de déterminer l'ampleur de la diversité génétique existante dans une collection de blé dur maintenue dans la banque de gènes du Maroc à l'aide des descripteurs agro-morphologiques, phénotypiques, biochimiques, physico-chimiques, et moléculaires ; d'autre part, de fournir aux généticiens une base de données de gènes précieux. Cette collection était composée de cultivars nord-américains et marocains et de variétés locales.

Les résultats de l'évaluation de la variabilité agro-morphologique ont montré une différenciation significative à très significative entre les accessions pour la plupart des caractères. Le nombre de plantes au stade d'émergence, la biomasse d'une plante au stade de floraison, la teneur en chlorophylle et le nombre d'épis ont montré une avance génétique élevée couplée à une forte héritabilité (*sens large*). De plus, des corrélations très significatives ont été mises en évidence entre les caractères agro-morphologiques offrant la possibilité d'une sélection directe ou indirecte. Les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales ont expliqué 45% de la variation totale et ont montré que les variétés locales marocaines et les cultivars nord-américains ont partagé des caractères morphologiques similaires, tandis que les cultivars marocains ont montré de meilleurs caractères agronomiques.

Pour l'évaluation de la diversité phénotypique, les données ont montré une diversité phénotypique importante entre les accessions. L'estimation de la diversité à l'aide de l'indice de diversité moyen H' (*Shannon Weaver*) a révélé des indices très élevés pour tous les traits qualitatifs étudiés, sauf la forme du grain. De plus, les données ont également montré que les cultivars de l'Amérique du Nord et les variétés locales ont eu des indices de diversité supérieurs à ceux des cultivars marocains pour la plupart des traits étudiés. Par ailleurs, l'analyse des correspondances multiples a également révélé une variation totale significative, a séparé les accessions nord-américaines des accessions marocaines, tout en isolant, également, les cultivars marocains des variétés locales.

Concernant l'étude biochimique, dans l'ensemble, les variétés locales marocaines ont présenté une plus grande diversité génétique et un plus grand nombre d'allèles de gluténine par rapport aux cultivars de blé dur marocain et nord-américain. Au total, 20 allèles catalogués et 12 nouveaux allèles ont été détectés. Pour le HMW-GS, deux allèles ont été trouvés au locus *Glu-A1*, et sept variantes alléliques différentes ont été identifiées au locus *Glu-B1*. Parmi eux, deux allèles étaient nouveaux (*Glu-B1cp* et *co*). De plus, deux des accessions analysées présentaient l'allèle *Glu-D1d*, suggérant la présence de l'introgession du locus *Glu-D1*. Pour le LWM-GS, huit, dix et deux allèles ont été identifiés aux locus *Glu-A3*, *Glu-B3* et *Glu-B2*, respectivement. Parmi eux, deux nouvelles combinaisons alléliques ont été identifiées au locus *Glu-A3*, et sept nouvelles variantes alléliques ont été identifiées au locus *Glu-B3*.

Pour le cas de l'étude physicochimique et la morphométrie du grain, selon les données sommaires et l'analyse en composantes principales, les cultivars nord-américains ont été caractérisés par des hautes teneurs en pigments jaunes et en protéines et des volumes élevés de sédimentation, les cultivars marocains par des teneurs élevées en amidon, et les variétés locales par des hautes teneurs en polyphénol-oxydases et moyennes teneurs en pigments jaunes. Pour les paramètres liés à la qualité meunière, selon les valeurs moyennes, les cultivars nord-américains et marocains ont été marqués par des poids de mille grains et des poids spécifiques élevés, tandis que les variétés locales ont été caractérisées par des grains de haute dimension. Quant à l'association marqueur-trait, les marqueurs choisis ont révélé de nouvelles associations et de multiples effets pléiotropes entre les loci et les traits analysés, en particulier les marqueurs *TaCwi-4A* et *LOXA*.

Au terme de ces travaux, la caractérisation réalisée et la variation génétique mise en évidence dans ce matériel génétique conservé peuvent représenter un pool de gènes précieux pour améliorer la qualité et le rendement du blé dur pour les unités de recherche sur l'amélioration génétique.

**Mots clés :** diversité génétique, descripteurs agro-morphologiques, phénotypiques, physico-chimiques et moléculaires, gluénines, taille des grains, association marqueur-trait, blé dur.

Youssef  
CHEGDALIContribution à la caractérisation et à l'évaluation de la diversité génétique  
d'accessions de blé dur (*T. turgidum ssp. durum*) au MarocAnnée, 2020  
Biologie, Santé et  
Environnement

Université Hassan 1<sup>er</sup>  
Centre d'Études Doctorales



Faculté des Sciences et Techniques  
Settat

## THÈSE DE DOCTORAT

Pour l'obtention de grade de Docteur en Biologie

Formation Doctorale : Biologie, Santé et Environnement

Spécialité : Biochimie et Agroressources

Sous le thème

Contribution à la caractérisation et à l'évaluation  
de la diversité génétique d'accessions de blé dur  
(*T. turgidum ssp. durum*) au Maroc

Présentée par :

Youssef CHEGDALI

Soutenu le : 28/12/2020 à 10h

A la Faculté des Sciences et Techniques de Settat devant le jury composé de :

Pr. Khadija ESSAFI	PES	Université Hassan I, Settat	Président
Pr. Ouafa LAMSAOURI	PES	Université Hassan I, Settat	Rapporteur
Pr. Chakib ALEM	PES	Université My Ismail, FST Errachidia	Rapporteur
Pr. Boubker NASSER	PES	Université Hassan I, Settat	Examineur
Pr. Bouchaib BENCHARKI	PES	Université Hassan I, Settat	Examineur
Pr. Saïd HILALI	PES	Université Hassan I, Settat	Examineur
Dr. Hassan OUABBOU	Directeur de Recherches	INRA, CRRA Settat	Co-Directeur de thèse
Pr. AbdelKhalid ESSAMADI	PES	Université Hassan I, Settat	Directeur de thèse

Année Universitaire : 2020/2021

## **Avant-propos :**

Le présent travail de thèse a été réalisé avec le soutien de nombreuses institutions : l'Université Hassan 1<sup>er</sup> de Settat, Maroc ; la Faculté des Sciences et Techniques de Settat, Maroc ; le Centre Régional de la Recherche Agronomique de Settat, Maroc ; le Programme Mondial de Blé, le Centre International de l'Amélioration de Blé et de Maïs de Texcoco, Mexico city, Mexique.

Ce travail a été effectué dans :

- Le laboratoire de la banque de gènes de Settat, Institut de la Recherche Agronomique de Settat, sous la direction de Monsieur le Docteur **Hassan OUABBOU**, dans le cadre de collaboration avec le laboratoire de biochimie et neurosciences, ressources naturelles et environnement, Faculté des Sciences et Techniques de Settat, Université Hassa 1<sup>er</sup>, sous la direction de Monsieur le Professeur **Abdelkhalid ESSAMADI**.
- Le laboratoire de chimie et qualité du blé, Programme Mondial de Blé, Centre International de L'Amélioration de Blé et de Maïs Texcoco, Mexico city du Mexique, sous la direction de Monsieur le Docteur **Carlos GUZMAN**.
- Le laboratoire de sélection moléculaire du blé, Programme Mondial du Blé, Centre International de L'Amélioration de Blé et de Maïs Texcoco, Mexico city du Mexique, sous la direction de Madame le Docteur **Susanne DREISIGACKER**.

## Dédicaces :

*Je dédie cette thèse à :*

*Mon regretté père Jilali*

*Ma chère mère Zouhra*

*Mon regretté frère Bouchaib et mes chers frères Mohammed, Fatima, Ahmed, Ibrahim, Nadia,  
Mouna.*

*Ma chère fiancée Hanaa.*

*Mes chers amis Tabal, Soufiane, Soufiane, Reda, Hamid, Karim, Arbi, Hamza, et Mehdi.*

*Toute personne ayant contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail de thèse.*

## **Remerciement :**

Je tiens à remercier vivement Mon Directeur de thèse Monsieur **Abdelkhalid ESSAMADI**, Professeur et Chef du laboratoire de Biochimie et Neurosciences, Ressources Naturelles et Environnement, pour sa grande confiance, son encadrement, son aide et son soutien pour m'avoir permis d'élaborer cette thèse. Je tiens à témoigner ma profonde gratitude envers lui et je suis reconnaissant de son respect et de son amitié.

Je tiens également à remercier vivement Mon Co-Directeur de thèse Monsieur **Hassan OUABBOU**, Docteur et Responsable de la Banque de Gènes National, pour sa grande confiance, sa meilleure bienveillance, son encadrement, et son soutien qui il m'a accordé au cours de mon séjours à l'Institut National de la Recherche Agronomique de Settat.

Mes plus sincères remerciements et ma gratitude à mes Superviseurs de thèse Monsieur **Carlos GUZMAN** et Madame **Susanne DREISIGACKER**, Docteurs et Chefs des laboratoires du Programme Mondial de Blé, pour leur bienveillance et leur hospitalité légendaire, et leur aide qu'ils m'ont accordé au cours de mon séjours au Centre International de l'Amélioration de Blé et de Maïs en Mexique.

Mes plus chaleureux remerciements vont également au Monsieur **Boubker NASSER**, Professeur et Vice Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Settat, pour son aide précieuse et ses nombreux conseils durant ces années de thèse.

Je tiens à remercier particulièrement Monsieur **Ali SAHRI**, Docteur et Chercheur au sein de la Banque de Gènes National, pour son aide, son soutien, et ses conseils pertinentes qu'il m'accordé au cours de ces années de thèse.

Je tiens également à remercier Mme **Naima QARIOUH**, Chercheuse au sein de la Banque de Gènes National, pour son aide précieuse, ses conseils judicieux et l'intérêt qu'elle a toujours porté à mon travail ainsi que sa disponibilité tout le long de ces années de travail.

Je tiens à remercier les membres de jury,

Madame la présidente du Jury **Khadija ESSAFI**, Présidente de l'Université Hassan I Settat, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir examiner ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Madame le Professeur **Ouafa LAMSAOURI**, de la Faculté des Sciences et Technique à l'Université Hassan I Settat, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir lire et évaluer ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur **Abdelaziz HMYENE**, de la Faculté des Sciences et Technique à l'Université Hassan II Moahammadia, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir lire et évaluer ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur **Chakib ALEM**, de la Faculté des Sciences et Technique à l'Université Moulay Ismail Errachidia, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir lire et évaluer ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur **Boubker NASSER**, Vice Doyen à la Faculté des Sciences et Technique à l'Université Hassan I Settat, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir examiner ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur **Bouchaib BENCHARKI**, Directeur du Centre d'Etudes Doctorales à l'Université Hassan I Settat, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir examiner ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur **Saïd HILALI**, Chef de Département de la Biologie et Appliquée et Agroalimentaire à la Faculté des Sciences et Technique à l'Université Hassan I Settat, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir examiner ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

J'aimerais remercier tout le personnel de la banque de gènes du CRRA de Settat, en particulier **Abd elmajid HASSANI**, **Mohammed BAHOU**, **Said HNANOUCHE**, et **Hafid HANAFI**, pour leur aide, leur coopération, leur disponibilité et leur implication dans mes travaux de recherche.

Mes vifs remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration et au bon déroulement de ce travail.

## Résumé :

Les variétés locales et les anciens cultivars de blé dur présentent une grande variation génétique et constituent une ressource précieuse pour l'amélioration des variétés modernes, notamment en termes de rendement et de qualité. Par conséquent, la caractérisation et l'analyse de la diversité génétique de ces ressources pourraient fournir aux obtenteurs une source inestimable de gènes pour des croisements futurs. À ce fin, la présente thèse a été réalisée dans le but d'une part de déterminer l'ampleur de la diversité génétique existante dans une collection de blé dur maintenue dans la banque de gènes du Maroc à l'aide des descripteurs agro-morphologiques, phénotypiques, biochimiques, physico-chimiques, et moléculaires ; d'autre part, de fournir aux généticiens une base de données de gènes précieux. Cette collection était composée de cultivars nord-américains et marocains et de variétés locales.

Les résultats de l'évaluation de la variabilité agro-morphologique ont montré une différenciation significative à très significative entre les accessions pour la plupart des caractères. Le nombre de plantes au stade d'émergence, la biomasse d'une plante au stade de floraison, la teneur en chlorophylle et le nombre d'épis ont montré une avance génétique élevée couplée à une forte héritabilité (sens large). De plus, des corrélations très significatives ont été mises en évidence entre les caractères agro-morphologiques offrant la possibilité d'une sélection directe ou indirecte. Les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales ont expliqué 45% de la variation totale et ont montré que les variétés locales marocaines et les cultivars nord-américains ont partagé des caractères morphologiques similaires, tandis que les cultivars marocains ont montré de meilleurs caractères agronomiques.

Pour l'évaluation de la diversité phénotypique, les données ont montré une diversité phénotypique importante entre les accessions. L'estimation de la diversité à l'aide de l'indice de diversité moyen H' (Shannon Weaver) a révélé des indices très élevés pour tous les traits qualitatifs étudiés, sauf la forme du grain. De plus, les données ont également montré que les cultivars de l'Amérique du Nord et les variétés locales ont eu des indices de diversité supérieurs à ceux des cultivars marocains pour la plupart des traits étudiés. Par ailleurs, l'analyse des correspondances multiples a également révélé une variation totale significative, a séparé les accessions nord-américaines des accessions marocaines, tout en isolant, également, les cultivars marocains des variétés locales.

Concernant l'étude biochimique, dans l'ensemble, les variétés locales marocaines présentaient une plus grande diversité génétique et un plus grand nombre d'allèles de gluténine par rapport aux cultivars de blé dur marocain et nord-américain. Au total, 20 allèles catalogués et 12 nouveaux allèles ont été détectés. Pour le HMW-GS, deux allèles ont été trouvés au locus *Glu-A1*, et sept variantes alléliques différentes ont été identifiées au locus *Glu-B1*. Parmi eux, deux allèles étaient nouveaux (*Glu-B1cp* et *co*). De plus, deux des accessions analysées présentaient l'allèle *Glu-D1d*, suggérant la présence de l'introgression du locus *Glu-D1*. Pour le LWM-GS, huit, dix et deux allèles ont été identifiés aux locus *Glu-A3*, *Glu-B3* et *Glu-B2*, respectivement. Parmi eux, deux nouvelles combinaisons alléliques ont été identifiées au locus *Glu-A3*, et sept nouvelles variantes alléliques ont été identifiées au locus *Glu-B3*.

Pour le cas de l'étude physicochimique et la morphométrie du grain, selon les données sommaires et l'analyse en composantes principales, les cultivars nord-américains ont été caractérisés par des hautes teneurs en pigments jaunes et en protéines et des volumes élevés de sédimentation, les cultivars marocains par des teneurs élevées en amidon, et les variétés locales par des hautes teneurs en PPO et moyennes teneurs en pigments jaunes. Pour les paramètres liés à la qualité meunière, les cultivars nord-américains et marocains ont été marqués par des poids de mille grains et des poids spécifique élevés, tandis que les variétés locales ont été caractérisées par des grains de haute dimension. Quant à l'association marqueur-trait, les marqueurs choisis ont révélé de nouvelles associations et de multiples effets pléiotropes entre les loci et les traits analysés, en particulier les marqueurs *TaCwi-4A* et *LOXA*.

Au terme de ces travaux, la caractérisation réalisée et la variation génétique mise en évidence dans ce matériel génétique conservé peuvent représenter un pool de gènes précieux pour améliorer la qualité et le rendement du blé dur pour les unités de recherche sur l'amélioration génétique.

**Mots clés :** diversité génétique, descripteurs agro-morphologiques, phénotypiques, physico-chimiques et moléculaires, gluénines, taille des grains, association marqueur-trait, blé dur.

## Abstract:

Local varieties and old cultivars of durum wheat exhibit great genetic variation and constitute a valuable resource for the improvement of modern varieties, especially in terms of yield and quality. Therefore, characterization and analysis of the genetic diversity of these resources could provide breeders with an invaluable source of genes for future crosses. To this end, this thesis was carried out with the aim, on the one hand, of determining the extent of the genetic diversity existing in a collection of durum wheat maintained in the gene bank of Morocco using agro-morphological, phenotypic, biochemical, physico-chemical, and molecular descriptors; on the other hand, to provide geneticists with a database of valuable genes. This collection consisted of North American and Moroccan cultivars and local varieties.

The results of the assessment of agro-morphological variability showed significant to very significant differentiation between accessions for most traits. The number of plants at the emergence stage, the biomass of the plants at the flowering stage, the chlorophyll content and the number of tips showed a high genetic advance coupled with a high heritability (broad sense). In addition, very significant correlation coefficients have been demonstrated between the agro-morphological characters offering the possibility of direct or indirect selection. The first two axes of the principal component analysis explained 45% of the total variation and showed that the Moroccan local varieties and the North American cultivars shared similar morphological characters, while the Moroccan cultivars showed better agronomic characters.

For the assessment of phenotypic diversity, data showed significant phenotypic diversity between accessions. Estimation of diversity using the mean diversity index  $H'$  (*Shannon Weaver*) revealed very high indices for all qualitative traits studied except grain shape. In addition, the data also showed that North American cultivars and landraces had higher diversity indices ( $H'$ ) than Moroccan cultivars for most of the traits studied. In addition, multiple correspondence analysis also revealed a significant total variation, separated the North American accessions from the Moroccan accessions, while also isolating the Moroccan cultivars from the local varieties.

Regarding the biochemical study, overall, Moroccan landraces exhibited greater genetic diversity and a greater number of glutenin alleles compared to Moroccan and North American durum wheat cultivars. A total of 20 cataloged alleles and 12 new alleles were detected. For HMW-GS, two alleles were found at the *Glu-A1* locus, and seven different allelic variants were identified at the *Glu-B1* locus. Among them, two alleles were new (*Glu-B1cp* and *co* alleles). In addition, two of the accessions analyzed presented the *Glu-D1d* allele, suggesting the presence of introgression of the *Glu-D1* locus. For LWM-GS, eight, ten and two alleles were identified at the *Glu-A3*, *Glu-B3* and *Glu-B2* loci, respectively. Among them, two new allelic variants were identified at the *Glu-A3* locus, and seven new allelic combinations were identified at the *Glu-B3* locus.

As for the physicochemical study, according to summary data and principal component analysis, North American cultivars were characterized by high contents of yellow pigments and proteins, and high volumes of sedimentation, Moroccan cultivars by high levels of starch, and local varieties by high contents of PPO, proteins, and medium contents of yellow pigments. For the milling quality parameters, cultivars were marked by high thousand kernel weights and specific weights, while local varieties were characterized by high kernel dimensions. As for the marker-trait association, the markers chosen revealed new associations and multiple pleiotropic effects between the loci and the traits analyzed, in particular the markers *TaCwi-4A* and *LOXA*.

At the end of this work, the characterization carried out and the genetic variation demonstrated in this conserved genetic material can represent a valuable gene pool for improving the quality and yield of durum wheat for research units on genetic improvement.

**Keywords:** genetic diversity, agro-morphological, phenotypic, physicochemical and molecular descriptors, glutenins, grain size, marker-trait association, durum wheat.

## ملخص:

تظهر الأصناف المحلية والأصناف القديمة من القمح الصلب تنوعاً وراثياً كبيراً وهي مورد قيم لتحسين الأصناف الحديثة، خاصة من حيث الإنتاجية والجودة. لذلك، فإن توصيف وتحليل التنوع الجيني لهذه الموارد يمكن أن يزود المربين بمصدر لا يقدر بثمن من الجينات للهجن المستقبلية. تحقيقاً لهذه الغاية، تم تنفيذ الأطروحة الحالية بهدف تحديد مدى التنوع الجيني الموجود في مجموعة من القمح الصلب المحفوظ في بنك الجينات في المغرب باستخدام واصفات مورفولوجية زراعية؛ مظهرية، كيميائية الحيوية، فيزيائية وكيميائية، وجزيئية؛ من ناحية أخرى، لتزويد علماء الوراثة بقاعدة بيانات للجينات القيمة. تتكون هذه المجموعة من أصناف أمريكية الشمالية وأصناف مغربية وأصناف محلية.

أظهرت نتائج تقييم التباين الزراعي-المورفولوجي تمايزاً مهماً للغاية بين المدخلات لمعظم الصفات. أظهر عدد النباتات في مرحلة النشوء، والكتلة الحيوية للنبتة واحدة في مرحلة الإزهار، ومحتوى الكلوروفيل، وعدد السنبلات تقدماً جينياً عالياً مقترناً بإمكانية وراثية عالية (بمعنى واسع). بالإضافة إلى ذلك، تم إثبات معاملات ارتباط ذات دلالة إحصائية بين الصفات المورفولوجية الزراعية التي تتيح إمكانية الاختيار المباشر أو غير المباشر. يشرح المحاوران الأولان لتحليل المكون الرئيسي 45% من التباين الإجمالي ويظهران أن الأصناف المحلية المغربية وأصناف أمريكا الشمالية تشترك في خصائص مورفولوجية متشابهة، بينما أظهرت الأصناف المغربية خصائص زراعية أفضل.

لتقييم تنوع النمط الظاهري، أظهرت البيانات تنوع مظهري كبير بين المدخلات. كشف تقدير التنوع باستخدام مؤشر التنوع المتوسط  $H'$  عن مؤشرات عالية جداً لجميع الصفات النوعية المدروسة باستثناء شكل الحبوب. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت البيانات أيضاً أن أصناف أمريكا الشمالية وسلالاتها كانت لها مؤشرات تنوع أعلى ( $H'$ ) من الأصناف المغربية لمعظم الصفات المدروسة. علاوة على ذلك، كشف تحليل المراسلات المتعددة أيضاً عن وجود تباين إجمالي كبير، حيث فصل مدخلات أمريكا الشمالية عن المدخلات المغربية، مع عزل الأصناف المغربية عن الأصناف المحلية.

فيما يتعلق بالدراسة البيو كيميائية، بشكل عام، أظهرت السلالات المغربية تنوعاً وراثياً أكبر وعددًا أكبر من أليلات الغلوتينين مقارنة بأصناف القمح القاسي المغربي وأمريكا الشمالية. تم اكتشاف ما مجموعه 20 أليلاً مفهرسا و12 أليلاً جديداً. بالنسبة لـ *GS*، من بينها، *HMW*، تم العثور على أليلين في موقع *Glu-A1*، وتم تحديد سبعة أنواع مختلفة من الأليلات في موضع *Glu-B1*. من بينها، كان هناك أليلان جديداً (*Glu-B1cp/co*). بالإضافة إلى ذلك، قدم اثنان من المدخلات التي تم تحليلها أليل *Glu-D1d*، مما يشير إلى وجود إدخال لموضع *Glu-D1*. بالنسبة إلى *LWM-GS*، تم تحديد ثمانية وعشرة أليلان في مواقع *Glu-A3* و *Glu-B3* و *Glu-B2*، على التوالي. من بينها، تم تحديد نوعين مختلفين من الأليلات الجديدة في موضع *Glu-A3*، وتم تحديد سبعة أنواع أليلية جديدة في موضع *Glu-B3*.

في حالة الدراسة الفيزيائية والكيميائية وقياس شكل الحبوب، وفقاً للبيانات الموجزة وتحليل المكون الرئيسي، تميزت أصناف أمريكا الشمالية بمستويات عالية من الأصباغ والبروتينات الصفراء، وكميات كبيرة من الترسيب، الأصناف المغربية بمستويات عالية من النشا، والأصناف المحلية بمستويات عالية من *PPO* ومحتويات صبغة صفراء متوسطة. لمعلومات جودة الطحن، تميزت الأصناف المغربية بأوزان عالية ألف حبة ووزن نوعي، بينما تميزت الأصناف المحلية بأبعاد نواة عالية. بالنسبة إلى ارتباط سمة العلامة، كشفت العلامات المختارة عن ارتباطات جديدة وتأثيرات متعددة الاتجاهات بين الموقع والسمات التي تم تحليلها، ولا سيما العلامات *LOXA* و *TaCwi-4A*.

في نهاية هذا العمل، يمكن أن يمثل التوصيف الذي تم إجراؤه والتنوع الجيني الموضح في هذه المادة الوراثية المحفوظة مخزوناً جينياً قيماً لتحسين جودة وإنتاجية القمح القاسي للوحدات البحثية المتعلقة بالتحسين الوراثي.

**الكلمات المفتاحية:** التنوع الجيني، المورفولوجية الزراعية، النمط الظاهري، الواصفات الفيزيائية والكيميائية والجزيئية، الغلوتينين، حجم الحبوب، رابطة الصفات، القمح الصلب.



## Table des matières :

Avant-propos:

Dédicaces:

Remerciement:

Résumé:

Abstract:

ملخص:

Tables des matières

Liste des figures :

Liste des tableaux :

Liste des annexes :

Liste des abréviations :

Liste des publications :

Listes des communications :

INTRODUCTION GENERALE .....	2
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....	6
I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	7
A. Histoire et l'origine du génome de blé dur .....	7
1. Domestication de blé dur .....	7
2. Génome de blé dur.....	8
3. Classification botanique de blé dur.....	10
B. Importance socio-économique de blé dur .....	10
1. Au monde.....	10
2. Au Maroc .....	12
C. Aperçu globale sur le climat du Maroc (Climat et géographie) .....	14
D. Diversité génétique de blé dur .....	16
1. Ressources phyto-génétiques et leur importance dans l'alimentation et l'agriculture.....	16
2. Etat des ressources phyto-génétiques et la diversité génétique de blé dur au Maroc .....	17
3. Estimation de la diversité génétique des ressources génétiques .....	20
E. Principales exigences de la qualité au marché de blé dur .....	23
F. Histologie et Composition chimique du grain de blé .....	24
1. Grain de blé.....	24
2. Composition chimique du grain de blé .....	26
G. Marquage moléculaire et la sélection .....	33

1. Marqueur moléculaire :.....	34
2. Polymorphisme d'un seul nucleotide:.....	35
3. Site marqué par une séquence : .....	36
4. Locus d'un trait quantitatif et la cartographie par analyse d'association : .....	37
5. Sélection assistée par marqueurs (MAS) .....	38
<b>II. MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>42</b>
A. Evaluation de la variabilité agro-morphologique d'une collection de blé dur .....	42
1. Matériel végétal (la collection mère) .....	42
2. Site expérimental et sa climatologie .....	42
3. Protocole expérimental .....	43
4. Caractères agro-morphologiques et physiologiques .....	43
5. Analyses statistiques .....	45
B. Evaluation de la diversité phénotypique à l'aide des caractères qualitatifs et quantitatifs .....	46
1. Matériel végétal (Toujours de la même collection mère) .....	46
2. Site expérimental .....	46
3. Dispositif expérimental .....	46
4. Description phénotypique .....	47
5. Analyses statistiques .....	47
C. Évaluation de la diversité des sous-unités de la gluténine .....	49
1. Matériel végétal (Toujours la même collection mère) .....	49
2. Analyse électrophorétique.....	49
3. Analyse des données .....	51
D. Caractérisation physicochimique et morphométrique des grains et leur association moléculaire .....	52
1. Matériel végétal.....	52
2. Protocole expérimental .....	52
3. Caractérisation physico-chimique, la morphométrie du grain, et le génotypage des marqueurs moléculaires .....	52
4. Analyses des données statistiques .....	59
<b>III. RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>60</b>
A. Estimation de la variabilité agro-morphologique d'une collection de blé dur .....	60
1. Résultats et présentation .....	60
2. Discussion des résultats et conclusion .....	65
B. Estimation de la diversité phénotypique à l'aide des descripteurs qualitatifs et quantitatifs .....	67
1. Résultats et présentation .....	67
2. Discussion des résultats et conclusion .....	73
C. Evaluation de la diversité des sous-unités de la gluténine .....	77
1. Résultats et présentation .....	77

2. Discussion des résultats et conclusion .....	84
D. Variation génétique à l'aide des paramètres physico-chimiques, des prédicteurs du rendement et de la morphométrie du grain et des marqueurs moléculaires .....	88
1. Résultats et présentation .....	88
2. Discussion des résultats et conclusion : .....	92
IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	101
V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	104
VI. ANNEXES : .....	122

## Liste des figures :

Figure 1: Carte de la diffusion de la culture du blé (Boujean, 2001). .....	8
Figure 2: a) Illustration graphique de la domestication et de l'évolution de blé (Haas <i>et al.</i> , 2019). b) Schéma phénologique de l'ancêtre <i>Triticum</i> et <i>Aegilops</i> (Feuillet <i>et al.</i> , 2008). .....	9
Figure 3 : Production mondiale de blé dur en (Source : IGC, April 2017). .....	12
Figure 4: Evolution des superficies occupées par les principales céréales cultivées au Maroc depuis 2007 (source : MAPM 2017). .....	13
Figure 5: Evolution des productions des principales céréales cultivées au Maroc depuis 2007 (source : MAPM 2017). .....	13
Figure 6: Carte agro-climatique du Maroc (RPGAA, 2007). .....	15
Figure 7: Schéma histologique d'un grain de blé (Surget et Barron, 2005). .....	26
Figure 8: Différentes types de bandes et d'allèles des sous unités gluténines de hauts poids moléculaire (Payne et Lawrence, 1983). .....	31
Figure 9: Diagramme montrant les sous unités gluténines de faible poids moléculaire de type B (les loci <i>Glu-A3</i> , <i>Glu-B3</i> , <i>Glu-B2</i> ) pour la variété Mexicali (Mex) et Langdon (Lgn). .....	32
Figure 10: Distribution moyenne de la température et des précipitations dans la station de Sidi El Aidi pendant la saison 2015/2016 (Source : fr.climate-data.org) .....	42
Figure 11: Présentation d'une parcelle (a), et un bloc (b). .....	43
Figure 12: Grandeurs d'un grain et une image prise par le logiciel " <i>Grainscan</i> " d'un échantillon de blé dur. ....	55
Figure 13: Génotypage par le test KASP. ....	58
Figure 14: Biplot explique 45% de la variation totale pour 280 accessions et 3 témoins de blé dur à l'aide de 12 traits agro-morphologique. ....	64
Figure 15: Distribution de 108 accessions de blé dur, au moyen d'une analyse de correspondances multiples et de treize caractères. ....	72
Figure 16: Composition de HMW-Gs observée dans une collection de blé dur. ....	79
Figure 17: composition de LMW-GS observée dans les variétés locales et les cultivars marocains. ....	82
Figure 18: Analyse Gt-Biplot pour 95 accessions de blé dur. ....	90

## Liste des tableaux :

Tableau 1: Classification botanique de blé dur.....	10
Tableau 2: Principales exigences de la qualité de blé dur pour les différentes catégories de personnes du marché (Troccoli <i>et al.</i> , 2000). .....	24
Tableau 3: Abréviations et unités des caractères étudiés. ....	44
Tableau 4: Mélange réactionnel pour un seul tube. ....	56
Tableau 5: Analyse descriptive pour les traits agro-morphologiques. ....	61
Tableau 6: Sources de la variation pour les 280 accessions de blé dur. ....	62
Tableau 7: Avance génétique, héritabilité (sens large), coefficient de variabilité génotypique et phénotypique pour douze caractères agro-morphologiques. ....	62
Tableau 8: Coefficients de corrélations entre les caractères agro-morphologiques. ....	63
Tableau 9: Cinq premiers axes de l'analyse en composantes principales des douze caractères agro-morphologiques. ....	64
Tableau 10: Classes des traits qualitatifs et leurs pourcentages .....	68
Tableau 11: Evaluation de la diversité génétique ( $H'$ ) pour toutes les accessions et pour chaque sous-collection. ....	70
Tableau 12: Valeurs de la diversité génique totale ( $H_t$ ), de la diversité génique au sein de la population ( $H_s$ ), et le coefficient de diversité génique ( $G_s$ ). ....	71
Tableau 13: Fréquence allélique pour chaque locus de HMW-Gs dans les matériaux analysés. ....	78
Tableau 14: Fréquence allélique pour chaque locus de LMW-Gs dans les matériaux analysés. ....	81
Tableau 15: Nombre des allèles et des patterns gluténines, et les paramètres de la diversité génétique. ....	83
Tableau 16: Analyse descriptive des caractères physico-chimiques et les grandeurs de la taille du grain. ....	89
Tableau 17: Association caractère- marqueur à l'aide de la valeur-p. ....	91

## Liste des annexes :

Annexe 1 : Origine et le code MGB pour les accessions de la collection. ....	122
Annexe 2 : Marqueurs moléculaire étudiés et leurs séquences. ....	125
Annexe 3 : Carte du Maroc. Présentation des regions et des sites de collecte de différentes variétés locales. .....	126
Annexe 4 : Electrophorèse sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur <i>GBSS</i> (STS). .....	127
Annexe 5 : Electrophorèse sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur <i>LOXA</i> (STS). ....	127
Annexe 6 : Electrophorese sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur <i>PSY1-F5/R5</i> (STS).....	128
Annexe 7 : Electrophorese sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur <i>PSY-A1</i> (STS) en utilisant l'appareil « <i>Fragment Analyser™ Automated CE System</i> » .....	129
Annexe 8 : Electrophorèse sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur du marqueur <i>YP7B-1</i> (STS) sur le gel d'agarose en utilisant l'appareil « <i>Fragment Analyser™ Automated CE System</i> ». .	130
Annexe 9 : Diagrammes de dispersion (Squatter plot pour le test KASP) pour certains marqueurs de SNPs....	131

## Liste des abréviations :

**ACM** : Analyse en Composante Multiple

**ACM** : Analyse des Correspondances Multiples

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**A-PAGE** : Acide-Electrophorèse sur Gel de PolyAcrylamide

**CIMMYT** : Centre international d'amélioration du maïs et du blé

**CRRA de Settat** : Centre Régional de la Recherche Agronomique de *Settat*

**CTAB** : Bromure de cythylmetrumethyl Amonium

**DNTP** : DésoxyriboNucléoside TriphosPhate

**FAO** : Food and Agriculture Organizations

**Genesys PGR**: Genesys Plant Genetic Resources

**HMW-Gs** : sous-unités de haut poids moléculaire

**ICARDA** : Centre international de recherches agricoles dans les régions sèches

**IGC** : International Grain Council

**INRA** : Institut national de la recherche agronomique

**IPGR** : Institut pour les ressources phytogénétiques

**LD** : Déséquilibre de Liaison

**LMW-Gs** : sous-unités de faible poids moléculaire

**MAPM** : Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime

**MAPM, DREF** : Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime, du Développement Rurales et des EAUX et des Forêts

**MAS** : Sélection assistée par marqueurs

**MGB** : Moroccan GeneBank

**NordGen** : Nordic Genetic Resources Center

**ONU** : Organisation des Nations Unies

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**QTL** : Locus contrôlant les Caractères Quantitatifs

**RPGAA** : Ressources PhytoGénétiques pour l'Alimentation et l'Agriculture

**SDS-PAGE** : DodécylSulfate de Sodium - Electrophorèse sur Gel de PolyAcrylamide

**SNP** : Single Nucleotide Polymorphism

**SPAD** : Soil Plant Analysis Development (Chlorophyl)

**STS** : Sequence Tagged Site

**USDA-ARS** : United State Department Agriculture- Agricultural Research Services

## Liste des publications:

**Chegdali, Y.;** Ouabbou, H.; Essamadi, A.; Cervantes, F.; Ibba, M.I.; Guzmán, C. Assessment of the Glutenin Subunits Diversity in a Durum Wheat (*T. turgidum ssp. Durum*) Collection from Morocco. *Agronomy* **2020**, 10, 957.

**Chegdali, Y.;** Ouabbou, H.; Essamadi, A. Assessment of agro-morphological variability in a durum wheat collection maintained in the Moroccan Gene Bank. *Australian Journal of Crop Science* **2020**, (*Accepté pour publication* : AJCS-Chegdali-PNE2799).

**Chegdali, Y.;** Ouabbou, H.; Essamadi, A.; Nuñez Rios, C.; Dreisigacker, S.; Ibba, M.I.; Guzmán, C. Physicochemical characterization, seed morphometry and their Association with DNA Markers in a durum wheat collection from Morocco's GenBank. (*En preparation*).

**Chegdali, Y.;** Ouabbou, H.; Essamadi, A. Phenotypic diversity of durum wheat entries conserved at ex situ conservation: Contribution to characterization and valorization of genetic resources. (*En preparation* ).

## Listes des communications :

**Chegdali, Y.;** Ouabbou, H.; Qariouh, N.; Nasser, B.; Essamadi, A. Caractérisation morphologique, biochimique et agronomique d'une collection de blé dur marocain et leur évaluation au stress hydrique. 3<sup>ème</sup> édition de la Journée Doctorant, CEDoc Sciences et Techniques, Université Hassan 1<sup>er</sup>, FST Settat, le Mardi 16 Juin 2015.



# **INTRODUCTION GENERALE**

### INTRODUCTION GENERALE

Le blé est l'une des céréales vivrières les plus cultivées au Monde. La connaissance de sa variabilité génétique à l'aide des marqueurs agro-morphologiques, physicochimiques, biochimiques, et moléculaire est d'une grande valeur scientifique, afin d'améliorer encore la productivité et la qualité. Le blé tendre et le blé dur (*Triticum aestivum* ; *T. durum*) sont parmi les aliments de base de la sécurité alimentaire dans le pourtour méditerranéen, plus particulièrement l'Afrique du Nord. Le blé dur est une culture économiquement importante, occupant le troisième rang après le blé tendre et l'orge, en termes de superficie et de production (FAO, 2018).

Historiquement, le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum*; A<sup>u</sup>A<sup>u</sup> BB; 2n = 4x = 28) est l'une des premières cultures domestiquées au monde. Il dérive de *T. turgidum* ssp. *dicoccum* (blé emmer), qui, à son tour, résulte de la domestication de *T. turgidum* ssp. *dicoccoides* (emmer sauvage). L'emmer sauvage, quant à lui, est issu de l'hybridation de deux espèces sauvages différentes : *T. urartu* (donneur du génome A<sup>u</sup>) et *Aegilops speltoides* (donneur du génome B) (Feuillet *et al.*, 2008). D'après les recherches archéologiques, la domestication de l'emmer sauvage, son évolution en blé dur et son utilisation pour la préparation des aliments, tout a commencé il y a environ 10 000 ans dans la zone du croissant fertile (Feuillet *et al.*, 2008). Par la suite, le blé dur s'est répandu dans les terres du bassin méditerranéen où, il y a environ 2 000 ans, il est devenu l'une des principales cultures de base de cette région. Actuellement, environ 18 millions d'hectares sont consacrés à la culture du blé dur, l'Europe, le Canada, l'Afrique du Nord, la Turquie, les États-Unis, le Mexique, le Kazakhstan, l'Inde et la Syrie étant les principaux producteurs de blé dur (Bassi *et al.*, 2019). Dans la région du bassin méditerranéen, le blé dur est considéré comme l'une des principales sources des protéines et des glucides (Duda *et al.*, 2019; Žilić *et al.*, 2011). Où, il représente plus de 50% de la superficie totale de culture de blé et la grande partie du rendement est destinée à la préparation d'une grande variété d'aliments tels que les pâtes, le couscous et le pain.

Au Maroc, le blé dur est une culture céréalière importante, produite sur environ 1 million d'hectares (MAPM, DREF, 2018). Cependant, le pays figure toujours parmi les six premiers pays importateurs de blé dur (Cam, 2017). Pour cette raison, le développement de variétés de blé dur à haut rendements, de bonne qualité, et adaptés à des environnements agro-climatiques est l'un des objectifs majeurs des programmes de sélection au Maroc.

## INTRODUCTION GENERALE

La diversité génétique de cette culture devrait jouer un rôle fondamental dans ce contexte car elle est une clé importante pour déterminer le potentiel du matériel génétique et son utilisation efficace dans un programme d'amélioration des cultures. Les ressources génétiques présentant un niveau élevé de variation génétique sont une ressource importante pour élargir la base génétique de tout programme de sélection végétale, en particulier les ressources génétiques des banques de gènes et des centres de diversité qui ne sont pas encore exploitées.

Le Maroc est l'un des principaux centres de diversité génétique du blé dur (Ramdani *et al.*, 2014), et une multitude de variétés traditionnelles ou de variétés locales de blé dur ont été développées par sélection naturelle ou par sélection paysanne. Ces précieuses ressources ont été inventoriées (ou restaurées), étudiées et sauvegardées. En effet, plusieurs études ont trouvé une grande variabilité dans les variétés locales de blé dur marocain et ont affirmé que ce matériel devrait être utilisé dans les programmes de sélection pour l'introgession ou l'amélioration des caractères souhaitables (Chentoufi *et al.*, 2014 ; Sahri *et al.*, 2014 ; Amallah *et al.*, 2016). En particulier, les variétés locales pourraient être utilisées pour améliorer les caractères de valeur commerciale tels que l'adaptation aux contraintes climatiques, la résistance aux maladies, le rendement et la qualité nutritionnelle et technologique (Aguiriano *et al.*, 2006 ; Nazco *et al.*, 2012 ; Mohammadi *et al.*, 2015 ; Mengistu *et al.*, 2018 ; Hernández-Espinosa *et al.*, 2019). Actuellement, les variétés locales de blé sont encore cultivées dans plusieurs régions (principalement rurales) et leur qualité organoleptique et de transformation pour la production de produits locaux fait maison est souvent considérée comme supérieure par rapport aux variétés de blé modernes (Zarkti *et al.*, 2010b ; Morgounov *et al.*, 2016). Pour cette raison, la compréhension des composants présents dans les variétés locales et les cultivars anciens qui contribuent à leur qualité de transformation et d'utilisation finale est d'une importance fondamentale afin d'exploiter leur variabilité génétique et de transférer plus efficacement ces caractères souhaitables dans des variétés modernes plus productives et adaptés aux contraintes agro climatique du Maroc.

Comme une meilleure stratégie de conservation des précieuses ressources, la Banque Nationale de Gènes est l'une des sources de ces composants, où conserve et gère plus de 3000 accessions de blé dur (représentant d'anciens cultivars, des variétés locales, des matériels d'obteneur, des lignées élites...). Cependant, malgré les études de Zarkti *et al* (2010a, 2010b ; 2012) et les activités annuelles entreprises concernant la caractérisation et l'évaluation de ces accessions, l'étude de la diversité génétique et l'élargissement de la base des données de gènes responsable des caractères du rendement et de la qualité restent insuffisants. Pour cela, la caractérisation et

## INTRODUCTION GENERALE

l'évaluation de la diversité de ces ressources et de leurs composants ouvrent toujours des perspectives nouvelles de recherches.

Dans ce contexte, la présente étude a été entreprise pour évaluer la diversité agromorphologique, phénotypique, biochimique, physicochimique, et moléculaire d'une collection de blé dur maintenue dans la banque de gènes nationale, composée de variétés locales et de cultivars marocains (en tant qu'ensemble de génotypes adaptés localement) et des cultivars de l'Amérique du Nord (Canada et États-Unis en tant que systèmes de classement parfaits du blé dur). Les résultats de cette présente étude contribueront certainement à la description et à la valorisation de la diversité génétique conservée et à l'enrichissement de la base de données de gènes cibles par la création d'une carte d'identité pour chaque accession, apportant ainsi aux sélectionneurs les informations et les outils nécessaires à l'établissement d'une agriculture durables à travers de l'amélioration durable du rendement et de la qualité des variétés modernes de blé dur.

Quatre volets de recherche ont été menés pour atteindre les objectifs de cette présente thèse :

- **Chapitre 1** intitulé « Evaluation de la variabilité agro-morphologique d'une collection de blé dur maintenues dans la banque de gènes du Maroc », a pour objectif d'évaluer la variation génétique disponibles entre 280 accessions de blé dur, incluant des variétés locales et des cultivars du Maroc et de l'Amérique du Nord, en utilisant douze caractère agro-morphologiques.
- **Chapitre 2** intitulé « Evaluation de la diversité phénotypique d'une collection de blé dur (*T. turgidum ssp. durum*) à l'aide des caractères qualitatifs et quantitatifs », l'objectif de ce chapitre est de montrer la diversité phénotypique existante entre les cultivars et les variétés locale (108 accessions) et leur distribution de point de vue des descripteurs phénotypiques héritables.
- **Chapitre 3** intitulé « Évaluation de la diversité des sous-unités de la gluténine dans une collection de blé dur (*T. turgidum ssp. durum*) du Maroc », tend à étudier la composition en sous-unités de gluténine à l'aide de l'analyse SDS-PAGE pour une collection de 95 accessions, ainsi que de montrer l'importance de la diversité alléliques des variétés locales par rapport les anciens cultivars du Maroc et de l'Amérique du Nord.
- **Chapitre 4** intitulé « Caractérisation physicochimique, la morphométrie des grains, et leur association avec des marqueurs d'ADN pour une collection de blé dur (*T. turgidum ssp. durum*) détenue par la banque de gènes du Maroc», le but de ce dernier chapitre est

## INTRODUCTION GENERALE

d'analyser les prédicteurs du rendement et de la qualité pour les mêmes accessions du chapitre 3 et de découvrir les associations entre ces prédicteurs et certains marqueurs d'ADN.

**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

### A. Histoire et l'origine du génome de blé dur

#### 1. Domestication de blé dur

Le blé est l'une des cultures fondatrices de la révolution agricole qui a eu lieu il y a 10 000 ans dans le croissant fertile et cette culture reste parmi les cultures les plus importantes au monde.

Avant de devenir la céréale la plus cultivée au monde, le blé était un composant idéal de l'alimentation pour l'homme du croissant fertile, plus précisément l'homme de Diyarbakir en Turquie (Heun *et al.*, 1997). Plus tard, sa culture s'était généralisée dans les régions du Moyen-Orient et du Proche-Orient et en Afrique du Nord, puis dans le monde entier.

Selon les études archéologiques, l'histoire de la domestication a été commencée pendant l'ère néolithique dans le croissant fertile (Feuillet *et al.*, 2008). Au cours de cette période, l'homme a constaté dans leur habitat naturel une plante graminée caractérisée par des chaumes contenant des épillets elles-mêmes contenant des grains (Bonjean, 2001; Luo *et al.*, 2007). Ces phénotypes particuliers la rendaient plus intéressante pour l'anthropisation dans le sens de l'exploiter et de l'utiliser dans le régime alimentaire quotidienne et le fourrage des animaux.

L'évolution de la sélection et l'expansion de la culture de blé dur ont été établies par la sélection naturelle et par l'anthropisation. En effet, la sélection du blé dur à battage libre (*T. turgidum ssp. durum* (Desf)) a été dérivée de la domestication du blé amidonné sauvage allo-tétraploïde (WEW; *T. turgidum ssp. dicocoides* Thell) et de l'évolution subséquente du blé amidonné décortiqué (DEW; *T. turgidum ssp. dicoccum* Schrank) (Dubcovsky et Dvorak, 2007). Selon des études moléculaires, les mutations naturelles apparues au niveau des loci *Q* (gène du rachis facile à cassé) et *Tg* (gène du glume tenace) ont conduit à l'engendrement des nouvelles traits spécifiques comme par exemple la forme carrée d'épi, les glumes tendres et les grains non-décortiqués facile au battage (Simons *et al.*, 2006; Peng *et al.*, 2011.; Tzarfati *et al.*, 2014). Ces améliorations phénotypiques obtenues ont donné l'apparition de plusieurs sous-espèces caractérisées par un battage facile (*T. t. ssp. polonicum*, *T. t. ssp. Carthlicum*, *T. t. ssp. turgidum*, *T. t. ssp. durum*) (Sahri *et al.*, 2014). Suite au développement des techniques conventionnelles, ces espèces ont été bien améliorées et ont donné aujourd'hui le blé dur et le blé tendre.

Après ces étapes d'évolution, la culture de ces espèces s'est diffusée vers les régions du Proche Orient, puis vers les différentes régions du bassin méditerranéen, l'Europe, l'Afrique, et l'Asie (Bonjean, 2001) (Figure 1).

2. Génome de blé dur

Plusieurs ancêtres diploïdes ont contribué au génome du blé moderne (Haas *et al.*, 2019). En particulier, le génome de blé dur actuel ( $2n=4x=28$ ) est le résultat d'un mécanisme de polyploïdisation entre deux ancêtres diploïdes : *Aegilops* et *Urtu* (Figure 2). Plus précisément, l'origine de son génome est dérivée de l'évolution du premier polyploïde qui est le blé *T. turgidum* (BBAA), résultant également de l'hybridation polyploïde de deux génomes différents : *Triticum Urtu* (génome donneur A<sup>u</sup>A<sup>u</sup>) et *Aegilops speltoides* (génome donneur BB) (Feuillet *et al.*, 2008).

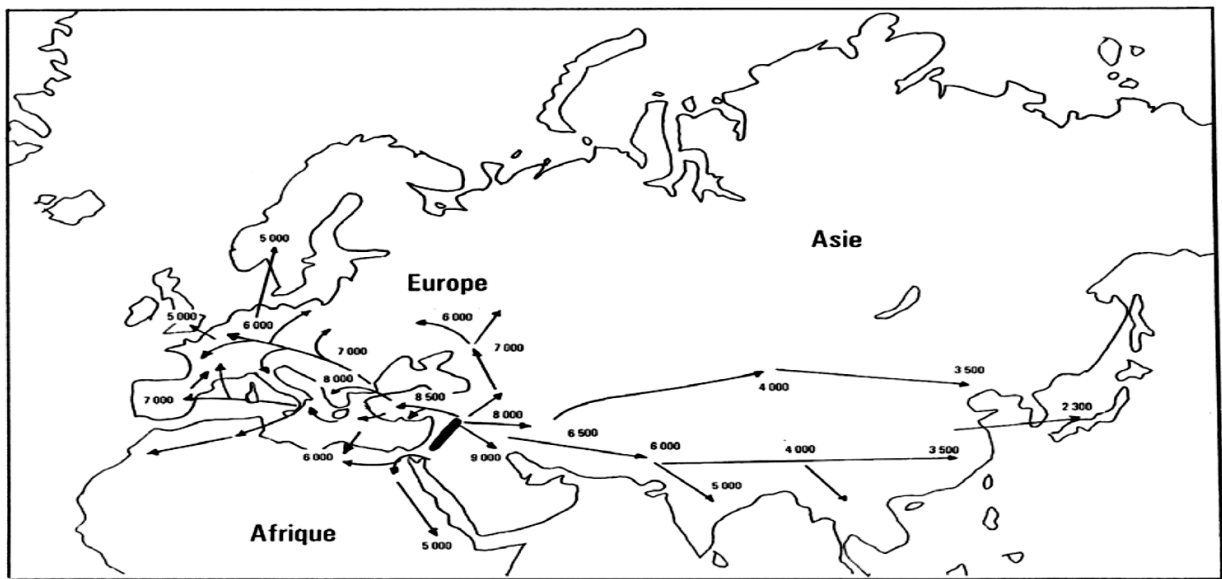


Figure 1: Carte de la diffusion de la culture du blé (Boujean, 2001).



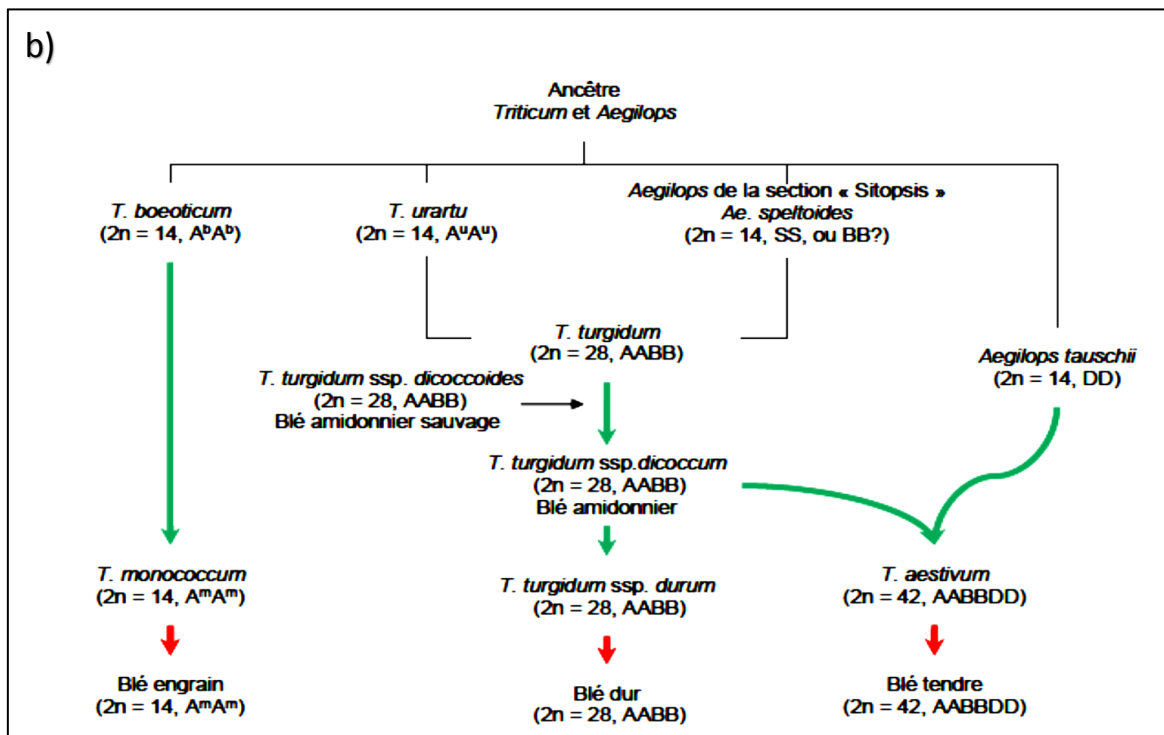
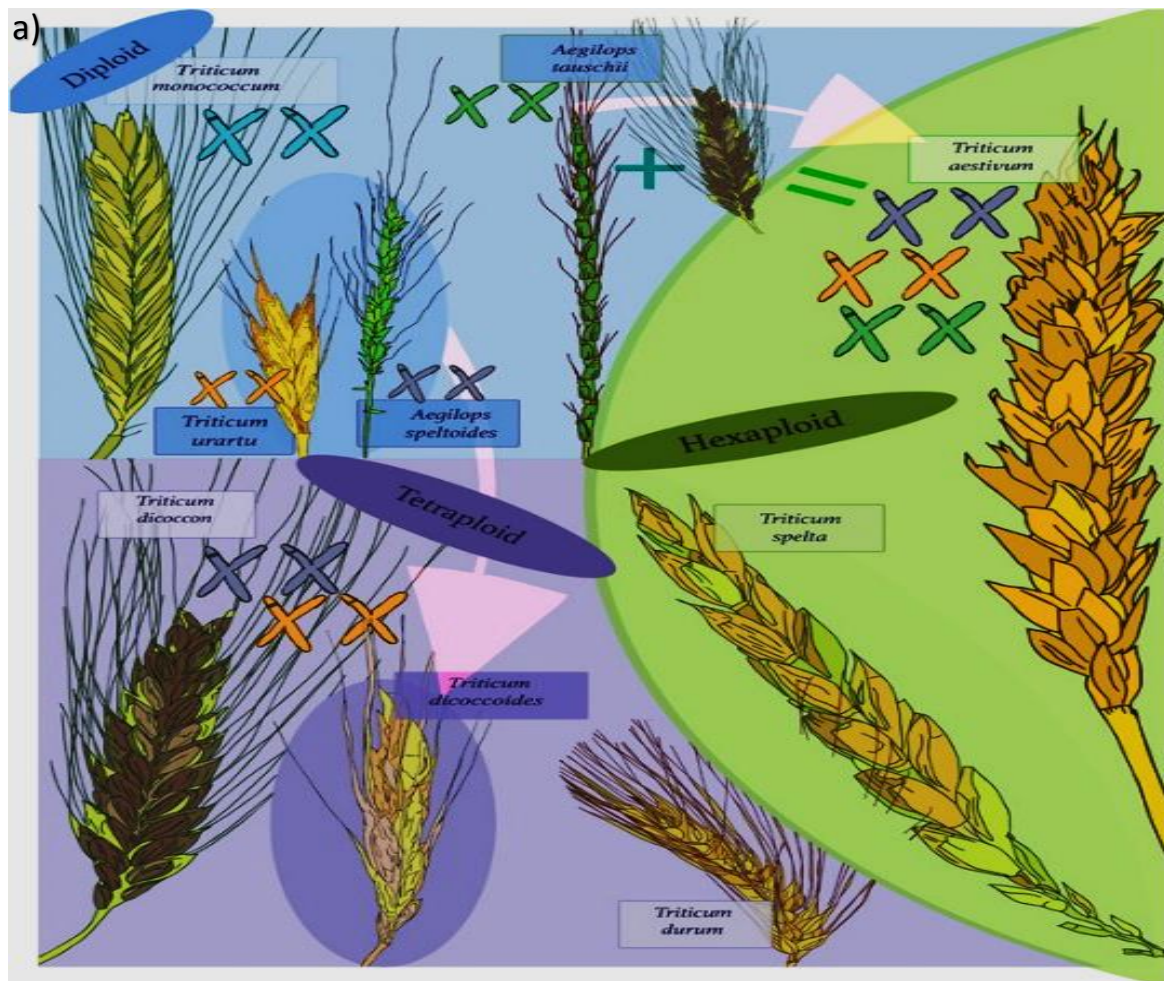


Figure 2: a) Illustration graphique de la domestication et de l'évolution de blé (Haas *et al.*, 2019). b) Schéma phylogénétique de l'ancêtre *Triticum* et *Aegilops* (Feuillet *et al.*, 2008).

3. Classification botanique de blé dur

Le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. durum) qui est une monocotylédone de la famille des graminées obéit à la classification présentée dans le tableau 1 (Crête, 1965; Feillet, 2000).

Tableau 1: Classification botanique de blé dur.

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Liliopsida</i>
Sous-classe	<i>Commelinidae</i>
Ordre	<i>Cyperales</i>
Famille	<i>Poaceae</i>
Sous-famille	<i>Pooideae</i>
Tribu	<i>Triticeae</i>
Genre	<i>Triticum</i>
Nom binominal	
<i>Triticum turgidum</i> ssp. durum (Desf) Husn.	
Ou	
<i>Triticum durum</i> Desf.	

B. Importance socio-économique de blé dur

1. Au monde

Depuis la première révolution agricole, le blé dur est l'une des ressources fondamentales pour la sécurité alimentaire dans le monde. A ce jour, cette source alimentaire occupe de plus en plus d'importance dans la sécurité sociale et l'économie des pays par le fait de leur contribution à la sécurité alimentaire humaine et agricole, notamment la réduction de la pauvreté de la population en la nourrissant. De plus, il contribue, entre autres céréales, énormément aux apports caloriques et protéiques de la population mondiale, principalement celle du bassin méditerranéen. Puisque plus de 50% de la superficie totale consacrée à la culture du blé est consacrée au blé dur et qu'une grande partie de sa productivité est destinée à la fabrication d'aliments tels que les pâtes, le pain, le boulgour, le freekeh et le couscous (Guzmán *et al.*, 2015).

Dans les pays en développement, la culture de blé dur domine dans les climats arides et semi-arides (climat méditerranéen), où elle constitue parfois la seule ressource alimentaire de base. L'agriculture de cette culture céréalière tétraploïde s'étend sur un large éventail de zones climatiques, allant des environnements chauds et secs aux environnements frais et humides.

Celles-ci sont principalement situées dans des zones soumises à des conditions alternées favorables et stressées en fonction des précipitations et des températures annuelles (Bassi *et al.*, 2019). Cependant, il a habituellement un rendement stable malgré les variations climatiques au cours de sa croissance. Selon Bassi *et al* (2019), sa surface de culture mondiale dépasse 18 millions d'hectares, le Canada étant le plus grand cultivateur avec 2,1 millions d'hectares, suivi par l'Italie, l'Algérie et l'Inde avec environ 1,4 million d'hectares chacun, puis la Turquie, le Maroc et la Syrie avec 1,0 à 1,2 million d'hectares, et en ordre de surface Ethiopie, Tunisie, Iran, France, Espagne, Pakistan et Grèce cultivant 0,3-0,5 million d'hectares chacun.

Selon Cam (2017), la production mondiale annuelle moyenne de blé dur était environ de 39,4 millions de tonnes durant la campagne 2017/2018 pour une superficie cultivée de 16,1 million hectares (Figure 3). En particulier, Canada (50%), Mexique (14%), Europe (9%), et USA (7%) ont été les grands exportateurs de blé dur au monde. De plus, la grande partie exportée est destinée vers l'Italie étant considéré comme le premier importateur au monde par un pourcentage de 21%, suivi par l'Algérie par 14%, Germanie 8%, Tunisie 7%, Etats-Unis et le Maroc par 6%. Ces processus d'achat (d'importation) et de vente (d'exportation) de blé dur ont une influence directe sur l'économie du pays. Cela montre, par conséquent, que le blé dur d'une grande importance économique dans le monde, démontrée par la création d'un marché mondial des céréales et la relance des échanges commerciaux entre les pays.

Les habitudes traditionnelles d'utilisation, la réduction des emblavures consacrées à la culture, l'érosion génétique et les changements climatiques rendent la culture et la production de blé dur moins présentable et parmi les céréales les plus revendiquées sur le marché mondial. Cette déficience en cette culture a poussé au cours des dernières décennies les programmes de sélection à améliorer la productivité annuelle et la qualité des semences afin de répondre aux attentes d'aujourd'hui et celles de la population mondiale qui va s'accroître à plus de 2 milliards d'habitants d'ici 2050 (ONU, 2020).

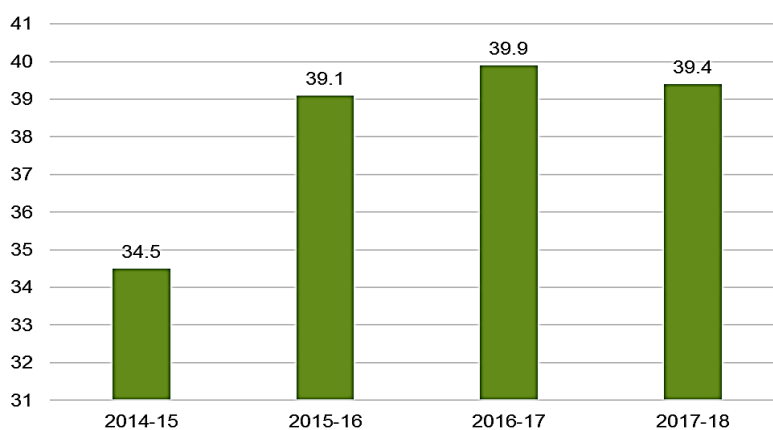


Figure 3 : Production mondiale de blé dur en (Source : IGC, Avril 2017).

## 2. Au Maroc

Au Maroc, la filière céréalière constitue l'une des principales filières de la production agricole. La céréaliculture joue un rôle important dans l'économie nationale et rythme le développement de l'agriculture marocaine (Akesbi, 2005). Elle couvre une superficie d'environ cinq millions d'hectares soit près de 60 % des terres cultivées (MAPM, 2017). Les céréales participent pour le tiers du produit intérieur brut agricole et assurent des fonctions multiples. Au niveau de l'alimentation humaine, elles apportent les deux tiers des calories et les trois quarts de protéines. Au niveau de l'élevage, plus de 50 % des unités fourragères sont fournies par les céréales. Globalement, la céréaliculture conditionne l'équilibre économique des exploitations agricoles.

Dans le cadre de l'amélioration de la vie socio-économique, Sa majesté le Roi Mohammed VI a donné le lancement du nouveau modèle agricole "**Generation Green Maroc**" en poursuivant la première stratégie du "**Plan Maroc Vert**", et qui concerne, cette fois-ci, tous les secteurs agricoles et toutes les classes des paysans, notamment la classe moyenne des jeunes agriculteurs des zones rurales. Cette nouvelle stratégie a adopté deux orientations fondamentales et sont la priorité à l'humain rurale et la durabilité du développement agricole. Étant donné qu'il représente l'un des secteurs les plus actives dans le secteur agricole, le blé dur a aussi bénéficié de ces nouvelles générations de développement agricole tels que l'accroissement des emblavures par le biais de bénéfice de terres collectives ethniques, la priorité à l'augmentation de la production par l'intensification et l'utilisation des nouvelles variétés (semences certifiées), la commercialisation de la récolte des petits agriculteurs par la création des coopératives et groupement agricoles productifs...etc. Par conséquent, ce secteur pourrait contribuer plus à la vie socio-économique du pays dans les jours avenir.

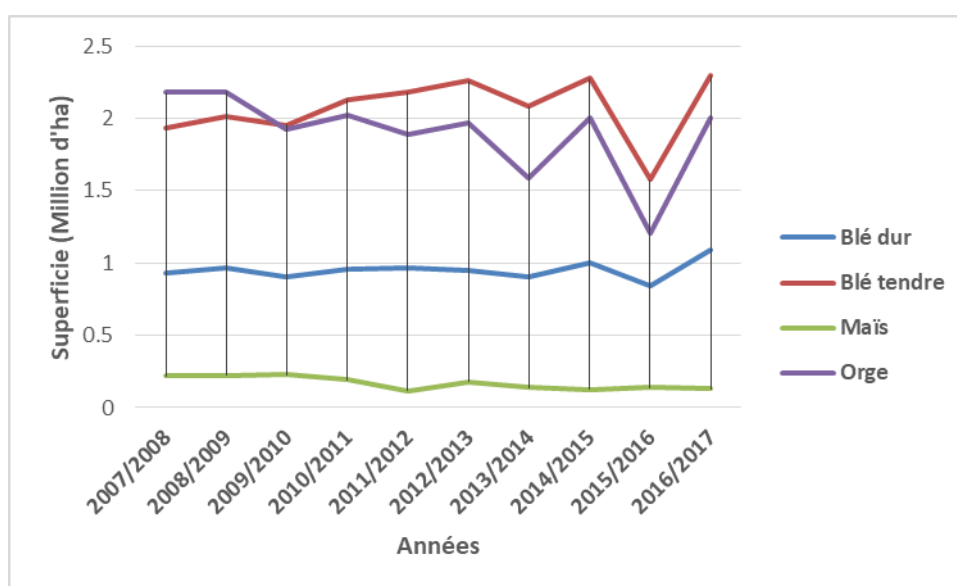


Figure 4: Evolution des superficies occupées par les principales céréales cultivées au Maroc depuis 2007 (source MAPM 2017).

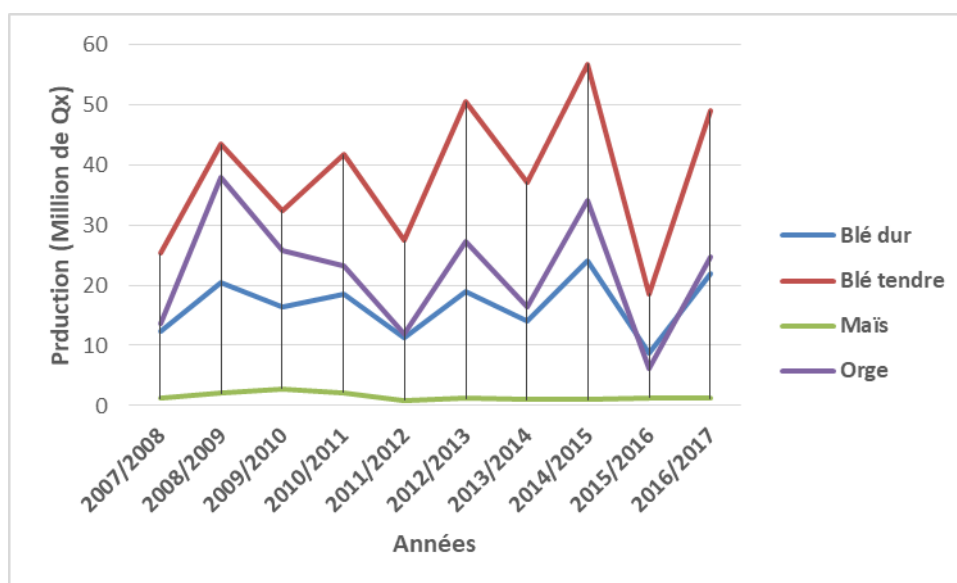


Figure 5: Evolution des productions des principales céréales cultivées au Maroc depuis 2007 (source MAPM, 2017).

Les céréales sont représentées essentiellement par les cultures du blé tendre, de l'orge, du blé dur et du maïs (Figure 4 et 5). Le sorgho (4060 ha en 2017) et le riz (8013 ha en 2017) sont également cultivés au Maroc mais avec une importance moindre (MAPM, 2017).

Le blé dur, constitue l'une des principales cultures au Maroc. Il occupe une place centrale dans l'économie marocaine et couvre une superficie d'un million d'hectares sur les cinq millions d'hectares consacrées à la céréaliculture (MAPM, 2017).

Le blé dur est cultivé partout au Maroc. La rusticité de blé dur fait qu'elle peut être cultivée dans des terrains où ne pousserait pas les autres cultures. La grande majorité de ces superficies des cultures se localisant en zones pluviales, et la moitié de ces emblavures se situe dans les régions bour défavorables (Belaid *et al.*, 2003). La distribution et la variabilité de la production dans la plupart des zones de production sont conditionnées par l'intensité des facteurs climatiques (température et pluviométrie), édaphiques (salinité, nature et profondeur des sols) et des pratiques agricoles (fertilisation, irrigation, mécanisation etc.). Trois régions économiques : Grand Casablanca-Settat – Fés - Meknés et Marrakech-Safi ont une vocation céréalière marquée ; ensemble elles représentent plus de 50 % de la production nationale (MAPM, 2017).

En dépit de l'importance de la pluviométrie et de la productivité annuelle moyenne, ainsi que de l'importance de superficies consacrées, le Maroc reste le sixième importateur de blé dur sur le marché international (Cam, 2017). Cependant, jusqu'à nos jours, le pays est toujours contraint d'augmenter ses importations de blé dur auprès des grandes marchés internationaux tels que le marché Français, Canadien, Ukrainien, Russe et Américain. Etant donné que cet accroissement des importations est généralement dû à la faible stabilité de la pluviométrie, les pratiques agricoles et les modes de transformation actuelles, et à la déstabilisation de la production annuelle combiné à la recherche de la qualité.

### C. Aperçu globale sur le climat du Maroc (Climat et géographie)

Le Maroc, de par sa situation géographique et les caractéristiques de son milieu physique, est l'un des centres de diversité de plusieurs espèces cultivées, dont l'espèce blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum*).

Selon le deuxième rapport National sur l'état des ressources phyto génétiques pour l'alimentation et l'agriculture (RPGAA, 2007), le Maroc a un site géographique particulier, se situe à l'angle nord-ouest de l'Afrique entre 21° et 26° parallèle nord et entre le 1<sup>er</sup> et le 17<sup>eme</sup> degré de longitude ouest. Il est limité par la mer méditerranée et les chaînes montagneuses de l'Atlas au nord, par l'océan atlantique à l'ouest, et par le front désertique du Sahara au sud.

Ce site géographique distinctif accorde au Maroc un bioclimat de caractéristiques du climat méditerranéen qui est habituellement caractérisé par un hiver humide et froid et un été sec et chaud. La diversité géologique et géographique confère également au royaume un gradient de climat extrêmement important qui part de l'humidité et de la sous-humidité dans les zones sahariennes et désertiques, passant par un climat aride à semi-aride dans les plaines, les plateaux, les hauts et les moyen Atlas, et se termine par un climat tempéré méditerranéen dans les zones montagneuses du Rif et les régions occidentales (RPGAA, 2007).

Ce gradient de climat a contribué à classifier les régions du Maroc en des zones défavorables et favorables pour la végétation. En effet, six zones agro-climatiques différentes ont été distinguées : favorable, intermédiaire, défavorable sud, défavorable oriental, montagneux et Saharien (Figure 6). Cette distribution des domaines est aussi établie en fonction des rapports de précipitations allant de 150 mm pour les zones sahariennes jusqu'à 400 mm pour les zones favorables (RPGAA, 2007).

Cette classification géo-climatique a eu un impact énorme sur la biodiversité du Maroc et en fait l'un des principaux centres de diversité génétique, plus particulièrement dans les ressources phyto-génétiques cultivées et sauvages, dont le blé dur.

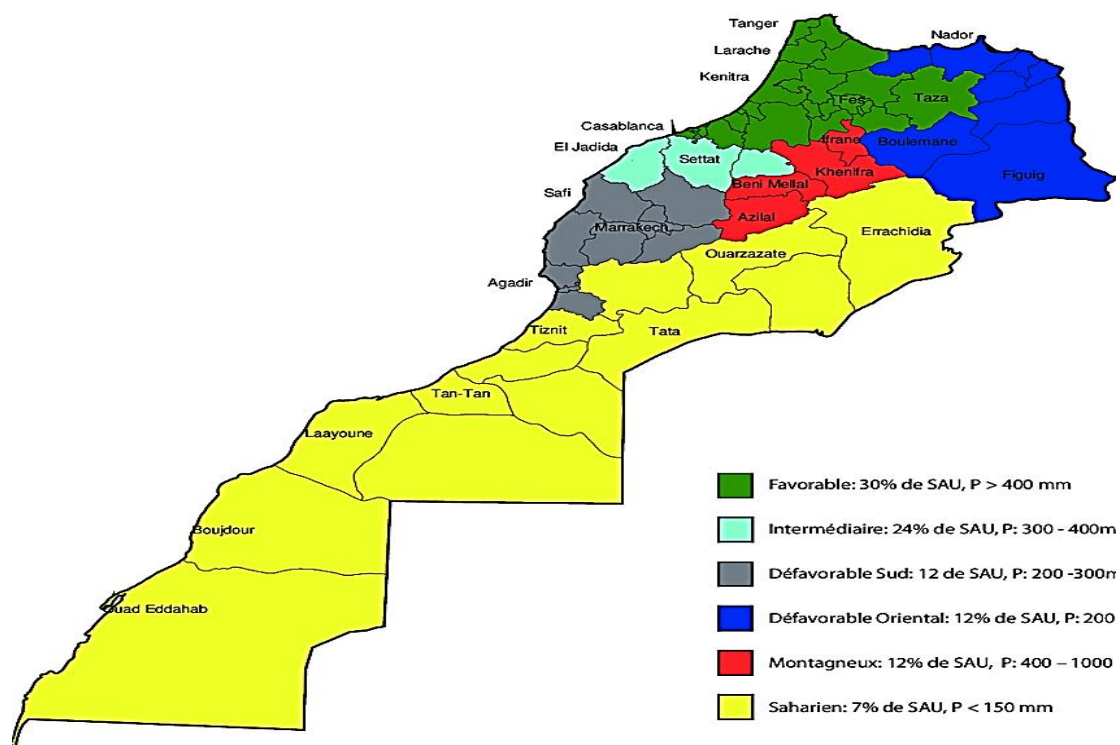


Figure 6: Carte agro-climatique du Maroc (RPGAA, 2007).

### D. Diversité génétique de blé dur

La diversité génétique des plantes cultivées constitue un réservoir de gènes pour le développement des nouvelles variétés. Au cours des dernières décennies, la diversité génétique a été menacée par les bouleversements et les changements du climat, ainsi que par l'érosion génétique produite par le remplacement des variétés traditionnelles par des variétés commerciales. A ce fait, les organisations responsables de la conservation des ressources phyto-génétiques ont donc pris une bonne initiative qui est de se battre contre ces menaces par l'adoption des stratégies et des politiques actives de préservations et par la signature de plusieurs accords de coopérations dans le cadre de conserver et de protéger ces patrimoines génétiques en mettant deux types de conservations : la conservation *ex situ* (les banques de gènes) et la conservation *in situ* (les écosystèmes locaux) (RPGAA, 2007). En conséquence, ces initiatives ont eu et continuent d'avoir un impact majeur sur la protection de la diversité génétique et la conservation de la diversité.

#### 1. Ressources phyto-génétiques et leur importance dans l'alimentation et l'agriculture

Les ressources phyto-génétiques, l'alimentation et l'agriculture se sont des composantes essentielles pour la durabilité de la vie dans notre planète. Par conséquent, la conservation de leurs complémentarités et de leurs interactions serait bénéfique pour la pérennité de la vie.

La durabilité de l'agriculture dépend de la préservation des ressources végétales. L'agriculture depuis sa découverte jusqu'à nos jours a de plus en plus joué un véritable rôle dans la sécurité alimentaire humaine et dans la réduction de la pauvreté. Cependant, son rôle sera confronté à des défis majeurs dans les prochains jours, plus particulièrement l'alimentation d'une population croissante et les changements environnementaux imprévisibles. Par conséquent, la sauvegarde et la conservation des ressources phyto-génétiques et leur exploitation en agriculture ont été considérées comme les meilleures stratégies pour relever ces défis (RPGAA, 2007).

En effet, dans le cas d'un déficit de récolte et de qualité d'une plante cultivée d'importance socioéconomique, les ressources génétiques constituent une source précieuse de gènes pour les sélectionneurs pour l'amélioration variétales, et par conséquent représentent une composante de base pour la durabilité de l'agriculture, surtout lors de l'occurrence d'un déséquilibre dans la couverture de la sécurité alimentaire et sociale de la population en situation d'urgence (FAO, 1996). Donc, leur prospection, leur caractérisation, leur documentation, leur valorisation, et leur



utilisation durable pourraient être bénéfiques pour les générations présentes et futures. A ce fait, la sauvegarde de ces matériels génétiques doit avoir une priorité dans les programmes de conservation des plantes via l'organisation des programmes de restauration des autres sites hors du centre de diversité locale, de collecte, de caractérisation et de maintien durable (RPGAA, 2007).

### 2. Etat des ressources phyto-génétiques et la diversité génétique de blé dur au Maroc

Le Maroc berce d'une diversité unique des ressources végétales dans le monde. Parmi ces espèces végétales sauvages et cultivées, il y a le blé dur. Ce dernier est l'une des ressources végétales de base les plus intéressantes dans les régimes alimentaires quotidiens puisqu'il s'utilise journalièrement dans la préparation du pain et du couscous, ainsi que pour la fabrication des pâtes et d'autres mets traditionnels. La qualité de ses dérivées lui donne aussi une meilleure appréciation par le consommateur marocain (Nsarellah *et al.*, 2005). Donc, il contribue à la réduction de la pauvreté de la population par son utilisation journalière dans l'alimentation de la population et par sa culture qui offre également un pourcentage important de postes dans le marché de travail en milieu urbain et rurale. Cependant, les ressources génétiques du blé dur au Maroc ne sont pas suffisamment et correctement exploitées.

Concernant l'état de la diversité génétique et leur origine, la position stratégique et le climat méditerranéen sont principalement les facteurs essentiels qui font du Maroc un centre de diversité génétique du blé dur. Cette position donnée au Maroc découle en effet de l'utilisation continue d'anciennes variétés par les petits agriculteurs dans les écosystèmes marginaux, du climat varié et de la répartition géographique du pays (plaines, montagnes, désert), ainsi que de la diversité des pratiques et des lieux de cultures. Ainsi, ces actions humaines et environnementales sont considérées comme l'origine de cet état de la diversité du blé dur marocain (Sahri *et al.*, 2014 ; Taghouti *et al.*, 2017), ce qui en fait par conséquent une source essentielle de gènes et d'allèles dans le programmes de sélection (Sahri *et al.*, 2014).

Par ailleurs, plusieurs recherches ont révélé une diversité génétique importante entre des variétés de blé dur collectées de différents régions du Maroc et rapporté que les génotypes marocains sont de précieuses sources de gènes pour les programmes de sélection (Zarkti *et al.*, 2012; Chentoufi *et al.*, 2014; Sahri *et al.*, 2014; Amallah *et al.*, 2015 ; Taghouti *et al.*, 2017). Pecetti *et al* (1992) ont également affirmé que le matériel génétique marocain constitue un pool génétique prometteur pour la culture de blé dur du pays. Ainsi, leur conservation et leur

utilisation dans les programmes de sélection profiteraient à l'agriculture dans les prochaines années.

En collaboration avec des organisations internationales, ces appréciations ont incité les institutions nationales responsables de la diversité génétique et des ressources phytogénétiques de protéger ce matériel génétique du changement climatique et de l'érosion génétique en adoptant des stratégies de gestion de ces ressources afin de garantir la disponibilité de la biodiversité cultivée pour l'avenir et en particulier de contribuer à l'adaptation de l'agriculture au changement climatique. En principe, ces stratégies ont été basées sur la sensibilisation l'utilisateur traditionnel du patrimoine génétique et de son rôle durable pouvant jouer dans l'alimentation et l'agriculture dans le futur. Par ailleurs, ces institutions ont aussi adopté des législations et des droits entretenant l'exploitation et l'accès aux ressources phyto-génétiques. En 2002, elles ont également opté pour la création d'une banque de gènes centrale pour la conservation *ex situ* de la diversité des ressources génétiques de toutes les espèces menacées, y compris le blé dur (RPGAA, 2007).

### a) Conservation des ressources phyto-génétiques

A la fin du XX<sup>ème</sup> siècle, les organisations internationales responsables de l'alimentation et de l'agriculture ont conscience de l'importance de ressources phytogénétiques et du danger de la perte de ces ressources dans le futur. Par conséquent, elles étaient proactives dans la prise de décision de mettre en place des stratégies et des plans d'action efficace permettant de conserver et d'utiliser durablement ces ressources, surtout les espèces cultivées y compris le blé dur. Ces plans ont consisté en principe en deux modes de conservations : la conservation des grains dans leurs habitats naturels (conservation *in situ*), et dans les banques de gènes (conservation *ex situ*).

### b) Conservation *in situ*

L'objectif principale de la conservation *in situ* est notamment de maintenir un système agricole générant une diversité génétique semblable à celles des systèmes naturels, non seulement de préserver un nombre limité des allèles ou de génotypes (Brush et Meng, 1998). Ce mode de conservation permet également de poursuivre l'évolution liée à l'exposition aux ravageurs, aux maladies et aux changements écosystémiques.

En général, la conservation *in situ* constitue une source régénérative de gènes de résistance pour les multiples types de stress, aussi bien que de gènes de qualité et de productivité dans un lieu donné. Elle est considérée comme une meilleure stratégie sauvegardant la pureté des ressources

phytogénétiques (Piergiovanni et Lioi, 2010), parce qu'elle permet de préserver d'une manière naturelle leur diversité et leur hétérogénéité dans leur écosystème (Negri *et al.*, 2009).

Entre autres espèces, le blé dur est l'une des espèces cultivées qui peuvent être utilisées en sélection par croisement. Pour cela, il a eu une importance particulière dans le programme de conservation *in situ*. Ceci a été établi par le support de l'institut international de biodiversité « Bioversity International » (ex -International Plant Genetic Resources Institute – IPGRI) dans un cadre de faire progresser la conservation et l'utilisation de la diversité génétique de cette espèce (IPGRI, 1994). Selon ce programme, outre le Maroc, huit pays ont également été sélectionnés comme des meilleurs écosystèmes de conservation *in situ de blé dur*, à savoir Burkina Faso, Ethiopie, la Hongrie, le Mexique, le Népal, le Pérou, la Turquie et le Vietnam (FAO, 1998).

Pour le Maroc, en plus du blé dur, trois autres espèces ont été mises en conservation *in situ* pour leurs différents modes de reproduction, d'utilisation et de niveau d'évolution, à savoir l'orge, la fève et la luzerne. Ensuite, ces initiatives ont également été appliquées à d'autres espèces cultivées (Birouk et Mellas, 2002; INRA, 2007).

### c) Conservation *ex situ*

La conservation *ex situ* des ressources phytogénétiques a été commencée au milieu du 20<sup>ème</sup> siècle en réaction à la disparition rapide de la biodiversité agricole de certaines plantes cultivées en raison du remplacement des variétés locales par des variétés modernes et des changements climatiques imprédictibles (Díez *et al.*, 2018). Son principe consiste de préserver les semences ou des parties des plantes dans des banques de gènes en dehors de leurs habitats naturels.

Contrairement à la conservation *in situ*, la conservation *ex situ* permet de maintenir la diversité génétique d'une espèce d'une manière statique, en gardant l'intégralité totale des semences tels que leur intégrité génétique et leur viabilité, de collecte jusqu'à l'utilisation. Cette stratégie de conservation se base notamment sur la désactivation du métabolisme par l'effet de l'abaissement du taux de l'humidité et l'entreposage aux basses températures : conservation à long terme (-20C°), conservation à moyenne durée (-4C°), ceci pour le cas de graines « Orthodoxe ». Pour la forme récalcitrante, 'les plantes qui ne produisent pas des graines', elle sauvegarde dans des banques de gènes aux champs « Field Gene Banks » (IPGRI, 2001).

Concernant les banques de gènes au monde, il existe 1750 banques de gènes et dont 130 possèdent plus de 100000 d'accessions. La plus célèbre banque est celle de 'Svalbard Global

Seeds Vault', au Norvège. Cette banque détient plus de 770 000 d'échantillons de différentes semences pour chaque 500 semences (NordGen, 2013). Selon Genesys PGR (2018), environ de 320 000 accessions de blé ont été détenues en collection dont 23% des accessions sont des races primitives et 7% des espèces sauvages. La plus grande collection de base d'espèces de *Triticum* est celle conservée par le Centre international de l'amélioration du blé et du maïs, CYMMYT, (20 779 accessions), suivi par la banque de gènes des Etats Unies de l'Amérique, USDA-ARS, (17 299 accessions), la banque de gènes de l'Australie (10 690 accessions), et le Centre international de recherche de l'agriculture dans les régions arides, ICARDA, (9 966 accessions).

Dans l'objectif de conserver et de restaurer les ressources génétiques locales, le Maroc a conclu des conventions avec les institutions internationales responsables de la conservation et l'utilisation des ressources phyto-génétiques pour l'alimentation et l'agriculture. Ces accords ont donné au Royaume une opportunité intéressante pour restaurer et sauvegarder les ressources génétiques qui ont été retirées pendant la période du protectorat, d'une part. Ils ont présenté au Maroc l'opportunité de participer aux différentes commissions des ressources phyto-génétiques et de s'intégrer au réseau des banques internationales de gènes, d'autre part. En réalité, cet engagement n'a été établi que par la contribution et la collaboration d'un ensemble des établissements universitaires et des centres de recherches, plus particulièrement l'existence d'une banque de gènes au Maroc. Depuis sa création en 2005, la banque de gènes de Settat a joué, et encore joue un rôle capital dans la création des relations et l'échange des semences avec les banques de gènes mondiales et les différentes institutions responsable de la conservation des ressources phyto-génétiques. Sa contribution s'apparaît dans le maintien, la gestion et le stockage plus de 69 000 accessions du genre *Triticum*, dont plus de 3000 entrées de blé dur.

### 3. Estimation de la diversité génétique des ressources génétiques

La diversité des ressources génétiques est une source génétique inestimable pour les programmes de sélection. Pourtant, le succès de tout programme de sélection végétale dépend de l'étude de la diversité génétique (Abinasa *et al.*, 2011). La diversité génétique est synonyme de la variabilité produite entre génotypes en termes de constitution génétique totale des individus liés à une espèce ou entre espèces, se définit comme une variation du nombre de caractères phénotypiques héréditaires, de gènes, de séquences d'ADN / ARN dans un pool de gènes d'une espèce ou d'une population (Bhadri *et al.*, 2017).

Les généticiens exploitant les ressources génétiques considèrent que l'analyse de la diversité génétique et le choix du type de marqueurs est une condition préalable au succès du programme de sélection ou de conservation durable (Bockelman *et al.*, 2010). L'analyse et l'estimation de la diversité génétique reposent généralement sur quatre types de marqueurs : les marqueurs morphologiques, physico-chimiques, biochimiques et moléculaires.

### a) Marqueurs morphologiques

Les sélectionneurs de plantes ont traditionnellement utilisé les descripteurs morphologiques pour décrire et classer les ressources génétiques des cultures. La caractérisation phénotypique est l'approche préliminaire utilisée pour l'estimation de la diversité génétique (Schut *et al.*, 1997). Il se base uniquement sur l'observation visuelle des caractères visibles, des traits qualitatifs et quantitatifs, comme par exemple les traits phénotypiques de la plante, de l'épi et du grain (densité, forme, attitude, taille, longueur, couleur etc ...). Par conséquent, leur utilité dans les programmes de sélection pour l'estimation de la variabilité génétique était facile et très utile.

De nombreuses études sur le blé dur ont adopté la caractérisation phénotypique comme première étape de base pour l'évaluation de la diversité génétique (Jain *et al.*, 1975 ; Pecetti *et al.*, 1992 ; Eticha *et al.*, 2005 ; Rawashdeh *et al.*, 2007 ; Al Khanjari *et al.*, 2008 ; Aghaee *et al.*, 2010 ; Hailu *et al.*, 2010 ; Sourour *et al.*, 2010 ; Chentoufi *et al.*, 2014 ; Sahri *et al.*, 2014 ; Mengistu *et al.*, 2015 ; Bellatreche, 2017 ; Iannucci et Codianni, 2019). Cependant, le temps de la collection des données et les superficies exploitées, le manque de la connaissance du contrôle génétique et l'effet de la variation environnementale rendent l'utilisation des marqueurs morphologiques plus limitée par rapport aux nouvelles méthodes de caractérisation.

### b) Marqueurs physico-chimiques

La caractérisation physico-chimique est une méthode largement utilisée pour estimer la variabilité génétique. Elle est basée sur l'étude de l'apparence physique et de la composition chimique du matériel génétique (Goutam *et al.*, 2013). Les marqueurs physico-chimiques, tels que la vitrosité et la brillance du grain, la morphométrie du grain, la teneur en protéines, pigments jaunes, fibres, amidon, polyphénoloxydase, et les teneurs en micronutriments (Ca, Zn, Fe, Cu, P, vitamines...), jouent un rôle important dans la classification variétale de blé dur. En effet, pour le cas du blé dur, la variation de ces marqueurs a été utilisée avec succès pour

l'évaluation de l'ampleur de la variabilité génétique dans plusieurs études (El Khayat *et al.*, 2006 ; Amallah *et al.*, 2016 ; Sourour, 2018 ; Ali *et al.*, 2020 ; Hernandez-espinoza *et al.*, 2020).

Cependant, ceux-ci ont des applications restrictives dans l'analyse de la diversité génétique en raison de leur coût et de leur expression qui est contrôlée par de multiples loci et affectée par des facteurs environnementaux.

### c) Marqueurs biochimiques

Les marqueurs biochimiques, généralement des isozymes ou des protéines de réserve, ont un pouvoir de discrimination plus élevé que les marqueurs physico-chimiques. Ils reflètent les produits des allèles (loci nucléaires) et non des gènes, sont neutres et peuvent être révélés dans différents stades de développement (Buth et Murphy, 1999 ; Bank *et al.*, 2001 ; Bhandari *et al.*, 2017), cela conduit à l'évitement des facteurs environnementaux influençant l'expression des gènes. De plus, ces marqueurs ne nécessitent qu'une plus petite quantité de tissu végétal comme échantillon. Par conséquent, par rapport aux marqueurs susmentionnés, ces avantages les rendent efficaces pour l'évaluation de la diversité entre les individus d'une population.

Les principales limites à l'utilisation de marqueurs dans la classification et l'identification variétales sont le nombre limité de locus (par exemple, le nombre de loci de gliadine et de gluténine est limité) et le manque d'informations sur les nouveaux allèles non catalogués.

### d) Marqueurs moléculaires

La caractérisation à l'aide des marqueurs moléculaire est une méthode plus efficace en comparaison avec les autres méthodes d'identification conventionnelles mentionnées. Elle implique l'étude de la variation parmi les génotypes au niveau de la molécule d'ADN et d'ARN (Bhandari *et al.*, 2017). Le secret de la réussite de l'utilisation et de l'application de cette approche dans l'estimation de la diversité génétique persiste dans la vitesse et la haute de précision de dépistage de la variabilité génétique entre les individus. Ce succès est réalisé grâce à l'avance de la biologie moléculaire, de l'optique physique, de la robotisation, de l'informatique, des progrès sur la connaissance des génomes et, bien évidemment, grâce à l'application des règles de l'appariement des bases d'ADN. Ces progrès technologiques ont permis de décrire le génotype des individus dans les premiers stades de croissance, en réduisant par conséquent les coûts du temps et les effets des facteurs environnementaux. Ces techniques avancées ont également permis d'identifier la différence entre les génotypes même en cas d'une substitution, délétion et addition d'un seul nucléotide, ainsi que de dévoiler les loci impliqués

dans les traits complexes par la cartographie génétiques des espèces (contrôlés par plusieurs gènes).

### E. Principales exigences de la qualité au marché de blé dur

Les critères et les exigences de la qualité des produits issus de la farine du grain de blé dur sont généralement fixés selon leurs utilisations.

En effet, les grains de blé dur sont généralement destinés à la fabrication des pâtes alimentaires, du pain, et du couscous et des mets régionaux (Harcha, Msamen, Burghul et Freak ... etc.). La qualité de ces produits dépend principalement de la couleur et de l'apparence du produit fini et de la tenue à la cuisson, qui à son tour sont liées à de nombreux caractéristiques physiques, physicochimique, chimiques et biochimiques, en plus de certaines méthodes de procédures qui doivent être suivies pendant le processus de transformation. Par exemple, la couleur jaune de produit finis s'associe essentiellement à la teneur des pigment jaunes et l'impact de l'activité enzymatique de certaines enzymes (lipoxygénase, peroxydase...), plus particulièrement l'impact sur la teneur en caroténoïdes. D'autre part, la qualité de cuisson dépend essentiellement d'un critère important qui est celui de la teneur en protéines (taux du gluten), notamment leurs propriétés fonctionnelles de l'élasticité et l'extensibilité lors de la pâte (Liu *et al.*, 1996 ; Sissons, 2008). Par conséquent, la teneur en pigment jaunes et en protéines, il serait important de les prendre en considération comme des critère importants pour l'évaluation de la qualité pendant les différentes phases de production.

Outre les caractéristiques technologiques et nutritionnelles, il existe également des exigences liées à certains paramètres ayant un effet direct sur la commercialisation de blé dur et leur destination, tels que la forme du grain, le poids de mille grains, le poids spécifique, la pureté des lots (variétés homogènes), et l'absence des impuretés. Par conséquent, la prise en compte de ces critères serait utile pour répondre aux demandes des utilisateurs et augmenter la valeur du blé dur sur le marché (Kehel *et al.*, 2020).

Ainsi, pour répondre aux attentes des consommateurs de semences de blé dur, il est nécessaire de connaître les acteurs de la filière et leurs exigences, c'est ce qui a été signalé dans l'étude de Troccoli *et al* (2000), qui a détaillé les principaux aspects de la qualité pour les différentes catégories de personnes impliquées dans le secteur d'utilisation et de transformation du blé dur (le tableau 2). Cette étude pourrait également permettre aux unités chargées de la sélection et du développement de nouvelles variétés de demeurer toujours au fait de l'évolution permanente

des normes de qualité, répondant ainsi en permanence aux demandes des agriculteurs et du marché du blé dur.

Tableau 2: Principales exigences de la qualité de blé dur pour les différentes catégories de personnes du marché (Troccoli *et al.*, 2000).

Entreprises de semences	Marchands de grains	Agriculteur	Industries de la minoterie	Industries de pâtes	Consomateur
Pureté variétale	Fourniture / sécurité standard et la santé	Rendement	Rendement en semoules	Teneur en protéines	Qualité de cuisson
Germination	Taux en protéines	Rendement en grains et la stabilité	Teneur en cendres	Qualité du gluten	Aspect visuel
	Poids spécifique		Unifomité des grains	Granulation et granulométrie de la semoule	Norme qualitative du produit de pâtes
	Humidité du grain		Poids spécifique Humidité du grain Impureté	Indice jaune	Bon rapport qualité / prix

## F. Histologie et composition chimique du grain de blé

### 1. Grain de blé

Dans la plante de blé dur, au niveau de l'épi, plus précisément entre glumes et glumelles, il y a un fruit sec s'appelle le grain (Figure 7). Ce grain est en effet un caryopse composé d'un embryon séparé de l'endosperme féculent et des cellules d'aleurone par le scutellum (Mehdi *et al.*, 2019). Ce fruit a généralement une structure ovoïdale, et sur sa partie ventrale existe un sillon. Il possède un poids qui oscille à peu près 20 et 50 mg, avec une épaisseur et une longueur variant respectivement de 2,5 à 3,5 mm et de 5 à 7mm (Surget et Barron, 2005). Alors que la couleur de ce caryopse varie fréquemment de la couleur rousse à la couleur blanche (Brouns *et al.*, 2012).

Pour mieux exploiter le grain de blé dur et répondre aux exigences des utilisateurs, il est d'abord nécessaire de connaître et d'étudier sa composition histologique, ainsi que la répartition des nutriments pour chaque type de tissus (Figure 7). D'une manière globale, comme le grain de blé tendre, un grain de blé dur est composé de trois types de tissus : l'endosperme amylicé, le germe, l'enveloppe.



### a) Endosperme

L'endosperme ou Albumen, ce type de tissu représente 81 à 84% de poids du grain, sa couleur jaune détermine la couleur d'orée pour les pâtes et les semoules (Brouns *et al.*, 2012; Lachman *et al.*, 2017). Il est aussi responsable du stockage d'énergie nécessaire à la germination. Ce tissu est formé de deux types de couches : Albumen et Aleurone (Figure 7). Concernant sa composition micro-nutritionnelle, il est caractérisé par des concentrations moyennes en protéines, fibres solubles, et caroténoïdes, et des fortes concentrations en amidon (Hemery *et al.*, 2007; Lachman *et al.*, 2017).

### b) Germe

Le tissu du germe présente 6 à 9% de la masse totale du grain (Brouns *et al.*, 2012). Il contient deux parties : l'axe embryonnaire et scutellum (Figure 7). Par ailleurs, la composition chimique d'un germe est majoritairement composée par des lipides, des stérols végétaux, et des concentrations moyennes en fibres insolubles, en vitamines (B et E), et en minéraux.

### c) Enveloppe

L'enveloppe ou bien les tissus périphériques, 14% de la masse du grain est présenté par les enveloppes (Brouns *et al.*, 2012). Chaque enveloppe est formée par 5 couches de tissu à savoir : Aleurone, épiderme à nucelle, Testa, Péricarpe (inter et externe) (Figure 7). Alors que la composition chimique pour ce tissu périphérique est composée principalement par les fibres solubles et quelques types de minéraux et flavonoïdes (Hemery *et al.*, 2007; Lachman *et al.*, 2017). De plus, ce tissu, grâce à ses rôles structurels et fonctionnels, se compte comme un compartiment important et essentiel dans les cellules céréalières (Mehdi *et al.*, 2019).

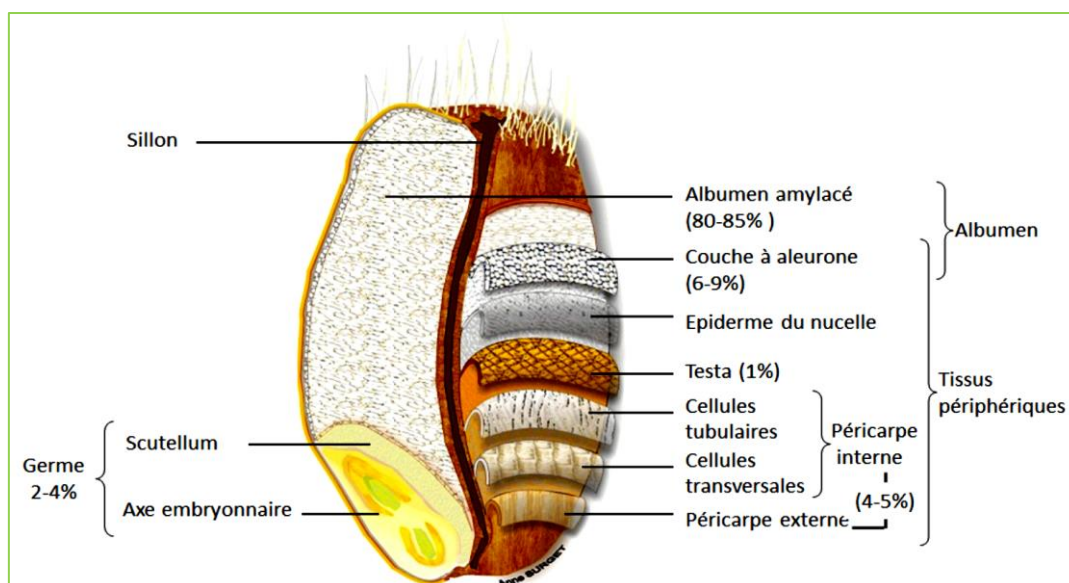


Figure 7: Schéma histologique d'un grain de blé (Surget et Barron, 2005).

## 2. Composition chimique du grain de blé

Les grains de blé sont essentiellement composés par de carbohydrates (65-75% de l'amidon), de protéines (7-12%), de l'eau (12-14%), de lipides (2-6%) et de micro-nutriments, ainsi que de certains composés phytochimiques (Pomeranz, 1988 ; Lachman *et al.*, 2017). Ces composées ont des impacts considérables sur la qualité et la couleur des produits finis, par exemple l'amidon et les protéines affectent la propriété physico-chimique de la pâte et de la cuisson, alors que les composés phytochimiques influencent la couleur des grains (Lachman *et al.*, 2017). Ainsi, l'étude de la composition chimique des grains et leur effet sur la qualité sera bénéfique lors de l'utilisation.

### a) Amidon

Les grains de blé emmagasinent l'énergie sous forme d'amidon. Cette molécule Native, est un polymère de glucose, se trouve généralement sous forme de granules cimentées par des protéines dans l'endosperme (Šramková *et al.*, 2009). Il y'a deux types de polymères : amylose (20 à 30%) et amylopectine (70 à 80%) (Rodriguez-Quijano *et al.*, 2004; Šramková *et al.*, 2009). Et, la structure de l'amylose est linéaire et de l'amylopectine est ramifiée, alors que le rapport entre l'amylose et l'amylopectine est à peu près constant, environ de 23 (Šramková *et al.*, 2009).

Concernant les propriétés physico-chimiques de la pâte, la molécule de l'amidon se trouve couramment sous deux formes, amidon endommagé et natif, dont chacune a un effet différent. En particulier, l'amidon endommagé a plus d'influence sur la fermentation et la qualité de la

pâte car il absorbe plus d'eau que l'amidon natif (Tacer-Caba *et al.*, 2015). La farine contenant l'amidon endommagé en petites quantités serait alors plus préférable pour la fabrication de pâtes en égard de son effet positif (Tacer-Caba *et al.*, 2015).

#### b) Pigments jaunes

Au cours des dernières décennies, les pigments jaunes ont toujours plus d'intérêt aux programmes de sélection du blé dur en raison de leur forte association avec la couleur jaune attrayante de la semoule, du couscous et des pâtes (Elouafi *et al.*, 2001; Fu *et al.*, 2017).

Globalement, les pigments jaunes de la farine et de la semoule blé dur se présentent comme l'une des meilleures molécules de base qui ont un pouvoir anti-oxydants important pour la population, l'une des sources capitales des constituants responsables de la couleur jaune des semoules et des pâtes. La classe la plus abondante des pigments jaunes de l'endosperme sont les caroténoïdes (Cenci *et al.*, 2004; Ramachandran *et al.*, 2010). Les concentrations totales en cette composante varient généralement de 1,63 à 4,90 mg/kg (moyenne de 2,26 mg/kg), en un grain blé dur allant de 2,69 à 8,38 mg/kg (moyenne de 3,58 mg/kg), et pour un grain blé tendre allant de 1,40 à 4,90 mg/kg (moyenne de 2,36 mg/kg). De plus, les principaux caroténoïdes sont les Lutein et les Zeaxanthin (Hentschel *et al.*, 2002), et sont connues par leurs activités antioxydantes en raison de leurs capacités à piéger les radicaux pyroxyles lipidiques, les espèces d'oxygène singulet, et les états d'énergies triplets.

A cause de son association avec la couleur des produits finis, l'activité antioxydante et la prévention de la dégénérescence maculaire, les pigments jaunes sont devenus un des critères chimiques les plus exigeants dans le secteur des industries de la semoule et des pâtes en raison de son appel par les consommateurs pour leurs avantages en matière de cuisson et de santé (Abdel-Aal *et al.*, 2007; Sissons, 2008 ; Ramachandran *et al.*, 2010), et, partant, leur évaluation, surtout celle des caroténoïdes de l'endosperme, se considère comme un test chimique déterminant de qualité du blé dur (Brandolini *et al.*, 2008 ; Beleggia *et al.*, 2011; Lachman *et al.*, 2017). Cependant, la qualité du grain ne se lie pas seulement à la teneur des pigments jaunes mais dépend également d'autres paramètres, tels que le processus de transformation, la teneur en caroténoïdes, les enzymes affectant le degré de la couleur jaune comme lipoxygénase (Ramachandran *et al.*, 2010). La lipoxygénase oxyde les pigments jaunes de semoule lors de la fabrication des pâtes. Une faible activité lipoxygénasique est plus importante qu'une forte teneur en pigment jaune à grain pour conserver la couleur jaune des pâtes (Siedow, 1991 ;

Carrera *et al.*, 2007). De plus de cela, la synthèse des pigments jaunes est influencée par le contrôle des gènes additifs et par les variations environnementales (Elouafi *et al.*, 2001).

### c) Protéines

A nos jours, la demande en protéines est approximativement de 202 millions de tonnes, mais elle n'est disponible que pour environ 7,5 milliards de personnes (Alzuwaid *et al.*, 2020). Compte tenu de leur importance en tant que source de nourriture pour la population mondiale, les protéines céréalieres figurent parmi les principaux objectifs des programmes d'amélioration et de lutte contre la faim pour une population qui va presque doubler de 2020 à 2050. De ce fait, ces programmes ont multiplié leurs efforts pour prévenir des futurs problèmes de la nutrition riche en protéines par le fait d'élargir les études sur l'évaluation et l'amélioration de la teneur et la qualité nutritionnelle des protéines.

Les marqueurs biochimiques tel que les protéines sont utilisés comme moyen efficace d'identification et de caractérisation variétale du blé. En effet, les profils de protéines obtenus par électrophorèse ont été utilisés avec succès pour résoudre les problèmes de parentés (Nieto-Taladriz *et al.*, 1997; Peña *et al.*, 2004). Parmi les techniques biochimiques, l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide, en condition dénaturante (SDS-PAGE) ou à faible pH (A-PAGE), est la plus largement utilisée en raison de sa validité et de sa simplicité pour décrire la structure génétique du germoplasme de culture. La SDS-PAGE et A-PAGE sont considérées comme des méthodes pratiquement fiables car les protéines de réserve sont largement indépendantes des fluctuations environnementales.

Les protéines de blé dur ont une grande variation inter-génotypique et ont été utilisées comme marqueur dans la structuration, l'identification des variétés locales et des cultivars, les études de diversité génétique, et dans la détermination des origines phylogéniques (Payne *et al.*, 1981 ; Aguiriano *et al.*, 2006 ; Ganeva *et al.*, 2010 ; Hamdi *et al.*, 2010 ; Bellil *et al.*, 2012; Henkrar *et al.*, 2017; Hernández-Espinosa *et al.*, 2019 ; Chacón *et al.*, 2020).

Les protéines de blé dur ont un effet remarquable sur la sélection variétale car elles sont responsables de la validation de la capacité de la farine d'un blé à être transformée en différents aliments ou pas (Žilić *et al.*, 2011). Donc, l'étude de leurs compositions chimiques et leurs influences sur la qualité est essentielle.

Ces protéines sont classées, en fonction de leur solubilité, en deux groupes : les protéines métaboliques (les globulines et les albumines) et les protéines de réserves (les gliadines et les gluténines) (Osborne, 1907).

### (1) Protéines fonctionnelles

Les protéines fonctionnelles contribuent à la formation du grain et à l'accumulation des réserves dans l'albumen (Vensel *et al.*, 2005). Elles représentent à peu près de 20% à 25% des protéines totale du grain de blé (Žilić *et al.*, 2011). La plupart de ces protéines représentent les enzymes impliquées dans le métabolisme du grain, dont leurs fonctions ne sont pas encore suffisamment détaillées et bien connues (Singh *et al.*, 2001 ; Žilić *et al.*, 2011). Aussi, elles ont le pouvoir d'influencer le traitement et les propriétés rhéologiques (Žilić *et al.*, 2011).

### (2) Protéines de réserves

Les protéines de réserves, essentiellement le Gluten, sont les principaux composés protéiques de l'endosperme des grains d'une part, et sont l'un des facteurs les plus importants pour déterminer la qualité boulangère des farines de blé, d'autre part. Ces prolamines sont divisées en deux groupes : les gliadines et les gluténines, représentent 60 à 80% de la teneur totale des protéines (Bancel *et al.*, 2019).

#### (a) Gliadines

Les gliadines sont la deuxième classe des protéines du gluten du point de vue du taux, et qui sont codés par Gli-1 sur le chromosome 1 et Gli-2 sur le chromosome 6 (Skerritt, 1998). Selon leur mobilité sur le gel acide de polyacrylamide de faible pH, les gliadines ont été classées en quatre types :  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$  et  $\Omega$  (Ruiz *et al.*, 2018).

Sur les gels, la plupart des blés dur se distingue habituellement par la présence des bandes 45 $\gamma$  ou bien 42 $\gamma$ , et les bandes de type  $\gamma$  en petite quantité (Oak et Dexter, 2006; Sissons, 2008). Les bandes 45 et 42 ont donné l'apparition de deux groupes de blé dur : le groupe 1 qui se caractérise couramment par une faible force du gluten et de qualité culinaire médiocre (la présence de la bande 42, l'absence de la bande 45), tandis que le groupe 2 se marque par une forte force du gluten et de la qualité culinaire considérable (la présence de la bande 45 et l'absence de la bande de 42) (Damidaux *et al.*, 1978 ; Kosmolak *et al.*, 1980 ; Galterio *et al.*, 1993 ; Chacón *et al.*, 2020). En effet, ces marqueurs ont été utilisés comme des marqueurs de qualité culinaire et de la force du gluten en raison de leur liaison génétique avec les gluténines de faibles poids

moléculaires (Payne *et al.*, 1982). C'est pour cela que la qualité de la semoule du blé dur est liée en grande partie avec les sous-unités de gluténines et non seulement de celles des gliadines (Payne *et al.*, 1982; Pogna *et al.*, 1990; Ruiz et Carrillo, 1995, 1996). Par conséquent leur usage dans la détermination de la qualité peut aussi être utile à côté des gluténines, mais juste comme des marqueurs secondaires ou bien un complément pour l'identification.

### (b) Gluténines

La gluténine est un élément clé dans la détermination de la qualité du blé dur à travers sa contribution à la qualité de la panification, plus particulièrement en apportant la force et l'élasticité du gluten lors du mélange et de la levée de la pâte (Du Cros, 1987; Nazco *et al.*, 2014).

Ce type de protéines est composée par un ensemble des allèles spécifiques. Et à chaque locus, des allèles ont été identifiés, qui diffèrent par leur contribution à la qualité panifiable. Par conséquent, l'étude de la variation allélique de la gluténine est particulièrement importante lors de la sélection.

Selon leurs mobilités sur un gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes (SDS-PAGE) et leurs poids moléculaires, les gluténines sont subdivisées en deux classes : sous-unités de haut poids moléculaire (HMW-Gs ;70-90kDa) et sous-unités de faible poids moléculaire (LMW-Gs ; 20-40kDa).

#### (i) Sous unités gluténines de haut poids moléculaire

Sur une électrophorèse, les bandes des sous unités gluténines de haut poids moléculaire (HMW-Gs) se caractérisent par une mobilité inférieure à celles de sous unités de faible poids moléculaire (LMW-Gs) en raison de leurs poids. Pour le blé dur, le polymorphisme de HMW-Gs est contrôlé par des loci situés sur le bras long des chromosomes homologues du groupe 1 (1A et 1B), nommés locus *Glu-A1* et *Glu-B1* (Payne *et al.*, 1982).

Concernant le système de nomenclature pour les profils de bandes de prolamine, la figure 8 représente les différents types de bandes et d'allèles standards de sous unités de haut poids moléculaire qu'on peut trouver. En plus, McIntosh et son équipe publient de temps en temps des nouveaux catalogues permettant d'identifier les nouvelles bandes et d'allèles. Malgré l'existence de ces outils de nomenclatures, le nombre des allèles au niveau des loci de

HMWGs augmente en parallèle avec l'étude de nouveaux génotypes. Donc la nomenclature de nouvelles sous unités est encore possible.

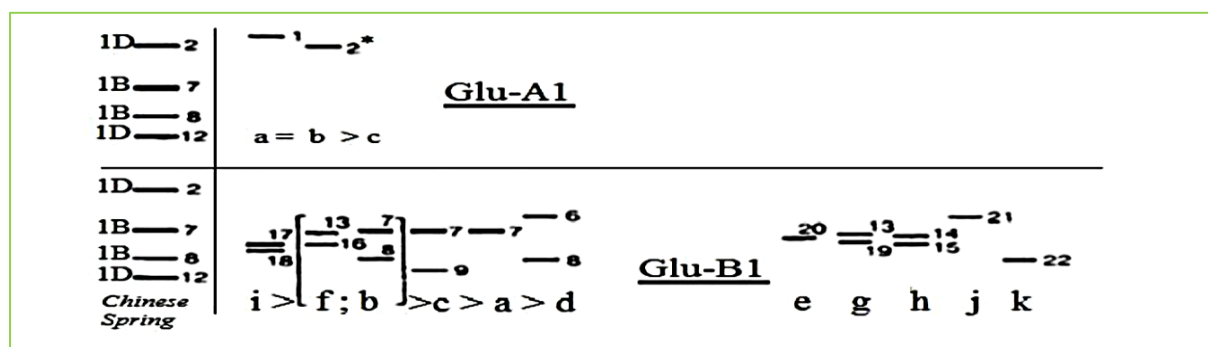


Figure 8: Différentes types de bandes et d'allèles des sous unités gluténines de hauts poids moléculaire (Payne et Lawrence, 1983).

(ii) Sous unités gluténines de faible poids moléculaire

Les sous-unités de faible poids moléculaire représentent environ de 60 à 80% des sous-unités totales de la protéine gluténique (LMW-Gs) (Oak et Dexter, 2006). Selon leurs mobilités sur le gel, les LMW-Gs sont assemblées en trois types de sous unités ; *B*, *C*, et *D* (Jackson *et al.*, 1983; Long *et al.*, 2005). Parmi ces trois classes, les sous-unités *B* ont été les seuls marqueurs utilisés pour l'étude de la diversité génétique et la détermination de la qualité du gluten (Pogna *et al.*, 1990 ; Ruiz et Carrillo, 1995 ; Nieto-Taladriz *et al.*, 1997).

Concernant l'emplacement génétique, les loci de B-LMW-Gs sont localisés au court bras du même chromosome de HMW-Gs (Nieto-Taladriz *et al.*, 1997), nommés par *Glu-A3* et *Glu-B3*, respectivement (Nieto-Taladriz *et al.*, 1997). Ruiz et Carrillo, 1993 ont identifié deux autres loci tels que le locus *Glu-B2* et *Glu-B4*. Chacun de ces loci ont montré un certain nombre des allèles standards, par exemple huit allèles pour le locus *Glu-A3*, neuf allèles pour le locus *Glu-B3*, et deux allèles pour le locus *Glu-B2* (Figure 9).

D'autre part, la combinaison des sous unités de faible poids moléculaire de type B ont donné la naissance des modèles de LMW. Payne *et al* (1984) ont identifié les modèles LMW-1 et LMW-2 selon, et Carrillo *et al* (1990) ont découvert les modèles LMW-1<sup>-</sup>, LMW-2<sup>-</sup> et LMW-2<sup>\*</sup>. Les modèles LMW-1 et LMW-1<sup>-</sup> sont liés à une mauvaise qualité, tandis que LMW-2 et LMW-2<sup>-</sup> sont toujours associés à une bonne qualité (Carrillo *et al.*, 1990; Pogna *et al.*, 1990).

En effet, l'identification des allèles, des bandes et des modèles de LMW-Gs est une étape clé pour l'évaluation et la détermination de l'importance de la diversité allélique au sein d'une collection de génotypes, surtout les collections locales puisqu'elles contiennent de nouvelles

combinaisons alléliques (Ruiz *et al.*, 2018). De ce fait, les dernières études ont orienté leurs objectifs vers la valorisation et l'exploration des ressources génétiques locales en déterminant la variabilité allélique en ces protéines et en étudiant l'association des nouveaux allèles avec la qualité du gluten ou avec les paramètres de qualité tels que les tests de l'élasticité et l'extensibilité (Nazco *et al.*, 2014 ; Goel *et al.*, 2018 ; Hu *et al.*, 2018 ; Alvarez et Guzmán, 2019 ; Hernández-Espinosa *et al.*, 2019 ; Chacón *et al.*, 2020 ; Dreisigacker *et al.*, 2020).

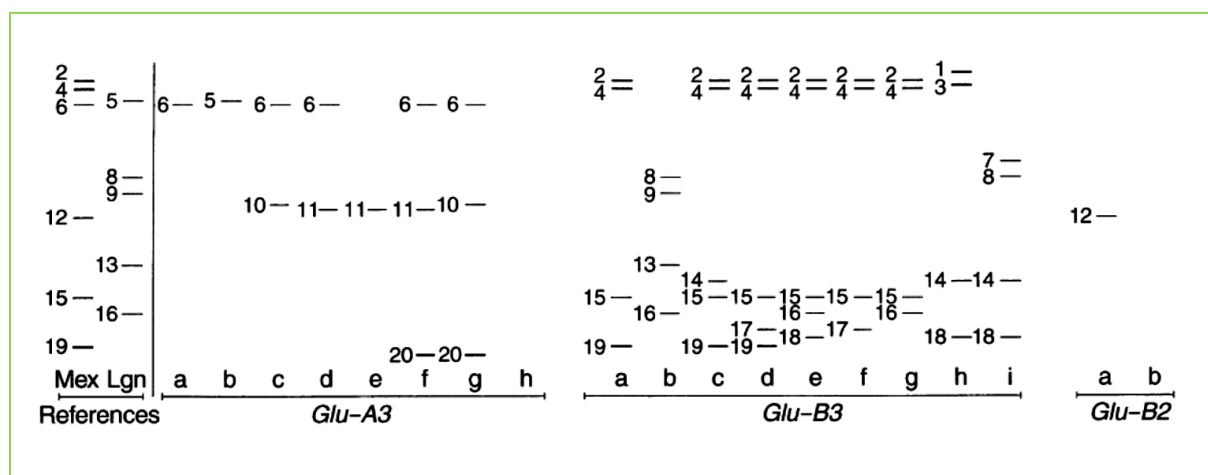


Figure 9: Diagramme montrant les sous unités gluténines de faible poids moléculaire de type B (les loci *Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-B2*) pour la variété Mexicali (Mex) et Langdon (Lgn). Les lettres désignent les allèles à chaque locus, alors que les chiffres indiquent les sous unités à chaque ligne de profils (Nieto-Taladriz *et al.*, 1997).

#### d) Polyphénols oxydases

Dans les plantes, le brunissement des fruits post-matures est généralement lié à la réaction enzymatique de l'enzyme polyphénol oxydase. Cette couleur apparaît souvent chez les fruits qui se réchauffent pendant le processus de leur utilisation ou qui ont une durée de conservation longue. Par conséquent, l'évaluation de cet enzyme au niveau des fruits serait bénéfique pour la sélection, notamment pour les fruits dont leurs consommateurs n'aiment pas la coloration brune, tels que le blé dur (Simeone *et al.*, 2002).

Pour le blé, les PPO sont principalement localisées dans le son et plus précisément dans la couche d'aleurone externe du grain (Taranto *et al.*, 2017 ; Salaria *et al.*, 2018). Elles sont des métalloenzymes contenant du cuivre, qui sont produites dans le noyau, puis transférées via des plastides vers la couche externe (Anderson et Morris, 2003).

Les PPO oxydent les phénols en quinones produisant des pigments noirs et bruns (Colasuonno *et al.*, 2019). Par conséquent, au cours de la sélection variétale, la réduction ou l'élimination du



brunissement à base de l'activité de la polyphénol oxydase (*PPO*) est devenue un critère critique pour l'amélioration de la transformation et de la qualité d'utilisation finale des produits à base de blé. Pour cette raison les transformateurs de grains de blé préfèrent la semoule claire et jaune vif produisant un produit final de haute qualité et de prix élevé dans le marché national et international (Salaria *et al.*, 2018). Surtout pour le cas de blé dur parce qu'il est le type de céréales le plus sensible pendant le processus de transformation, et aussi le plus utilisé pour fabriquer les produits de durée de conservation longue, à savoir les semoules, les pains, les biscuits, les pâtes et d'autres produits.

### G. Marquage moléculaire et la sélection

La découverte et le développement des marqueurs moléculaire a induit des changements remarquables sur plusieurs spécialités de la biologie, notamment la biologie moléculaire (clonage positionnel), la génétique évolutive (cartographie comparative), la génétique quantitative (détection et identification des locus contrôlant les caractères quantitatifs (QTL)) et l'amélioration des espèces (sélection assistée par marqueurs) (Najimi *et al.*, 2003).

En général, les marqueurs conventionnels étudiant le polymorphisme phénotypique et biochimique avaient depuis longtemps une bonne appréciation de chercheurs de l'amélioration génétique. Cependant, avec la découverte de la biologie moléculaire et l'émergence de nouvelles technologies de génotypage et de séquençage, les chercheurs des années du siècle précédent ont remarqué que leur utilisation est limitée en raison de la découverte des effets pléiotropes et de facteurs environnementaux incontrôlés lors de l'expression du phénotype. Par suite, ils ont proposé de remplacer ces marqueurs traditionnels par des marqueurs moléculaires comme outil efficace d'aide à la sélection des plantes, présentant les caractères désirables. Et, la majorité de ces caractères souhaitables étaient des traits de résistance, de rendement et de qualité.

Selon Jiang (2013), la sélection moléculaire ou sélection à l'aide des marqueurs moléculaires peut généralement être définie comme l'utilisation de la manipulation génétique effectuée au niveau de la molécule d'ADN pour améliorer les caractères d'intérêt chez les plantes et les animaux, y compris le génie génétique ou la manipulation de gènes, la sélection assistée par marqueurs moléculaires, la sélection génomique, etc. En effet, le principe de ce genre de sélection est basé sur l'application des biotechnologies moléculaires, en particulier les marqueurs moléculaires, en combinaison avec des cartes de liaison ou génomiques, pour altérer ou améliorer les caractéristiques des plantes ou des animaux sur la base des tests génotypiques.

### 1. Marqueur moléculaire

Le plus souvent, les marqueurs moléculaires sont des fragments d'ADN associés à une région particulière sur le génome (locus). Ces marqueurs servent à la révélation d'une variation ou une mutation qui peut, par la suite, être utilisé pour détecter le polymorphisme entre différents génotypes ou allèles d'un gène pour une séquence particulière d'ADN dans une population ou un pool génétique (Jiang, 2013). Ces fragments peuvent prendre deux formes, des fragments de courtes séquences d'ADN (un simple nucléotide) et des fragments de longues séquences d'ADN.

A nos jours, les techniques de marquage moléculaire sont classées en quatre catégories (Najimi *et al.*, 2003, Jiang, 2013, et Tian *et al.*, 2015):

- Les marqueurs fondés sur l'application des enzymes de restrictions, la méthode d'hybridation de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et de VNTR (Variable Number Tandem Repeat).

- Les marqueurs fondés sur l'amplification par l'enzyme de polymérase, la méthode de PCR (Polymerase Chain Reaction), comprenant RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), SCAR (Sequence Characterized Amplified Region), microsatellites ou SSR (SIMPLE Sequence Repeat), STS (Sequence Tagged Site), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), de SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism), et TRAP (Target Region Amplified Polymorphism).

- Les marqueurs fondés sur l'application des enzymes de restriction et l'intégration de PCR, comprenant AFLP (Amplified fragments Length Polymorphism), et DArt (Diversity Array Technologie), CAPS (Cleaved amplified polymorphic Sequence), et KASP (Kompetitive Allele Specific PCR).

- Les marqueurs fondés sur le polymorphisme d'un seul nucléotide, à savoir les SNPs.

Pour la sélection des blés, les marqueurs moléculaires se sont révélés utiles dans les programmes de sélection en facilitant la sélection et en réduisant le temps et les coûts traditionnellement associés à des vastes efforts de phénotypage. Leurs avantages se manifestent en particulier sur le criblage rapide de grands nombres de plantes dès le stade de jeunes plantules et ne nécessitent pas l'observation du phénotype (Young, 1999). Ils permettent donc d'étudier directement le génome et non pas l'expression du phénotype (protéines, enzymes, amidon, les pigments

jaunes, la couleur du grain ...etc.) qui peut être influencée par les variations environnementales (Liu *et al.*, 1996).

## 2. Polymorphisme d'un seul nucléotide

Le polymorphisme d'un seul nucléotide, aussi appelé le polymorphisme mono-nucléotidique (Single Nucléotide Polymorphisme ; SNP), est une technique qui permet de détecter à haut débit les changements nucléotidiques d'une séquence d'ADN, même en cas d'une délétion, une addition ou une substitution d'un simple nucléotide pour une paire de base. Ces avantages les rendent aujourd'hui plus pratiques dans les programmes de sélection.

Concernant leur application, les SNPs sont utilisés pour évaluer la diversité génétique, la structure ou la phylogénie de la population, la parenté familiale et les associations chez un individu ou une espèce donnée de la même descendance (Hu *et al.*, 2015).

Dans le cas des plantes, leur utilisation a englobé plusieurs applications d'amélioration, tels que l'amélioration de la qualité, le rendement et la résistance, ainsi chez plusieurs espèces de plantes, tels que *Arabidopsis* (Cho *et al.*, 1999 ; Schmid, 2003), le riz (Nasu, 2002 ; Feltus, 2004), le Soja (Choi *et al.*, 2007; Hyten *et al.*, 2009), et l'orge (Kota *et al.*, 2008 ; Close *et al.*, 2009). Mais leur utilisation pour les blés était limitée à cause de la complexité de la polyploïdie du génome, et de la diversité des génomes homologues, comme le cas par exemple le génome d'hexaploïdies (AA BB DD) (Edwards *et al.*, 2009). Mais grâce au séquençage comparatif et à l'avènement de certaines techniques biotechnologiques éprouvées et avancées pour la génération d'amorces spécifiques pour les gènes d'intérêt, l'utilisation des SNP dans la sélection assistée moléculaire et dans la détection de la diversité génétique a bien évolué dans les programmes de sélection du blé. Par exemple, dans une étude, Wang *et al.* (2014) ont surmonté ce défi de limitation, en développant et en validant 46 977 SNP à partir de 90000 SNP putatifs au blé hexaploïde et tétraploïde via une plate-forme basée sur un tableau.

Avec leur disponibilité et grâce à l'analyse de l'association marqueur-trait et d'autres analyses étudiant les liens entre la variation phénotypique et génétique, les SNPs sont devenus l'un des meilleurs marqueurs utilisés pour la détermination de la diversité génétique et dans la sélection assistée par marqueur moléculaire. Où multiples études ont récemment focalisé leurs objectifs à des fins de cartographier et d'élargir une base de données des marqueurs de type SNP associés à des caractères spécifiques de blé, qui peut faciliter la détection du polymorphisme, et par conséquent la sélection. Et, ces objectifs incluent les caractères les plus employés dans les programmes d'amélioration et de sélection de blé, à savoir les caractères liés au poids de mille

grains, à la dureté et la texture et la morphométrie du grain (Ali *et al.*, 2020 ; Shokat *et al.*, 2020 ; Sun *et al.*, 2020), aux protéines de stockages contrôlant les aspects de la qualité de la mouture et de cuisson ( Zhang *et al.*, 2003 ; Ravel *et al.*, 2006, 2009 ; Dreisigacker *et al.*, 2020), l'amidon (Saito *et al.*, 2009 ; Guzmán *et al.*, 2015), à la couleur des grains (Elouafi *et al.*, 2001; He *et al.*, 2008, 2009).

### 3. Site marqué par une séquence

Développé par Olson *et al* (1989), ce type de marqueurs est basée sur l'amplification par PCR d'une séquence relativement courte de 200 à 500 pb, qui peut être détectée en présence des séquences génomique de références, d'une manière reproductible sur le gel d'acrylamide ou d'agarose. Ils sont aussi des marqueurs dans la plupart des cas codominants.

Un STS est fabriqué à partir d'ADN génomique cloné au hasard, et les séquences des clones générés sont ensuite utilisées pour concevoir des amorces de PCR qui les amplifieront de manière anonyme. Donc, toute séquence d'ADN unique dans le génome peut être utilisée pour développer STS.

Quant à leur application, les STS ont été largement utilisés dans les programmes de sélection végétale. En fait, comme les autres marqueurs moléculaires, dans la plupart des cas, leur utilisation et leur application dans le blé dur découlent de leur développement dans le blé hexaploïde (Maccaferri *et al.*, 2015). Pour le blé, le développement et l'application de ce type de marqueur ont connu plusieurs domaines d'amélioration tels que l'établissement de la cartographie génomique, la détection du polymorphisme et l'utilisation dans la sélection assistée moléculaire, ainsi que leur exploitation dans le développement d'une nouvelle génération des marqueurs (Dreisigacker *et al.*, 2020). Par exemple, il existe les marqueurs STS développés pour les loci contrôlant la qualité de la farine et de l'amidon, les sous-unités de la gluténine, l'activité lipoxigénase, l'activité polyphénol oxydase (McLauchlan *et al.*, 2001 ; Sun *et al.*, 2005 ; Carrera *et al.*, 2007 ; Saito *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2010 ; Dreisigacker *et al.*, 2020). Cependant, malgré leur grande utilisation et leur vaste évolution, leur application semble plus coûteuse par rapport aux marqueurs SNP car ce dernier se distingue par sa disponibilité dans le génome, sa nature biallélique et sa facilité d'accès et d'utilisation dans les systèmes d'automatisation.

4. Locus d'un trait quantitatif et la cartographie par analyse d'association :
  - a) Locus d'un trait quantitatif (quantitative trait locus ; QTL)

L'analyse par QTLs est une méthode statistique qui permet de lier deux types d'information : les résultats des traits phénotypiques (caractères mesurables) avec des données génotypiques (souvent des marqueurs moléculaires), dans le but d'expliquer la base génétique de la variation des traits complexes.

- b) Détection et la cartographie d'un locus de caractères qualitatifs

La détection des QTLs se fait par trois méthodes, l'analyse par simple marqueur (uni-marqueur) ; l'analyse par intervalle ; la cartographie à traits multiples et l'analyse par intervalle composite. Toutes ces approches ont des intérêts communs, qui sont la détermination du nombre des locus en cause, leur position sur le génome, et leurs effets additifs (Roldan, 2011).

Plusieurs caractères d'intérêts sont, dans la majeure partie des cas, encodés par des multiples loci, connus en tant que des traits quantitatifs, polygéniques, multifactoriels ou complexes (Collard et Mackill, 2008), et influencés par les facteurs environnementaux. Ce qui induit une variation quantitative importante.

L'étude de la variation génétique des caractères complexes (quantitatifs) au sein d'une population se réalise fréquemment par l'approche de la cartographie des QTLs. Plus souvent, l'identification de l'emplacement des QTLs sur le chromosome s'effectue dans deux types de populations : population apparentée (croisement de deux parents) et non-apparentée. Pour la population apparentée ou traditionnelle, la détermination des QTLs est très simple à s'effectuer, notamment chez les populations de type F<sub>2</sub>, back cross, lignées recombinées, et double haploïdes (Huang et Brûlé-Babel, 2012; Muluaem et Bekeko, 2016). En revanche, la cartographie des QTLs par l'analyse d'association ne nécessite pas une population bi-parentale mais utilise ainsi des populations naturelles (collections de matériel génétique divers : cultivars, lignées, ou bien des variétés locales) pour détecter la variation associée aux traits quantitatifs basée sur le déséquilibre de liaison (LD) (Huang et Brûlé-Babel, 2012). De plus, elle est plus large, et aboutie à des informations complètes à cause de la grande variation génétique des marqueurs-traités entre plusieurs parents (Sorkheh *et al.*, 2008).

### c) Déséquilibre de liaison

Le déséquilibre de liaison est défini comme une approche statistique qui permet de trouver la différence entre les fréquences gamétiques observées et celles attendues à l'équilibre, estime le degré de dépendance entre les allèles à deux loci différents, généralement à l'aide du logiciel TASSEL 3.0.115.

Le déséquilibre de liaison (DL) était bien exploité pour augmenter la résolution de la cartographie QTL par rapport aux capacités actuelles des populations de cartographie conventionnelle (Flint-Garcia et al., 2003). Cette approche a également contribué à la validation et l'augmentation du nombre de QTL associés à des caractères importants chez différentes espèces de plantes tirées de collections des ressources génétiques, y compris le blé dur (Seguin *et al.*, 2006 ; Hu *et al.*, 2015 ; Fayaz *et al.*, 2019).

En particulier, pour le blé dur, la cartographie par association à l'aide de la liaison déséquilibré a permis d'identifier ou valider plusieurs QTLs impliquées dans le contrôle de certains caractères quantitatifs d'intérêts, comme par exemple le poids de mille grains, la teneur en protéines, la force du gluten, la couleur de la pâte, la qualité de cuisson et de mouture, la force du gluten, la teneur en pigment jaunes, et le taux de l'activité de polyphénol oxydase (Laidò *et al.*, 2014 ; Hu *et al.*, 2015 ; Fiedler *et al.*, 2017 ; Fayaz *et al.*, 2019 ; Johnston *et al.*, 2019). A ce fait, leur utilisation pourrait offrir des rôles intéressants pour développement des QTLs au futur, par conséquent, améliorant la sélection de blé dur.

### 5. Sélection assistée par marqueurs (MAS)

Le concept de la sélection assisté par marqueurs (MAS) est arrivé avec Smith et Simpson (1986) et Soller et Beckmann (1982). La MAS est une méthode de sélection des individus désirables dans un schéma de sélection basé sur des modèles de marqueurs moléculaires d'ADN au lieu, ou en plus de leurs valeurs de trait. Pour un programme de sélection, cet outil ne peut avoir lieu que par la connaissance de l'association entre un marqueur moléculaire et le trait d'intérêt.

En réalité, la sélection basée sur les phénotypes est devenue classique et inutile avec l'apparition des marqueurs moléculaires et les QTLs. De ce fait, les phyto-généticiens des programmes de sélection ont orienté leurs travaux vers l'utilisation de la MAS, qui est une approche alternative efficace de la sélection conventionnelle (Roselló *et al.*, 2018). Et cela s'apparait de son large application pour plusieurs espèces de céréales, comme par exemple elle a été utilisé pour le riz (Jena et Mackill, 2008), le maïs (Ribaut et Ragot, 2006 ; Gupta *et al.*, 2019), l'orge (Coventry

*et al.*, 2003; Miedaner et Korzun, 2012), et le blé (Kuchel *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2018 ; Vagndorf *et al.*, 2018 ; Gill *et al.*, 2019).

Pour le blé, la MAS a connu le plus de succès dans la sélection de la résistance aux maladies et dans l'amélioration de la qualité des grains ([www.maswheat.com](http://www.maswheat.com)). En particulier, et grâce à une sélection basée sur les QTLs ou l'association marqueur-caractère (Estimation de la valeur-p), elle a été plus efficace dans la sélection de la qualité des grains de blé dur car elle a accordé aux sélectionneurs la faisabilité d'utiliser et d'exploiter facilement les traits complexes liés à qualité de la semoule et du grain en évitant les effets de l'environnement et les conditions dans lesquelles les plantes sont cultivées, par le fait d'utiliser les marqueurs moléculaires à toutes les étapes de la croissance de la plante. De nombreux travaux ont utilisé la sélection assistée par marqueur moléculaire en sélectionnant les individus sur la base de ce mode de sélection (Yildirim *et al.*, 2013 ; Fiedler *et al.*, 2017 ; Johnston *et al.*, 2019).

## **MATERIEL ET METHODES**



## II. MATERIEL ET METHODES

### A. Evaluation de la variabilité agro-morphologique d'une collection de blé dur

#### 1. Matériel végétal (la collection mère)

Le matériel végétal utilisé dans cette étude comprenait 280 accessions de blé dur, toutes conservées à la Banque nationale de gènes, Centre régional de recherche agricole de Settat, INRA – Maroc (Annexe 1). Le blé dur était composé de 18 cultivars marocains, 185 variétés locales collectées dans différentes régions agro écologiques à travers le pays et 77 cultivars d'Amérique du Nord (Canada et États-Unis) (Annexe 2).

#### 2. Site expérimental et sa climatologie

L'essai a été conduit à la station expérimentale de Sidi El Aydi (près de Settat ; latitude 33° 07 '16' 'N, longitude 007° 37' 48 "W, altitude de 240 m) pendant la campagne agricole de 2015/2016. Ce domaine a une superficie de 47ha, et le type de leur sol est brun calcaire à texture argileuse.

La station expérimentale est caractérisée par une variabilité importante des précipitations et par un climat semi-aride (chaude et tempéré). La pluviométrie annuelle moyenne de la station est de 360 mm et la majorité des pluies tombent en hiver. L'amplitude des précipitations varie de 0 mm pour le mois Juillet et 65 mm pour le Décembre. En revanche, la température annuelle du site expérimental est en moyenne de 17 °C. La gamme des températures moyennes a oscillé de 25,2 °C en Août et 11,0 °C en Janvier, donc le mois d'août est le mois le chaud de l'année et Janvier le mois le plus froid.

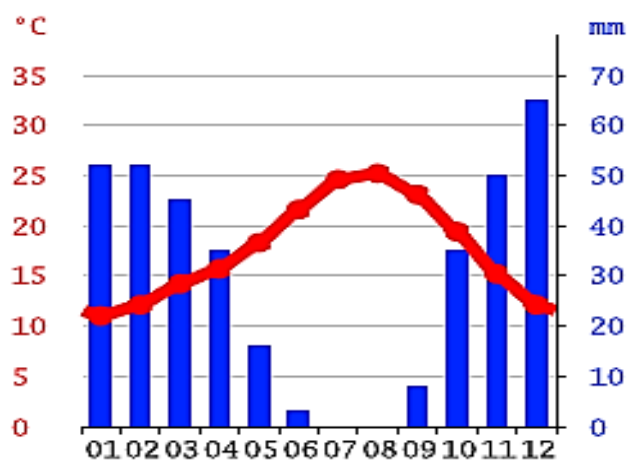


Figure 10: Distribution moyenne de la température et des précipitations dans la station de Sidi El Aidi pendant la saison 2015/2016 (Source : fr.climate-data.org)

### 3. Protocole expérimental

Le protocole expérimental était en "*Augmented Design*" (Federer, 1956), composé de 14 blocs. Chaque accessions a été menée en trois rangs de 1 de long et 30 cm d'espacement entre lignes (Figure 11). Les variétés témoins étaient « Marzak », « Cariouca », et « Ourgh ». Chaque témoin est inclus dans chaque bloc incomplet. Les témoins inclus dans chaque bloc incomplet sont utilisés pour estimer le carré moyen d'erreur et de l'effet de bloc. L'effet de bloc est estimé à partir des moyennes des témoins, puis retiré des moyennes des lignées à tester. Cela permet de réduire l'erreur et d'augmenter la précision (Federer 1961 ; Wolfinger et al., 1997). Le model utilisé est le suivant :

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + c_j + \tau_k(i) + \epsilon_{ij}$$

Où ;  $\mu$  est la moyenne ;  $\beta_i$  représente les blocs ;  $c_j$  représente les témoins ;  $\tau_k(i)$  représentent les lignées à tester ; et  $\epsilon_{ij}$  le terme d'erreur.

Toutes les accessions ont été plantés sans réplication en décembre 2015 et récoltés début juin 2016. Les parcelles ont été gérées selon les pratiques agronomiques standards du site expérimental. Pour réduire l'effet d'une sécheresse sévère pendant la saison, l'irrigation des plantes a été réalisée en alternative aux conditions pluviales.

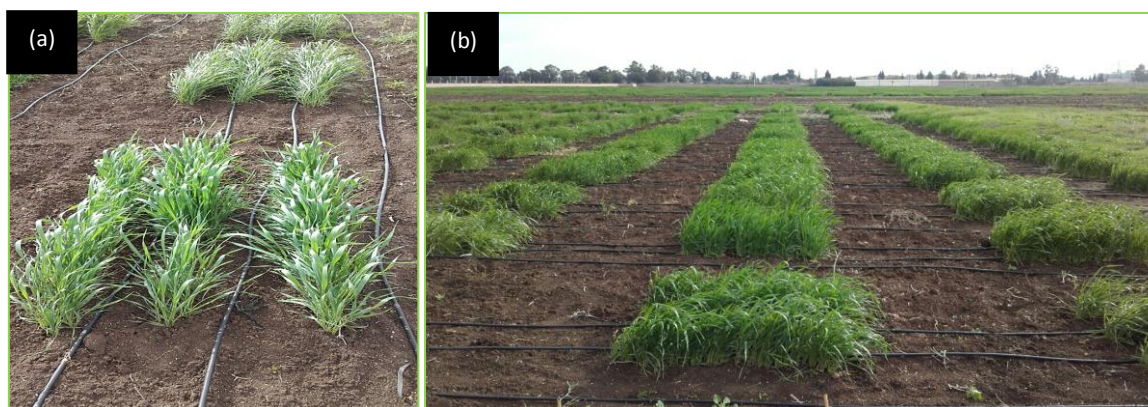


Figure 11: Présentation d'une parcelle (a), et un bloc (b).

### 4. Caractères agro-morphologiques et physiologiques

Les mesures ont porté sur douze caractères : cinq physiologiques, deux morphologiques, et cinq agronomiques (Tableau 3).

## MATERIEL ET METHODES

Tableau 3: Abréviations et unités des caractères étudiés.

Traits	Abbréviation	Unité
Nombre de jours à la floraison	NJF	Jours
Nombre de jours à la maturité	NJM	Jours
Nombre de plantes au stade levé	NPSL	Nombre
Biomasse d'une plante au stade de floraison	BPSF	Gramme
Hauteur de la plante	HP	Mètre
Longueur du pédoncule	LP	Centimeter
Teneur en chlorophylle	SPAD	Unité, SPAD
Biomasse totale	BIO	Kilotgramme
Nombre d'épis	NEP	Nombre
Poids de mille grains	PMG	Grammes
Rendement	R	Kilotgramme
Indice de récolte	HI	%

### a) Caractères physiologiques

Les caractères physiologiques étudiés sont :

Nombre de jours à la floraison : c'est le nombre de jours du semis jusqu'au stade de floraison.

Nombre de jours à la maturité : c'est le nombre de jours du semis jusqu'au stade de floraison.

Nombre de plantes au stade levé : Nombre de plantes pour les trois lignes au stade levé.

Biomasse d'une plante au stade de floraison : le poids d'une plante fraîche au stade floraison.

Teneur en chlorophylle : les mesures ont été déterminées à l'aide d'un appareil chlorophylle mètre SPAD *Minolta 505* (Blackmer et Schepers, 2001). SPAD (soil plant analysis development) détermine la quantité relative de chlorophylle présente en mesurant la transmittance de la feuille dans deux régions de longueur d'onde, c à d évalue la quantité de chlorophylle par une mesure de la transmittance de la feuille dans le rouge (650 nm) et l'infrarouge (940 nm). En utilisant ces deux transmittances, l'appareil calcule une valeur de SPAD numérique qui est proportionnelle à la quantité de chlorophylle présente dans la feuille. Les mesures ont été prises, dans le champ au stade anthèse entre 9h matin à 13h après midi, par l'insertion de la feuille directement dans la fente de l'appareil.

## MATERIEL ET METHODES

### b) Caractères morphologiques

Les caractères morphologiques sont deux :

Hauteur de la plante : c'est la longueur comprise entre la base de la plante et l'extrémité supérieur de la barbe, au stade maturité.

Longueur du pédoncule : c'est la longueur comprise entre le dernier nœud de la tige et la base d'épi, au stade maturité.

### c) Caractères agronomiques

Les caractères agronomiques ont été constitué de :

Biomasse totale : c'est le poids total des trois lignes à la recolte.

Nombre d'épis : c'est le nombre des épis au stade floraison pour les trois lignes.

Poids de mille grains : c'est le poids de mille grains après la récolte.

Rendement : c'est le poids total des grains après le battage.

Indice de récolte : c'est le rapport entre le rendement et la biomasse totale, en pourcentage (%).

## 5. Analyses statistiques

Les statistiques descriptives de base (la moyenne, le minimum, le maximum, l'écart type et le coefficient de variation) ont été calculées pour déterminer l'étendue de la diversité parmi les accessions étudiées et les contrôles. L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée selon le protocole « *Augmented design* » en utilisant le package « *Agricolae* » implémenté dans le logiciel *R* (R Core Team, 2018). Les paramètres génétiques ont été estimés à partir des composantes de l'analyse de variance (Tableau 4). Les variances génotypiques et phénotypiques (VG et VP), les coefficients de variation génotypique et phénotypique (CVG et CVP), l'héritabilité au sens large ( $H^2$ ) et le progrès génétique (AG) ont été calculés selon les formules proposées par Burton (1952), Johnson *et al* (1955), Allard (1960) et Falconer et Mackay (1996). Le coefficient de corrélation de Pearson et l'analyse en composantes principales (ACP) ont été réalisés sur la base des traits agro-morphologiques en utilisant respectivement le package *R* « *Hmisc* » et Microsoft Excel.

Les formules utilisées pour l'estimation des paramètres sont les suivantes :

## MATERIEL ET METHODES

Variance Génotypique (VG)	$VG = (CMG - CME)/r$	CMG : Carrés moyens des génotypes CME : Carrés moyens des erreurs r : Nombre de répétitions
Variance Phénotypique (VP)	$VP = VG + (CME/r) = CMG/r$	
Heritability (broad sense)	$H^2 (\%) = (VG/VP) * 100$	
Coefficient de variation Génotypique (CVG)	$CVG (\%) = (\sqrt{VG}/X) * 100$	$\sqrt{VG}$ : Standard de déviation génotypique
Coefficient de Variation Phénotypique (PVC)	$CVP (\%) = (\sqrt{VP}/X) * 100$	$\sqrt{VP}$ : Standard de déviation phénotypique X : Moyenne du trait considéré
Avance Génétique (progrès génétique) (AG)	$AG = H^2 * \sqrt{VP} * K$	K= 2,06 est un différentiel de sélection à 5% de la variation

### B. Evaluation de la diversité phénotypique à l'aide des caractères qualitatifs et quantitatifs

#### 1. Matériel végétal (Toujours de la même collection mère)

108 accessions de blé dur provenant de la Banque nationale de gènes du Maroc, composés de 15 cultivars marocains, 37 cultivars d'Amérique du Nord (Canada et USA) et 56 variétés locales représentant les différentes régions du Maroc (Annexe 2), ont été utilisées pour l'évaluation de la diversité phénotypique. Les accessions utilisées ont été sélectionnées sur la base de leur rendement au cours de la saison 2015/2016. Toutes les graines utilisées dans cette étude ont été obtenues à partir d'un seul épi.

#### 2. Site expérimental

L'expérimentation a été menée à la station de Sidi El Aidi durant la saison 2017/2018. Cette station est située à 240m d'altitude au-dessus de la mer avec la latitude de 33,07 ° N et la longitude -7,62 ° W. Le climat de ce site est caractérisé par une pluviométrie annuelle de 386mm / an avec une température allant de -4 à 43 °C.

#### 3. Dispositif expérimental

Le matériel expérimental a été planté selon la conception augmentée "*Augmented design*" (Federer, 1956). (Les mêmes conditions de culture du premier essai.)

#### 4. Description phénotypique

La description phénotypique des génotypes a été faite selon les normes standards d'enregistrement des nouvelles variétés (Gupta et al., 2017), décrites dans la "guideline test" de "Distinction and uniformity and stability (DUS) on durum, dicoccum, and the other triticum species", avec le respect de l'instruction de l'Union internationale pour la protection des obtentions végétales (UPOV, 2012).

##### a) Traits qualitatifs de l'épis et du grain

Après la récolte, chaque accession a été décrite selon les caractères visuels suivants : Densité d'épi (Lâche, Moyen, Dense) ; Couleur d'épi (blanc, marron clair, marron foncé); Glaucescence d'épi (wax) (Wax, Non-Wax); Forme d'épi (Effilée, Parallèle, Oblong, Fusiforme); Forme de la barbe (droite, moyenne, courbe); Forme du col (ou pédoncule) (droite, coudée, courbée (sinueux)); Couleur de la barbe (blanche, brune clair, brune foncé, noire); Attitude de la barbe (Appressée, moyenne, expandue); Pilosité de la glume (poilue, non poilue); Forme des grains (ronde, ovale, oblongue, elliptique); Couleur des grains (blanc, ambré, rouge).

##### b) Traits quantitatifs de la plante

Pour les descripteurs quantitatifs, la caractéristique a été mesurée et convertie en classes suivant : Date d'épiaison (précoce, moyenne, tardive) ; Hauteur de la plante (très courte, courte, moyenne, longue, très longue). La formule d'Excel utilisée pour déterminer la classe est : =SI(L2<mean-sd;"classe1";SI(L2<mean+sd;"classe2";SI(L2>=mean+sd;"classe3"))), où L2 : valeur déterminée, mean : moyenne, et sd : standard de déviation.

#### 5. Analyses statistiques

Les classes phénotypiques ont été enregistrées selon la description phénotypique de Gupta *et al* (2017). Microsoft Excel a été utilisé pour calculer les fréquences pour chaque classe phénotypique de chaque trait. Sur la base de ces fréquences, l'indice H' de Shannon et Weaver (1949) a été calculé pour chaque caractère afin d'estimer la diversité phénotypique pour l'ensemble de la collection et pour les trois sous-collections (des cultivars de l'Amérique du Nord, des cultivars du Maroc, et des variétés locales) à l'aide de la formule suivante :

$$H = - \sum_{i=1}^n \rho_i \log \rho_i$$

## MATERIEL ET METHODES

L'indice Shannon-Weaver (nommé  $H'$ ) a été calculé comme suit :

$$H' = - \sum_{i=1}^n (\rho_i \ln \rho_i) / \ln(n)$$

Où,  $\rho_i$ : fréquence de la  $i$ ème classe dans un trait,  $n$ : nombre de classes phénotypiques de chaque trait.

Une analyse en composantes multiples (ACM) ainsi qu'une classification hiérarchique ascendante, basée sur les résultats de l'ACM, a été réalisée afin d'étudier la structure de notre collection sur la base des différents traits qualitatifs et quantitatifs.

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R-cran ([//cran.r-project.org/](http://cran.r-project.org/)).

Quant aux paramètres génétiques décrivant la différenciation des paramètres de population, la diversité génétique intra-population ( $H_s$ ), la diversité génétique totale ( $H_t$ ) et le coefficient de différenciation génique ( $G_{st}$ ) ont été calculés sur la base des formules de Nei (1978) et Nei et Chesser (1983), où allèle et locus signifiaient respectivement classe et trait.

Pour chaque trait :

$H_s$  = somme (H exp)/nb pop

$H_t$  = 1 – somme (pi moy \* pi moy)

$G_{st}$  = 1 -  $H_s/H_t$

Où, H exp: H calculé avec un biais pour chaque pop, H nb : H calculé sans biais (Nei, 1978), H obs : H observé, and pi moy : fréquence moyenne sur les populations de la classe  $i$ .

Sur la totalité des traits :

$HS$  = somme ( $H_s$ )/nb trait

$HT$  = somme ( $H_t$ )/nb trait

$GST$  = 1 -  $HS/HT$

(nb) : Estimateurs non biaisés selon Nei et Chesser (1983).

L'analyse et le test de ces paramètres ont été réalisés avec le logiciel *Genetix* (Genetix version 4.05; <https://kimura.univ-montp2.fr/genetix/>).

### C. Évaluation de la diversité des sous-unités de la gluténine

#### 1. Matériel végétal (Toujours la même collection mère)

L'étude de cette partie a été réalisée à l'aide d'une collection de blé dur de la Banque de Gènes du Maroc (MGB), composée de 52 variétés locales marocaines, 14 cultivars modernes marocains et 29 cultivars modernes nord-américains (Canada et États-Unis). Les grains de chaque accession utilisée pour l'analyse SDS-PAGE ont été obtenus à partir d'un seul épi, qui a été semé sous une forme des Pocket, selon le protocole "*Augmented Design*", durant la saison 2015/2016. En dehors de ces accessions, les cultivars suivants ont été utilisés comme échantillons de référence pour des allèles spécifiques de gluténines dans l'analyse SDS-PAGE : Pitic, Shan 229, CI-12213 (*Triticum dicoccum*), Langdon, Wilbur, Opata, Pavon, Cocorit, Andalusia, Fanfarron, BC et Ardente. Les grains de ces cultivars ont tous été obtenus auprès de la Banque de matériel génétique CIMMYT, El batan, Texcoco, Mexico city, Mexique.

#### 2. Analyse électrophorétique

L'analyse électrophorétique (SD-PAGE 1D) a été réalisée selon la méthode du Laboratoire de Chimie et Qualité du Blé du CIMMYT (Peña *et al.*, 2004), en suivant la méthode standard de Laemmli (1970).

##### a) Extrait protéique

Dix grains de chaque accession ont été broyés. Pour extraire les gliadines, la farine complète (20 mg) était incubée avec 0,75 ml de propanol à 50% (v/v) pendant 30 minutes (min) au Thermomixer (Eppendorf, Allemagne) à 1400 tr/min et à une température de 65 °C. Les tubes ont été centrifugés pendant 2 min à 10000 tours (tr) / min, le surnageant contenant la fraction gliadine étant rejeté. Le même processus était repris deux à trois fois pour éliminer les gliadines restantes. Pour récupérer les gluténines, dans des tubes spécifiques d'extraction des protéines, les culots étaient suspendus dans 100 µl d'une solution de dithiothréitol (DTT) ((1,5% ; p/v) formée de 50 µl propanol (50% ; v/v) et 50 µl de Tris(hydroxyméthyl)-aminomethane (Tris)-acide chlorhydrique (HCl) (0,08 M ; pH 8,0). Les tubes étaient vortexés à l'aide du thermomixer pendant 30 minutes à 1400 tr/min /65 °C, puis centrifugés 2 minutes à 10000 tr/min. Un volume de 100 µl d'une solution de vinylpyridine à 1,4% (v/v) formée par 50 µl de propanol à 50% (v/v) et 50 µl de Tris-HCl (0,08 M ; pH 8,0) a été ajoutés aux tubes des agrégats gluténiques. Afin d'obtenir un surnageant contenant les gluténines, les tubes étaient vortexés et réincubés pendant 15 min à 1400 tr/min et 65 °C, ensuite une centrifugation à 13000 tr/min pendant 2 min



## MATERIEL ET METHODES

est appliquée pour séparer le culot et le surnageant. Le surnageant a été transféré dans un nouveau tube.

Pour préparer l'extrait protéique à séparer, un volume de 180  $\mu$ l de surnageant a été mélangé avec 180  $\mu$ l d'une solution tampon formée de Tris-HCl (1M ; pH 6,8), 2% de dodécylsulfate de sodium (SDS) (p/v), 40% de glycerol (p/v) et 0,02% de bleu de bromophénol (p/v). Les tubes étaient homogénéisés et incubés pendant 5 min à 1400 tr / min et à 90 °C, puis centrifugés pendant 2 min à 13000 tr/min.

### b) Préparation du gel électrophorétique

#### (1) Gel de séparation

Pour un gel d'acrylamide de 15%, pour 2 gels de 17,0 cm de haut et 1,0 mm d'épaisseur, la préparation du gel est la suivante :

- 24,67 ml de TRIS pH 8,5 (1 M TRIS, pH 8,5).
- 24,39 ml d'Acrylamide pour le gel de séparation :40% d'acrylamide et 1,3% de bis-acrylamide.
- 0,65 ml de SDS, 10%.
- 13,97 ml d'eau distillée.
- 1,3 ml de persulfate d'ammonium à 1,5% (solution fraîche).
- 0,50 ml de TEMED.

Après avoir mélangé doucement l'ensemble, un volume de 38 ml de la solution de gel était versé dans deux dispositifs de 17,0 cm de hauteur et 1,0 mm d'épaisseur. Pour éviter la formation du ménisque, nous avons mis un 1 ml d'alcool butylique pur sur le dessus du gel.

#### (2) Gel de concentration

Pour un gel d'acrylamide de 4,8%, pour 2 gels de 3,0 cm de haut et 1,0 mm d'épaisseur, la composition du gel de concentration était la suivante :

- 6,12 ml d'eau distillée
- 10 ml de stock TRIS pH 6,8 (1 M TRIS, pH 6,8).
- 1,05 ml d'acrylamide pour le gel de concentration (40% d'acrylamide et 1,3% de bis-acrylamide).
- 0,09 ml de SDS, 10%.
- 0,38 ml de persulfate d'ammonium à 1,5% (préparé immédiatement avant utilisation).
- 0,50 ml de TEMED.

Le tout était délicatement mélangé, puis versé sur le gel de séparation, en s'assurant qu'il n'y a pas de bulles dans les allées du peigne.

## MATERIEL ET METHODES

### c) Tampon d'électrophorèse ou de migration

Le tampon de migration est un tampon conducteur qui améliore les conditions de migration et de séparation des protéines sous l'influence d'un champ électrique. Le tampon conducteur utilisé dans cette étude était formé de :

- 30,0 g de TRIS.
- 887 ml d'eau distillée.
- 144 g de glycine.
- 10 g de SDS.
- pH= 8,3.

L'ensemble était mélangé et conservé à 5 °C, nommé stock du tampon d'électrophorèse TRIS-Glycine (pH=8,3). Pour chaque utilisation, on a préparé 400 ml de stock du tampon d'électrophorèse et 3600 ml d'eau distillée. Pour remplir les deux dispositifs, on a utilisé un volume de 2500 ml de ce mélange.

### d) Séparation de l'extrait protéique

Quant à la séparation de l'extrait protéique, le volume mis dans chaque puits était de 6 µl. Une fois les extraits déposés, les gels sont soumis à un champ électrique constant de 35V / m (12,5 mA, et 1 w par gel) pendant 20 heures.

### e) Coloration, décoloration et lecture des gels

Pour la coloration et la distinction des bandes migrées, les gels étaient plongés dans une solution d'acide trichloracétique à 12% pendant 5 minutes puis placés dans une solution de coloration contenant bleu de Coomassie (400 ml de méthanol, 100 ml d'acide acétique glacial, 0,1 g de bleu brillant de Coomassie (R-250) et 500 ml d'eau distillée) pendant 4 heures, et enfin mis dans d'eau distillée pendant 24 heures pour les décolorer.

Les bandes de faible mobilité, sous unités de haut poids moléculaire (HMW-GS), ont été identifiées en utilisant la nomenclature de Payne et Lawrence (1983). Les bandes de haute mobilité, sous unités de faible poids moléculaire (B-LMW-GS), ont été désignées selon la catalogue de Nieto-Taladriz *et al* (1997).

## 3. Analyse des données

Microsoft Excel a été utilisé pour calculer les fréquences alléliques pour chaque locus et pour chaque sous-collection, ainsi que pour évaluer la diversité génétique ( $H_e$ ) et le nombre effectif d'allèles ( $N_e$ ) en utilisant les formules suivantes de Nei (1972, 1973):

## MATERIEL ET METHODES

$$He = 1 - \sum \rho_i^2 \quad (1)$$

$$Ne = 1 / \sum \rho_i^2 \quad (2)$$

Où,  $\rho_i$ : fréquence du  $i^{\text{ème}}$  allèle dans un locus.

### D. Caractérisation physicochimique et morphométrique des grains et leur association moléculaire

#### 1. Matériel végétal

Le même matériel végétal utilisé dans l'évaluation de la diversité des sous-unités de gluténine.

#### 2. Protocole expérimental

Le même protocole et les mêmes pratiques techniques utilisés pour la conduite de la culture pour l'évaluation de la diversité phénotypique.

#### 3. Caractérisation physico-chimique, la morphométrie du grain, et le génotypage des marqueurs moléculaires

##### a) Teneur en protéines (TP%)

Les valeurs de la teneur en protéines (%) ont été obtenues par la multiplication de la teneur en azote déterminée par la méthode de Kjeldahl (1883) par le facteur de conversion 5,7. Le principe de cette méthode se repose sur quatre étapes :

##### ❖ Digestion

Le but de cette étape est de transformer la matière organique azotée en matière minérale par oxydation à haute température et en présence d'un catalyseur et d'un sel. On met dans des matras (un tube à digestion spécifique), contenant 6 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré à 98% et 3 g de catalyseur (10 grammes de cuivre + 100 grammes de sulfate de sodium), une quantité de 0,25 g de la farine. Ensuite, on incube le mélange pendant 30 minutes à une température de 320 °C, puis on augmente cette dernière à 420 °C pendant une heure.

##### ❖ Dilution

Après 24 heures, on fait des dilutions de la matière minérale obtenue dans 100 ml d'eau distillée puis on les met dans des bouteilles spéciales de 100 ml.

##### ❖ Distillation

## MATERIEL ET METHODES

Cette étape a pour objectif d'obtenir la molécule d'ammoniaque. Elle s'effectue à l'aide de distillateur à vapeur appelé "K-350", qui mélange 50 ml d'eau distillée + 40 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) + 10 ml de l'acide borique, son rôle est de transformer l'ammonium en ammoniaque. La soude est ajoutée en excès afin de changer le pH acide en pH basique, et par conséquent, l'obtention de l'ammoniaque. L'ammoniaque  $\text{NH}_3$  est entraînée par la vapeur d'eau par distillation. Les vapeurs d'ammoniaque sont condensées au contact d'un réfrigérant et recueillies dans une solution contenant deux indicateurs colorés (rouge de méthyle et le bleu de bromothymol) et de l'acide borique.

### ❖ Titration

À l'aide de l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 0,05 N, la titration est déterminée au moyen d'un indicateur coloré formé du rouge de méthyle et du bleu de méthylène 0.1% dissous dans l'alcool (obtention de la couleur rose rouge).

### b) Test de sédimentation-SDS (SDS-ST, ml)

Le test de sédimentation-SDS permet d'évaluer la force du gluten. Le principe de cette technique repose sur le gonflement de la protéine du gluten. Selon la méthode de Dick et Quick (1983), une quantité de 6 g de la mouture complète du blé dur ont été pesés et placés dans des cylindres en verre gradués de 100 ml. La farine complète a été mise en suspension dans 50 ml d'eau distillée en agitant vigoureusement pendant 15 secondes. Des agitations similaires ont été répétées deux fois à 2 et à 4 minutes. Immédiatement on ajoute 50 ml de solution de 2% SDS et de solution d'acide lactique (85%) diluée au 1/8 et on inverse les éprouvettes 4 fois. L'inversion a été répétée 3 fois de plus à 2, 4 et 6 minutes. Le contenu de l'éprouvette a été laissé reposer pendant 10 minutes, puis le volume des sédiments étant noté en millilitres (ml).

### c) Teneur en amidon (TA, %)

La teneur en amidon est déterminée en multipliant la teneur en glucose par un coefficient de conversation de 0,9. L'extraction de l'amidon a été faite selon la méthode Hansen et Møller (1975), une quantité de 15mg de la farine a été mise dans une solution de 5ml d'éthanol (80%) et 5ml de la solution 1,1% HCl. Le mélange a été centrifugé à 4500 rpm pendant 15 minutes ( $4^\circ\text{C}$ ). Le dosage et la quantification des sucres totaux ont été effectués selon la méthode Ashwell (1957) qui est basé sur l'utilisation de 0,2% d'Anthrone solubilisé dans une solution d'acide sulfurique. Le glucose a été utilisé à une concentration de 0,1% pour la gamme étalon. La densité optique est lue à 630nm au spectrophotomètre.

## MATERIEL ET METHODES

### d) Teneur en pigment jaune (YPC, ppm)

La teneur des pigments jaunes (ppm) a été déterminé par la méthode AACC 14-50 (2000) modifiée par Santra *et al* (2003). Pour l'extraction des  $\beta$ -carotènes, une quantité de 30,1 mg de mouture de blé dur a été suspendue dans une solution de 650 $\mu$ l de 1-butanol saturé en eau distillée (8:2 ; v/v), puis le mélange est incubé pendant 18 heures à une température de 37°C. Ensuite, le mélange a été centrifugé à 10 000 tours/min pendant 10 minutes. En particulier, la teneur en pigments jaunes a été estimée à l'aide de la lecture de la densité optique du surnageant à la longueur d'onde de 440 nm.

### e) Couleur de la polyphénol oxydase (PPO, score)

Le test de la couleur de polyphénol oxydase des grains a été effectué selon la méthode décrite par Gupta *et al* (2017). Le principe de cette méthode est reposé sur le développement de la couleur des grains grâce à la réaction enzymatique de l'enzyme phénol oxydase et tyrosinase dans l'enveloppe de la graine.

La couleur de réaction du phénol : Le test au phénol est effectué en trempant les graines dans de l'eau distillée pendant 16 à 20 heures. Après avoir drainé l'eau de la boîte pétrie, les grains sont placés sur un papier filtre dans une boîte de pétrie avec le pli vers le bas. On ajoute une solution de phénol à 1% fraîchement préparée, suffisante pour couvrir 3/4 des grains. Au bout de 4 heures, la solution de phénol est égouttée afin que les graines sèchent et prennent leur couleur. La coloration des graines est notée selon cinq catégories en fonction de l'intensité de la couleur, c'est-à-dire aucune ou aucune réaction, clair (brun clair), moyen (brun), foncé (brun foncé) et noir ou très foncé.

### f) Poids mille du grains (PMG, g) et Poids spécifique (PS, hl/kg)

- Le poids de mille grains (g) a été estimé par la pesé de 10 grains.
- Le poids spécifique est estimé en convertissant la mesure du poids de grains dans un volume calibré (50 ml) par le tableau de conversion de poids spécifique.

### g) Paramètres de la morphométrie d'un grain

Les grandeurs (les dimensions) de la taille du grain tels que l'aire (ARE), le périmètre (PER), la maj-ellipse (MAJ) et le min-ellipse (MIN) ont été mesuré à l'aide du logiciel "GrainScan" développé par Whan *et al* (2014) (Figure 12). Le principe de cette méthode logicielle est basé sur la mesure des grandeurs des graines via la capture d'une image à plat à l'aide d'un scanner et l'analyse d'image par un logiciel contenant un mémoire d'images et grandeurs.

## MATERIEL ET METHODES

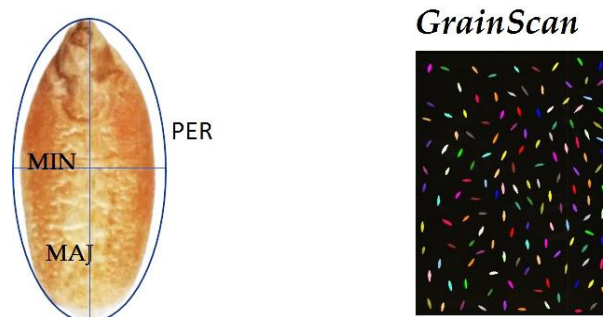


Figure 12: Grandeurs d'un grain et une image prise par le logiciel "GrainScan" d'un échantillon de blé dur.

### h) Marqueurs moléculaires et procédure standard de génotypage

#### (1) Préparation de l'échantillons

Au stade de trois feuilles, un morceau de  $\frac{3}{4}$  des feuilles fraîches, pour les 95 accessions de blé dur, a été placé dans des tubes de deux plaques. Après une incubation de 2 heures une à température de  $-80^{\circ}\text{C}$ , les échantillons ont été lyophilisés pendant une nuit dans un lyophilisateur.

#### (2) Isolement de l'ADN

Pour lyser les cellules végétales et extraire l'ADN, les extraits lyophilisés ont été placés pendant 3 minutes/ 30 Hz dans un appareil de tissu-lyseurs (*GenoGrinder 2010, Zymo Research*). Un volume de  $400\mu\text{l}$  du tampon *CTAB* (Cetyltrimethylammonium bromide) a ensuite été ajouté pour chaque tube des deux plaques. Ces plaques ont été transféré à l'homogénéisateur pendant 2 heures à une température de  $65^{\circ}\text{C}$ . Après un refroidissement pendant 10 minutes, un volume de  $300\mu\text{l}$  de la solution chloroforme-octanol (24:1) a également été ajouté aux extraits, qui ont par la suite été subis à une soigneuse homogénéisation. L'ensemble a été centrifugé à  $3750\text{ rpm}/4^{\circ}\text{C}$  pendant 30min.

Pour l'élimination des ARNs de l'ADN, un volume de  $15\mu\text{l}$  d'une solution RNase a été ajouté aux surnageants récupérés, puis l'ensemble est incubé pendant 30 minutes à une température de  $37^{\circ}\text{C}$ . Après la dégradation des ARN et l'ajout de  $280\mu\text{l}$  d'isopropanol, le mélange a subi une mixtion par inversion pendant 30 minutes à une température de  $-20^{\circ}\text{C}$ . Ensuite, Afin d'éliminer le surnageant contenant la solution d'isopropanol, une centrifugation à  $3750\text{ rpm}/20^{\circ}\text{C}$  a été effectuée pendant 15 minutes. Le culot d'ADN obtenu a été lavé par l'addition d'un volume de  $400\mu\text{l}$  d'éthanol absolu (70%), puis centrifugé à  $3750\text{ rpm}/37^{\circ}\text{C}$  pendant 20 minutes (deux fois cette étape). Quand le lavage est terminé, le culot d'ADN est séché pendant

## MATERIEL ET METHODES

une nuit dans une température ambiante, et mis dans un volume de 200 $\mu$ l Tris-Hcl (1Mm ; pH=8).

### (3) Quantification et purification de l'ADN

La quantification de la quantité de l'ADN obtenu est effectuée par l'utilisation de la technologie de Nano-drops. La première étape de la quantification était l'étalonnage de l'appareil par l'eau distillée puis par tris base pH=8. Après la quantification, pour que la réaction de PCR soit compatible avec l'ensemble des quantités d'ADN des accessions, une série de dilutions a été réalisée. La dilution la plus adéquate pour notre étude était 10 $\mu$ l D'ADN :70 $\mu$ l D'eau distillée.

### (4) Réaction en chaîne de polymérase (PCR)

La réaction en chaîne de la polymérase est sans doute l'une des plus importantes inventions du 20ème siècle en biologie moléculaire. De petites quantités du matériel génétique peuvent être amplifiées pour pouvoir identifier des polymorphismes dans l'ADN, voir des mutations ponctuelles. La PCR implique les trois étapes suivantes : dénaturation, hybridation et extension. Premièrement, le matériel génétique est dénaturé, convertissant les molécules d'ADN double brin en simples brins. Les amorces sont ensuite hybridées avec les régions complémentaires des molécules simple brin. Dans la troisième étape, les molécules hybridées sont prolongées par l'action de l'ADN polymérase. Toutes ces étapes sont sensibles à la température et le choix commun des températures est respectivement de 94°C, 60°C et 70°C. Une bonne conception de l'amorce est essentielle à la réussite des réactions.

En ce qui concerne le mélange réactionnel de la PCR, la préparation est présentée dans le tableau ci-dessous (Tableau 4). Un volume de 4 $\mu$ l de l'ADN dilué (10:80 ED) a été mélangé avec un volume de 6 $\mu$ l du mélange réactionnel. Toutes les étapes de la préparation de la réaction ont été préparées sur la glace.

Tableau 4: Mélange réactionnel pour un seul tube.

Mélange réactionnel	Une réaction pour chaque tube ( $\mu$ l)
5X Green Go-Taq	2
25mM MgCl <sub>2</sub>	0,6
DNTPs Mix (2.5mM)	0,8
Primers F+R (0.1 $\mu$ M)	2,5
Go-Taq (DNA Polymerase 5U/ $\mu$ l)	0,05
Eau distillée (ED)	0,05

## MATERIEL ET METHODES

### (5) Conditions d'amplification

Les cycles répétitifs d'amplification comprennent les étapes suivantes :

- La dénaturation de l'ADN et l'activation de *Taq polymérase* : un cycle 94°C pendant une minute ;
- L'hybridation des amorces avec les régions complémentaires de molécules simple brin à une température de 60 ° C ;
- L'extension des deux brins dénaturés : 30 cycles de 94°C pendant 1 minute, 50-68°C pendant 2 minutes, et 72°C pendant 2 minutes ;
- La terminaison : un cycle de 72°C pour 5 minutes.

Chaque marqueur moléculaire possède en principe un programme et des conditions d'amplification particuliers, c'est-à-dire chaque marqueur a une température et un nombre de cycle d'amplification particuliers (Références des articles: Annexe 3). Pour chaque test d'échantillon, chaque réaction de PCR avait 3 répétitions et l'expérience a été répétée trois fois.

### (6) Génotypage par gel de séparation

Le polyacrylamide et l'agarose sont les deux principaux gels utilisés dans la séparation des bandes des produits PCR. Dans cette étude, on a utilisé seulement les gels d'agarose. Les gels à 2% ont été utilisés pour la séparation des gènes dominants, alors que les gels 3,5% ont été employés pour la séparation des gènes codominants (Exemple : Annexe 4, 5 et 6). Pour les bandes des marqueurs qui ont été difficile à séparer, on a utilisé le système d'analyseur de fragments "*Fragment Analyser™ Automated CE System*". Ce type d'analyseur de fragments utilise l'électrophorèse capillaire parallèle automatisée pour la séparation des bandes des produits PCR (Annexe 7 et 8).

### (7) Génotypage par PCR Allèle Spécifique (KASP : Kompetitive Allele Specific PCR)

Pour la détection de la présence ou l'absence des SNPs dans les accessions, on a exploité la technique PCR allèle spécifiques (KASP) (Figure 13). La technologie KASP a été développée pour détecter, développer, et valider les allèles les plus pertinents, est adapté surtout au génotypage de quelques marqueurs SNP sur un grand nombre de gènes. Le principe de cette technique est basé sur la réaction PCR avec une amorce spécifique de chaque allèle et une commune aux deux allèles. Toutes les amorces sont attribuées par une fluorescence différente à chaque allèle. Le profil du génotypage (Produit PCR) se fait par la lecture de la fluorescence sur un appareil de PCR quantitative (Exemple : Annexe 9).



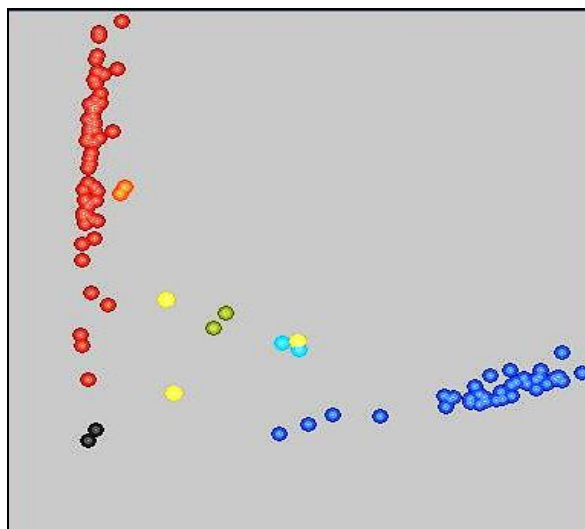


Figure 13: Génotypage par le test KASP. Les accessions colorées en bleu ont l'allèle de type 1 ; les accessions colorées en rouge ont l'allèle de type 2 ; les points verts et mauves représentent les allèles hétérozygotes (allèles 1 et 2) des témoins ; les points noirs représentent le NTC (contrôle non modèle) ; les points jaunes représentent les puits vides.

i) Génotypage des STS :

Pour l'amplification par PCR, le mélange réactionnel de PCR a été réalisé dans un volume total de 10  $\mu$ l : 4  $\mu$ l d'ADN génomique (46 ng /  $\mu$ l), 0,05  $\mu$ l d'eau distillée, 2  $\mu$ l 5X Green Go-Taq, 0,6  $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,8  $\mu$ l Mélange de DNTP (2,5 mM), 2,5  $\mu$ l d'amorces F + R (0,1  $\mu$ M), 0,05  $\mu$ l de Go-Taq (ADN polymérase 5U /  $\mu$ l) (Dreisigarcker *et al.*, 2016). Toutes les étapes de la préparation de la réaction ont été préparées sur la glace.

Programme PCR, la d'amplification standard utilisé dans ce travail a été réalisé en trois étapes : dénaturation de l'ADN et activation de la Taq polymérase : un cycle 94 °C pendant une minute ; Extension des deux brins dénaturés : 30 cycles de 94 °C pendant 1 minute, 50-68 °C pendant 2 minutes et 72 °C pendant 2 minutes ; et Terminaison : un cycle à 72 °C pendant 5 minutes. Chaque marqueur STS a un programme d'amplification spécifique (Annexe 3). Les produits de PCR ont été séparés sur un gel d'agarose de 2-3% (Exemple : Annexe 4, 5 ,6, 7 et 8).

j) Génotypage des SNPs :

Le génotypage des SNP a été réalisé selon les tests KASP (*LGC Genomics, LCC, Beverly, MA, USA*) en suivant les directives standard décrites dans les protocoles de laboratoire du CIMMYT (Dreisigarcker *et al.*, 2016). Le mélange réactionnel de PCR a été réalisé dans un volume total de 10  $\mu$ l : 4  $\mu$ l de l'ADN génomique (46 ng /  $\mu$ l), 2,43  $\mu$ l d'eau distillée, 2,5  $\mu$ l de mélange réactionnel 2 x KASP et 0,07  $\mu$ l de mélange d'essai.

## MATERIEL ET METHODES

Le cycle de PCR a été réalisé comme suit : un cycle à 94 °C pendant 15 minutes, 20 cycles à 94 °C pendant 10 secondes, 57 °C pendant 5 secondes et 72 °C pendant 10 secondes ; 18 cycles à 94 °C pendant 10 secondes, 57 °C pendant 20 secondes et 72 °C pendant 40 secondes (selon les amorces SNP) (Annexe 3). Le génotypage du produit PCR se fait par lecture de la fluorescence (*PHERAstar FSX*, *BMG Labtech*) à 25 °C (Exemple : Annexe 9).

### 4. Analyses des données statistiques

L'analyse descriptive et l'analyse en composante principales ont été effectués à l'aide du logiciel de "*IBM SPSS statistics 22.0 windows*" (*IBM SPSS inc*, Chicago, IL, USA). L'association marqueur-trait a été déterminée à l'aide du test Kruskal-Wallis moyennant le logiciel "*R package*" permettant l'estimation de la valeur-p (Kruskal et Wallis, 1952 ; Version 2.12.1; [www.r-project.org](http://www.r-project.org)), où les marqueurs ont été notés 1 pour la présence ou 0 pour l'absence d'une bande.

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

### III. RESULTATS ET DISCUSSION

#### A. Estimation de la variabilité agro-morphologique d'une collection de blé dur

##### 1. Résultats et présentation

##### a) Diversité des traits agro-morphologiques entre les accessions

Les données statistiques de base (moyenne, minimum, maximum, erreur standard et coefficient de variation) pour toutes les caractéristiques agro-morphologiques dans les accessions de blé dur étudiées et les contrôles marocains sont fournies dans le tableau 5. Une variabilité élevée a été trouvée entre les accessions de blé dur. Le coefficient de variation le plus élevé a été montré par R (29,3%), suivi par IR (29,1%), BPSF (21,6%) et PMG (18,7%). La valeur la plus faible a été observée pour NJF (1,2%).

Le nombre de jours à la floraison (NJF) et à la maturité (NJM) des accessions de blé dur ont respectivement oscillé de 105 à 118 jours et de 108 à 167 jours avec une moyenne de 111,27 jours (NJF) et 139,62 (NJM). Cependant, les valeurs moyennes de NJF et NJM des contrôles étaient respectivement de 109,54 jours et 134,02 jours. Le nombre de plants au stade levé (NPSL) des accessions de blé dur a varié de 10 à 119 plantes avec une moyenne de 66,22 plantes, tandis que les biomasses de la plante unique au stade de floraison (BPSF) ont varié entre 25,37 et 172,21g avec une moyenne de 73,11 g. Les valeurs moyennes de NPSL et BPSF pour les contrôles ont été de 64,69 plantes et 61,86 g, la hauteur de la plante (HP), la longueur du pédoncule (LP) et la biomasse totale (BIO) des accessions ont montré des grandes variations avec des moyennes de 130 cm, 36,81 cm et 2,46 kg, respectivement, supérieures aux valeurs moyennes de HP, LP et BIO pour les contrôles.

Pour les caractères liés au rendement, les accessions de blé dur ont montré des valeurs moyennes relativement faibles pour le nombre d'épis (477,71 épis), le poids de mille grains (43,16 g), le rendement en grains (0,58 kg) et l'indice de récolte (0,24) par rapport aux contrôles (Tableau 5).

Par ailleurs, l'analyse de la variance a révélé l'existence de différences significatives entre les accessions de blé dur pour tous les caractères à l'exception de NJM, PMG et IR, l'interaction contrôles-variétés, entrées et variétés ont été les principales sources de la variation (Tableau 6). Des différences significatives ont également été observées entre les accessions de blé dur et les contrôles marocains pour tous les caractères sauf NPSL. Les résultats actuels indiquent

## RESULTATS ET DISCUSSION

l'existence d'une grande variabilité entre les accessions de blé dur étudiées pour presque tous les caractères mesurés.

Tableau 5: Analyse descriptive pour les traits agro-morphologiques.

traits	280 accessions		3 Contrôles		Moyenne totale	CV %
	Etendue	M±ES	M±ES	M±ES	M±ES	
NJF	105	118	111,27±0,17	109,54±0,20	111,04±0,15	1,2
NJM	108	167	139,62±0,35	134,02±0,74	138,89±0,33	3,6
NPSL	10	119	66,22±1,07	64,69±1,62	66,02±0,95	15,3
BPSF	25,37	172,21	73,11±1,50	61,86±2,39	71,64±1,36	21,6
HP	0,85	1,8	1,3±0,01	1,10±0,02	1,27±0,01	8,6
LP	18,3	61,3	36,81±0,42	34,81±0,89	36,55±0,39	15
SPAD	19,8	63,9	46,87±0,47	54,29±0,71	47,84±0,44	9,9
BIO	0,8	5,49	2,46±0,03	2,31±0,07	2,44±0,03	18
NEP	194	984	477,71±7,22	524,47±14,20	483,81±6,6	13,8
PMG	19	73	43,16±0,59	48,33±1,32	43,84±0,55	18,7
R	0,13	1,66	0,58±0,01	0,81±0,02	0,61±0,01	29,3
IR	5	58	24±0,00	36±0,01	25±0,00	29,1

\*M : moyenne ; ES : Erreur Standard ; CV : coefficient de la variation (%) ; SD : standard de déviation.

### b) Estimation des paramètres génétiques :

Les variances génotypiques, les variances phénotypiques, l'héritabilité, le coefficient de variation génotypique (CVG), le coefficient de la variation phénotypique (CVP), le progrès génétique (AG) pour l'ensemble des 12 caractères ont été estimés et présenté dans le tableau 7.

Dans la présente étude, les variances phénotypiques (VP) et génotypiques (VG) les plus élevées ont été observées pour NEP et BPSF tandis que les VP et VG les plus faibles ont été enregistrés pour IR et R. Le coefficient de la variation phénotypique (CVP) a varié de 2,57% (NJF) à 40,04% (R), alors que le coefficient de variation génotypique (CVG) a varié entre 2,28% (NJF) et 27,69% (BPSF). Des valeurs modérées de CVP ont été notées pour LP (19,61%), (17,61%) et SPAD (16,69%), tandis que BIO, HP, SPAD et PMG (13,10%) ont montré une valeur relativement modérée de CVG (Tableau 7). Les estimations de l'héritabilité au sens large ( $H^2$ ) ont varié de 0,29 à 0,78 pour NJM et NJF, respectivement. Des valeurs d'héritabilité modérément élevées ont été obtenues pour HP, NPSL, NEP, SPAD et BPSF. Concernant le progrès génétique, la valeur la plus élevée a été observée pour le NSP et la valeur la plus faible du progrès génétique a été révélée pour IR (Tableau 7).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 6: Sources de la variation pour les 280 accessions de blé dur.

SV	df	NJF	NJM	NPSL	BPSF	HP	LP	SPAD	BIO	NEP	PMG	R	IR
Bloc	13	1,723	24,08	128,74	187,9	551,0***	45,315	20,57	0,4161*	16000**	61,44	0,04005	0,00535
Entrées	282	7,6705***	35,981	291,22**	512,27*	462,59***	48,074	60,850**	0,32591	11977**	89,9	0,04684	0,008171
Contrôles	2	1,024	2,95	121,88	592,8	403,5	7,797	13,46	0,02712	11630	245,17*	0,01348	0,00643
Variétés	279	8,164***	35,17	322,86***	633,9**	500,1***	51,388*	63,78**	0,39421*	14614***	100,23	0,05967*	0,00813
Contrôles Variétés	1	108,975***	1147,27***	86	4626,1***	13311,9***	146,627*	2010,73***	0,80586	79861***	974,48***	1,95385***	0,50929***
Erreur		1,767	24,85	101,52	240,4	121	29,62	22,29	0,19323	4463	67,24	0,03277	0,00561

LD, libre degré, degré de signification : 0 '\*\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

Tableau 7: Avance génétique, héritabilité (sens large), coefficient de variabilité génotypique et phénotypique pour douze caractères agro-morphologiques.

Traits	Carrées Moyens	Erreur	VG	VP	Moyen Total	CVP %	CVG %	H <sup>2</sup>	AG %
NJF	8,164	1,767	6,397	8,164	111,04	2,57	2,28	0,78	4,61
NJM	35,17	24,85	10,32	35,17	138,89	4,27	2,31	0,29	3,58
NPSL	322,86	101,52	221,34	322,86	66,02	27,22	22,53	0,69	25,38
BPSF	633,9	240,4	393,5	633,9	71,64	35,14	27,69	0,62	32,20
HP	0,05001	0,0121	0,03791	0,05001	1,27	17,61	15,33	0,76	0,35
LP	51,388	29,62	21,768	51,388	36,55	19,61	12,77	0,42	6,26
SPAD	63,78	22,29	41,49	63,78	47,84	16,69	13,46	0,65	10,70
BIO	0,39421	0,19323	0,20098	0,39421	2,44	25,73	18,37	0,51	0,66
NEP	14614	4463	10151	14614	483,81	24,99	20,82	0,69	172,98
PMG	100,23	67,24	32,99	100,23	43,84	22,84	13,10	0,33	6,79
R	0,05967	0,03277	0,0269	0,05967	0,61	40,04	26,89	0,45	0,23
IR	0,00813	0,00561	0,00252	0,00813	0,25	36,07	20,08	0,31	0,06

VG : Variance Génotypique ; VP : Variance Phénotypique ; CVG : Coefficient de la variabilité génétique (%) ; CVP (%) : Coefficient de la variabilité phénotypique (%) ; H<sup>2</sup> : Héritabilité (sens large) ; AG : Progrès ou Avance génétique (%)

## RESULTATS ET DISCUSSION

### c) Corrélations entre les traits agro-morphologiques :

Le coefficient de corrélation de Pearson a été estimé entre 12 traits morphologiques dans les accessions de blé dur (Tableau 8). La corrélation la plus élevée ( $r = 0,78$ ) a été enregistrée entre IR et R, suivie par NEP et R ( $r = 0,64$ ).

Le nombre de jours à la floraison (NJF) et le nombre des jours à la maturité (NJM) étaient corrélés positivement avec les caractères végétatifs (BPSF et HP) et négativement corrélés avec les caractères liés au rendement (NEP, R et IR). Les caractères végétatifs (HP et LP) ont montré une corrélation positive significative avec BIO et une association négative avec les caractères liés au rendement (R et IR). Le rendement était fortement et positivement corrélé avec BIO, NEP, PMG et IR.

Tableau 8: Coefficients de corrélations entre les caractères agro-morphologiques.

Traits	NJF	NJM	NPSL	BPSF	HP	PL	SPAD	BIO	NEP	PMG	R
NJM	0,29**										
NPSL	-0,02ns	-0,04ns									
BPSF	0,24**	0,3**	-0,05ns								
HP	0,25**	0,39**	0,14*	0,34**							
LP	0,07ns	0,13*	0,08*	0,21**	0,5**						
SPAD	-0,08ns	-0,11*	-0,18**	-0,02ns	-0,32**	-0,09ns					
BIO	0,07ns	0,16ns	0,3**	0,16**	0,35**	0,35**	0,04*				
NEP	-0,16**	-0,26**	0,38**	-0,33**	-0,12*	0,02ns	0,09ns	0,4**			
PMG	0,01ns	-0,02ns	-0,14*	0,13*	0ns	0,09ns	0,21**	0,19**	-0,02ns		
R	-0,14**	-0,33**	0,14*	-0,24**	-0,24**	0,07ns	0,3**	0,41**	0,64**	0,29**	
IR	-0,21**	-0,46**	-0,03ns	-0,39**	-0,48**	-0,14**	0,28**	-0,2**	0,42**	0,19**	0,78**

ns, \*, \*\* représente la signification à  $P > 0,05$ ,  $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$ , respectivement.

### d) Analyse en composantes principales et la structure génétique de la collection :

L'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur la base des 12 traits agro morphologiques étudiés (Figure 14 et Tableau 9). Les cinq principales composantes (PC) ont contribué à 73,5% de la variation entre les accessions de blé dur. Les deux premières composantes principales (PC 1 et PC 2) représentaient plus de 44% de la variation totale. Les traits, qui ont contribué plus positivement à PC1, étaient NSP, Y et HI. Alors que BIO, LP, HP et NSP ont contribué plus positivement à PC2.

Le biplot des 280 accessions basé sur les 12 caractères agro morphologiques a permis de répartir la collection en trois groupes principaux (Figure 14). Les variétés locales de blé dur marocain

## RESULTATS ET DISCUSSION

et les accessions de blé dur d'Amérique du Nord étaient caractérisées par les valeurs moyennes les plus élevées des traits morphologiques et physiologiques, tandis que les cultivars de blé dur marocain étaient caractérisés par les valeurs moyennes les plus élevées des traits agronomiques.

Tableau 9: Cinq premiers axes de l'analyse en composantes principales des douze caractères agro-morphologiques.

Traits	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
NJF	-0.35	0.14	0.21	0.54	0.64
NJM	-0.60	0.19	0.15	0.32	-0.05
NPSF	0.12	0.47	-0.57	0.27	-0.12
BPSF	-0.57	0.21	0.33	0.03	-0.15
HP	-0.60	0.55	-0.12	-0.19	0.13
LP	-0.25	0.60	0.01	-0.52	0.13
SPAD	0.26	-0.02	0.61	0.27	-0.43
BIO	0.01	0.84	0.04	0.13	-0.25
NEP	0.65	0.49	-0.26	0.18	-0.03
PMG	0.05	0.27	0.70	-0.21	0.05
R	0.77	0.49	0.22	0.01	0.13
IR	0.84	-0.01	0.19	-0.08	0.32
Valeur propre	3.10	2.28	1.56	0.97	0.88
Pourcentage de la variance	25.89	19.08	13.02	8.15	7.358
Pourcentage cumulatif de la variance	25.89	44.97	58.00	66.15	73.50

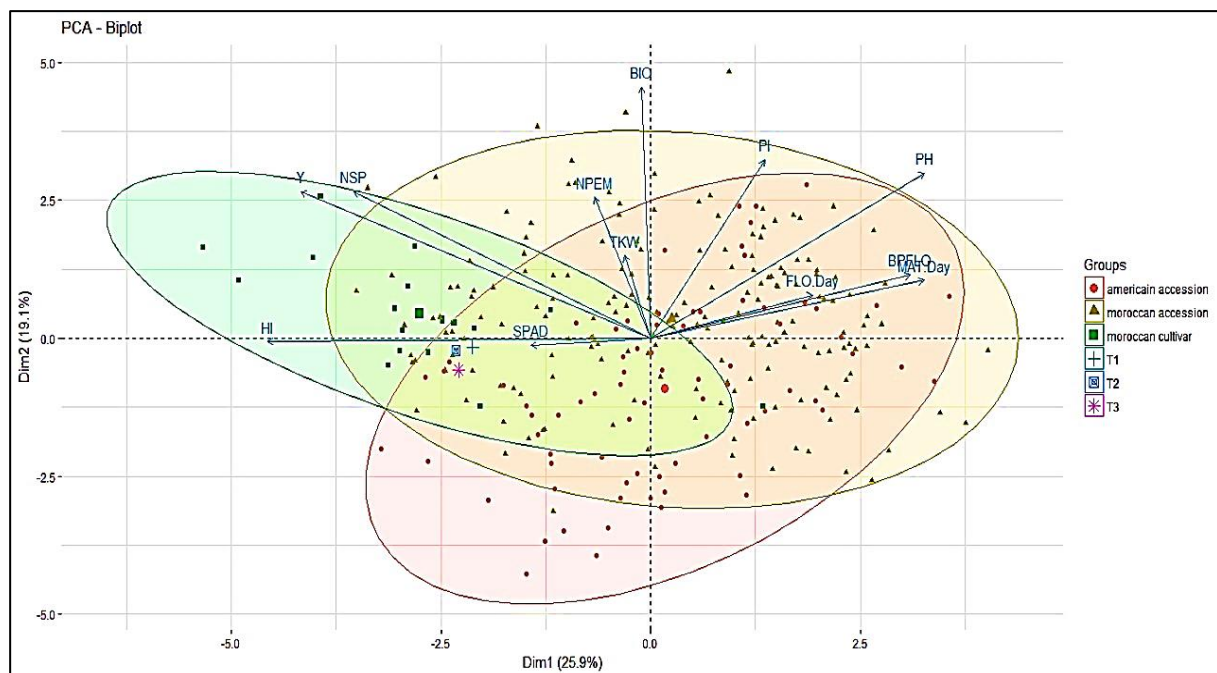


Figure 14: Biplot explique 45% de la variation totale pour 280 accessions et 3 témoins de blé dur à l'aide de 12 traits agro-morphologique.



### 2. Discussion des résultats et conclusion

L'objectif d'un programme de sélection végétale est d'améliorer les caractéristiques agronomiques et économiques de la culture (Chawade *et al.*, 2018 ; Bhargava et Srivastava, 2019). La connaissance de l'étendue de la variation et de la diversité génétiques disponibles dans le matériel génétique pourrait aider les chercheurs et les sélectionneurs à concevoir des stratégies de sélection plus efficaces pour les variétés de blé dur.

Dans la présente étude, douze caractères agro-morphologiques ont été utilisés pour la caractérisation de 280 accessions de blé dur conservées à la Banque de gènes marocaine. La présence de différences significatives ( $p < 0,05$ ) à très significatives ( $p < 0,001$ ) et un large spectre de gammes entre les valeurs moyennes maximale et minimale pour la plupart des caractères reflètent l'existence d'une large variabilité morphologique au sein des accessions. Cette variabilité offre une grande flexibilité pour le développement de variétés bien adaptées à différentes régions agroécologiques. La variabilité morphologique des accessions pourrait être attribuée à la gestion par les agriculteurs des variétés locales. En effet, les agriculteurs marocains entretiennent et produisent eux-mêmes les semences dans des champs où coexistent plusieurs cultivars. Cela favorise le flux de gènes entre eux, contribuant ainsi à la propagation de la diversité génétique. De telles observations ont été rapportées par d'autres recherches dans le germoplasme du blé dur marocain ( Zarkti et al., 2010a ; Nsarellah et al., 2011; Chentoufi et al., 2014; Sahri et al., 2014).

D'autre part, les coefficients de variation phénotypiques (CVP) étaient plus élevés que les coefficients de variation génotypiques (CVG) pour tous les traits agro-morphologiques, indiquant une influence relativement faible de l'environnement sur ces caractères (Falconer et Mackay, 1996). Les estimations du CVP et du CVG rapportées dans cette étude sont plus élevées pour les caractères liés au rendement, à savoir BIO, NEP, PMG, R et IR. Cela suggère que l'impact des facteurs environnementaux sur l'expression de ces caractères est relativement faible et que ces caractères répondent à la sélection. Des résultats similaires ont été obtenus pour le blé dur par d'autres chercheurs (Maniee *et al.*, 2009 ; Abinasa *et al.*, 2011 ; Wolde *et al.*, 2016).

Néanmoins, les coefficients de variation sont des indicateurs du niveau de variabilité qui existe entre les génotypes pour un caractère mais n'indiquent pas la partie héréditaire et non héréditaire de cette variabilité (Moll et Stuber, 1974). Selon Johnson *et al.* (1955), l'estimation de

## RESULTATS ET DISCUSSION

l'héritabilité et du progrès génétique est essentielle pour la sélection basée sur l'expression phénotypique.

Par conséquent, une héritabilité élevée combinée à un progrès génétique modéré à élevé pourrait être efficace pour la sélection basée sur des caractères morphologiques (Burton, 1952). Dans la présente étude, une héritabilité élevée ainsi qu'une avance génétique élevée ont été enregistrées pour NPSL, BPSF, SPAD et NEP. Des résultats similaires ont également été signalés par (Shankarrao *et al.*, 2010 ; Kumar *et al.*, 2016, 2017; Saleem *et al.*, 2016). Cependant, le rendement en grains a montré une estimation modérée de l'héritabilité avec une valeur relativement intermédiaire pour le progrès génétique. Tsegaye *et al* (2010), Abinasa *et al* (2011), et Wolde *et al* (2016) ont également remarqué des valeurs intermédiaires d'héritabilité au sens large et de progrès génétique pour le rendement en grains du blé dur. Ainsi, la sélection de génotypes à haut rendement sur la base du rendement en grains ne serait pas aussi efficace que la sélection de ses composants (Ehdaiel et Waines, 1989).

Dans cette étude, le rendement en grains était positivement corrélé avec BIO, NEP, PMG et IR mais négativement associé aux traits phénologiques et développementaux. Ces résultats impliquent que l'amélioration du rendement en grains pourrait être obtenue grâce à la sélection indirecte de ces caractères. Des observations similaires ont été signalées par Aghaee *et al* (2010) pour le blé dur, Ali (2007), Khan et Hassan (2017) pour le blé tendre, et Singh *et al* (2014) et Sehrawat et Khan (2017) pour l'orge.

De plus, une analyse en composantes principales a été réalisée pour étudier la structure des 280 accessions sur la base de douze caractères agro-morphologiques. Les accessions étudiées ont été regroupées en trois sous-groupes. Les premier et deuxième groupe comprennent respectivement les variétés locales marocaines de blé dur et les cultivars de blé dur d'Amérique du Nord. Les accessions de ces deux groupes ont été caractérisées par les valeurs moyennes les plus élevées des caractères morphologiques, tels que BPSF, LP et HP. Alors que le troisième groupe était formé des cultivars marocains de blé dur et des trois contrôles « Marzak », « Cariouca » et « Ourgh », caractérisés par les valeurs moyennes les plus élevées des caractères agronomiques, tels que NEP, R et IR. Des résultats similaires ont été rapportés par Zarkti *et al* (2012) pour les accessions de blé dur marocain, Sourour *et al* (2010) pour les accessions de blé dur tunisien, et Hailu *et al* (2006) et Mengistu *et al* (2016) pour les accessions de blé dur éthiopien.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Pour conclure, les résultats de cette étude ont montré une grande variabilité entre les 280 accessions de blé dur pour de nombreux caractères souhaitables, indiquant le potentiel élevé des ressources génétiques de blé dur conservées à la banque de gènes marocaine pour une amélioration efficace des cultures.

L'estimation des paramètres génétiques a révélé très peu d'influence des facteurs environnementaux sur l'expression de caractères importants qui ont entraîné de faibles différences entre les coefficients de variation phénotypiques et génotypiques.

De plus, une grande héritabilité au sens large couplée à un gain génétique attendu élevé a été observée pour plusieurs caractères. De plus, l'analyse de l'association des traits indique que le rendement en grains est fortement et positivement corrélé avec ses composants. Une amélioration par sélection directe ou indirecte est donc possible pour ces caractères.

### B. Estimation de la diversité phénotypique à l'aide des descripteurs qualitatifs et quantitatifs

#### 1. Résultats et présentation

##### a) Distribution des fréquences phénotypiques

La caractérisation phénotypique de 108 accessions de blé dur a été faite sur la base de treize descripteurs (onze qualitatifs et deux quantitatifs) repris dans le tableau 11. Les résultats de cette caractérisation sont présentés dans le tableau 10.

La distribution des fréquences phénotypiques pour la totalité de la collection et pour les trois sous-collections a dévoilé la présence d'une forte variabilité génétique entre les accessions considérées (Tableau 10).

Dans la présente recherche, pour la totalité de la collection, 62,37% des accessions ont eu une date médiane du stade épiaison. Les cultivars du Maroc et de l'Amérique du Nord ont été marqués dans l'ensemble par une date médiane, alors que les variétés locales marocaines ont fréquemment été des lignées tardives au stade épiaison.

Les plantes à moyennes et hautes hauteurs ont été les classes les plus fréquentes dans cette collection avec un pourcentage de 43,43% et 36,68% des accessions, respectivement. Pour les accessions marocaines, 80% des cultivars ont été caractérisés par une hauteur moyenne, tandis que 64,29% des variétés locales ont été très hautes. Les cultivars nord-américains ont été marqué par deux classes de la hauteur de la plante, avec des pourcentage égales (32,43%), des

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 10: Classes des traits qualitatifs et leurs pourcentages

Traits	Class	Pourcentages moyens (%)	Cultivars Nord-Américains (%)	Variétés Locales Marocaines (%)	Cultivars Marocains (%)
Date d'épiaison	Précoce	1,8	5,41	0	0
	Médiane	62,37	56,76	30,36	100
	Tardive	35,83	37,84	69,64	0
Hauteur de la plante	Trés courte	0	0	0	0
	Courte	8,4	21,62	3,57	0
	moyenne	43,43	32,43	17,86	80
	Longue	11,49	13,51	14,29	6,67
Densité d'épi	Trés longue	36,68	32,43	64,29	13,33
	Lâche	5,39	10,81	5,36	0
	Moyenne	36,5	37,84	25	46,67
Couleur d'épi	Dense	58,11	51,35	69,64	53,33
	Blanc	34,72	37,84	19,64	46,67
	Brun clair	40,83	37,84	44,64	40
Glaucescence d'épi	Brun foncé	24,46	24,32	35,71	13,33
	Wax	44,62	51,35	62,5	20
Forme d'épi	Non-wax	55,38	48,65	37,5	80
	Effillée	54,07	48,65	53,57	60
Forme du col de l'épi	Parallele	27,04	5,41	35,71	40
	Oblong	0	0	0	0
	Fusifforme	18,89	45,95	10,71	0
	Droite	53,07	51,35	67,86	40
Forme de la barbe	Moyenne/Medium	36,04	35,14	19,64	53,33
	Courbée (sinueux)	10,89	13,51	12,5	6,67
	Droite	68,4	67,57	64,29	73,33
Couleur de la barbe	Moyenne/Medium	28,31	24,32	33,93	26,67
	Courbée	3,3	8,11	1,79	0
	Blanche	4,02	5,41	0	6,67
	Brune claire	42,37	56,76	30,36	40
Altitude de la barbe	Brune foncé	14,58	13,51	3,57	26,67
	Noire	39,02	24,32	66,07	26,67
	Appressée	75,53	70,27	69,64	86,67
Pilosité de la Glume	Moyen/Medium	24,47	29,73	30,36	13,33
	Expandue	0	0	0	0
	Glabre	19,9	40,54	12,5	6,67
Couleur du grain	Moyenne/Medium	41,7	29,73	55,36	40
	Pubescente	38,4	29,73	32,14	53,33
	Blanche	37,21	21,62	50	40
	Ambre	56,81	67,57	42,86	60
Forme du grain	Rouge	5,98	10,81	7,14	0
	Ronde	0	0	0	0
	Ovate	0,6	0	1,79	0
	Oblong	91,62	83,78	91,07	100
	Ellipticale	7,79	16,22	7,14	0

## RESULTATS ET DISCUSSION

-plantes à moyennes et très hautes hauteurs.

Pour la densité de l'épi, la majorité des lignées de la collection ont été caractérisées par des épis très denses (58%), ou moyennement denses (36,5%). Où 51,35% des cultivars nord-américains et 69,64% des variétés locales ont présenté un épi dense, or la plupart des cultivars du Maroc ont montré un épi de densité moyenne (46,67%) ou dense (53,33%).

Dans le cas de la couleur d'épi, 40,83% des accessions de cette collection ont eu la couleur "Brun clair" et 34,72% avec la couleur "blanc". Les classes d'épis "blanc" et "brun clair" ont été plus fréquentes chez les cultivars marocains et les cultivars nord-américaines, tandis que les classes "brun clair" et "brun foncé" ont été les couleurs les plus dominantes dans les variétés locales marocaines.

Concernant la glaucescence d'épi, la classe à épi cireux et non-cireux ont eu à peu près le même pourcentage de présence au sein de cette collection, la même distribution a aussi été observée chez les accessions nord-américaines. De plus, 62,5% des races locales ont eu des épis cireuses et 80% des cultivars marocains ont été distingués par des épis non-cireuses.

Pour le classement de la dominance de la forme d'épi, la forme effilée a été la classe la plus fréquente dans cette étude, suivie par la forme parallèle, puis la forme effilée. Pour les épis des accessions américaines, les formes "effilée" et "fusiforme" ont été présentes avec, approximativement, la même fréquence. Dans le cas des accessions marocains, cultivars et races locales, les formes "effilée" et "parallèle" ont été les classes les plus dominantes.

Pour la forme du col d'épi, les cultivars de l'Amérique du Nord et les variétés locales ont en grande partie été caractérisés par la sorte droite, or les cultivars marocains ont en majorité distingués par la forme courbée. Néanmoins, la forme droite a été la classe la plus abondante dans la collection.

En outre, la plupart des accessions de cette collection ont eu une barbe à forme droite avec une attitude appressées. Pour la couleur de la barbe, les classes les plus répandues dans cette collection ont été les couleurs "marron clair" et "noir". La barbe à couleur "Marron clair" a été prédominante dans les cultivars américains et marocains, mais dans les variétés locales, la couleur noire qui a été dominante.

En ce qui concerne la distribution de la pilosité de la glume, la collection a montré les trois classes de pilosités, avec des pourcentages différents et décroissants. Les glumes glabres ont été la classe la plus abondante dans les cultivars d'Amérique du Nord, Tandis que la plupart

## RESULTATS ET DISCUSSION

des cultivars marocains ont été avec des glumes "poilue" ou "moyenne". Les variétés locales ont eu la même distribution de cette collection du point de vue de ce trait.

Pour les deux caractéristiques du grain, la couleur la plus répandue a été la classe "ambre", suivie par des grains de couleur blanche, tandis que la couleur rouge était peu fréquente. Pour les accessions américaines et les cultivars marocains, la couleur d'orée du grain a été la classe la plus commune. Alors que les grains de couleur blanche et ambre ont été les classes les plus fréquentes pour les variétés locales. De plus, la forme oblongue a été la plus dominante dans ces grains étudiés.

### b) Estimation de la diversité génétique : Indice de Shannon Weaver

L'indice de Shannon Weaver est employé pour estimer la diversité génétique existée entre les accessions de blé dur de la présente collection. L'évaluation des indices de diversité génétiques pour toutes les caractéristiques phénotypiques considérés est présentée dans le tableau 11.

Une grande diversité génétique a été observée dans cette collection. Les valeurs les plus hautes de  $H'$  ont été mises en évidence chez les cultivars américains et chez les variétés locales (Tableau 11), ainsi que ces  $H'$  ont été supérieur à 0,50 pour tous les caractères sauf la forme du grain.

Tableau 11: Evaluation de la diversité génétique ( $H'$ ) pour toutes les accessions et pour chaque sous-collection.

Traits	Valeurs $H'$ Pour Tous Accessions	Valeurs $H'$ Pour Cultivars Nord-Américains	Valeurs $H'$ Pour Variétés Locales Marocaines	$H'$ Value For Cultivars Marocains
Date d'épiaison	0,44	0,77	0,56	0
Hauteur de la plante	0,61	0,83	0,61	0,39
Densité d'épi	0,73	0,87	0,69	0,63
Couleur d'épi	0,95	0,98	0,95	0,9
Cirosité d'épi	0,89	0,99	0,95	0,72
Forme d'épi	0,60	0,62	0,68	0,49
Forme de la barbe	0,64	0,74	0,66	0,53
Forme du col d'épi	0,82	0,89	0,77	0,8
Couleur de la barbe	0,75	0,79	0,54	0,9
Attitude de la barbe	0,49	0,55	0,56	0,36
Pubescence de la glume	0,89	0,99	0,87	0,8
Couleur du grain	0,73	0,76	0,82	0,61
Forme du grain	0,19	0,32	0,25	0
Moyenne	0,67	0,77	0,68	0,55
$\pm$ ES	0,2	0,19	0,19	0,3

Dans cette étude, pour toutes les accessions, les indices de  $H'$  des treize caractères étudiés sont compris entre 0,19 pour la forme du grain et 0,95 pour la couleur d'épi, avec une moyenne de

## RESULTATS ET DISCUSSION

0,67 (ES  $\pm$  0,2). En plus, la majorité des caractéristiques phénotypiques ont été caractérisés par des indices de diversité élevés ( $H' > 0,5$ ), sauf la date d'épiaison, l'attitude de la barbe et de la forme du grain ( $H' < 0,5$ ).

En outre, pour les cultivars nord-américains, l'indice moyen  $H'$  a été de 0,77 (ES  $\pm$  0,19), les valeurs limites sont comprises entre 0,99 pour la glaucescence d'épi et la pubescence de la glume et 0,32 pour la forme du grain (Tableau 11). Les valeurs de l'indice  $H'$  pour les variétés locales ont été varié entre 0,25 pour la forme du grain et 0,95 pour la couleur et la glaucescence d'épi, avec une moyenne de 0,68 (SE  $\pm$  0,19). Dans le cas des cultivars Marocains, la valeur la plus élevée de  $H'$  a été enregistrée par la couleur d'épi et la couleur du grain (0,9), la valeur la plus faible a été observée chez la date d'épiaison et la forme du grain.

### c) Estimation de la diversité génique : Indices de diversité génique de Nei's

Les paramètres utilisés pour l'estimation de la diversité génique dans cette étude étaient la diversité génique totale ( $H_t$ ), la diversité génique au sein de la population ( $H_s$ ), et le coefficient de diversité génique ( $G_s$ ). Les résultats de ces indices sont fournis dans le tableau 12.

Tableau 12: Valeurs de la diversité génique totale ( $H_t$ ), de la diversité génique au sein de la population ( $H_s$ ), et le coefficient de diversité génique ( $G_s$ ).

Traits	$H_s$	$H_t$	$G_s$
Date d'épiaison	0,3182	0,4823	0,3402
Hauteur de la plante	0,5319	0,6566	0,1899
Densité d'épi	0,5096	0,5262	0,0315
Couleur d'épi	0,6312	0,6530	0,0334
Cirosité d'épi	0,4295	0,4942	0,1310
Forme d'épi	0,5344	0,5988	0,1075
Forme de la barbe	0,4467	0,4510	0,0095
Forme du col d'épi	0,5437	0,5766	0,0571
Couleur de la barbe	0,5870	0,6453	0,0904
Attitude de la barbe	0,3573	0,3697	0,0336
Pubescence de la glume	0,5949	0,6391	0,0692
Couleur du grain	0,5088	0,5353	0,0495
Forme du grain	0,1456	0,1545	0,0574
Moyenne	0,47	0,52	0,09
$\pm$ SE	0,13	0,14	0,09

(\*)  $H_s$  : diversité génique intra-population ;  $H_t$  : diversité génique totale ;  $G_s$  : coefficient de différenciation des gènes ; SE : erreur standard.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les valeurs de la diversité génétique totale ( $H_t$ ) ont varié entre 0,1545 pour la forme des grains et 0,6566 pour la hauteur des plantes, avec une moyenne de 0,52 ( $SE \pm 0,13$ ). La diversité génétique au sein de la population ( $H_s$ ) a eu une moyenne de 0,47 ( $SE \pm 0,13$ ), la valeur la plus élevée de  $H_s$  a été enregistré par la couleur de l'épi (0,6312), la valeur la plus petite a été révélée chez la forme du grain (0,1456). Pour le coefficient de diversité génétique ( $G_{st}$ ), les valeurs ont oscillé entre 0,3402 pour la date d'épiaison et 0,0095 pour la forme de la barbe. Ce coefficient a contribué à la diversité totale par une moyenne de 0,09 ( $SE \pm 0,09$ ) (Tableau 12).

### d) Analyse de correspondances multiples

L'analyse des correspondances multiples (ACM) a été utilisée pour étudier la distribution et la structure de la collection à travers les traits analysés, ainsi que d'évaluer la variabilité génétique totale. La figure 15 présente la distribution des accessions de la collection et la variabilité génétique totale, y compris trois contrôles "Marzak", "Cariouca" et "Ourgh", en utilisant les treize traits étudiés.

Dans la présente étude, l'ACM représentait 19,31% de la variation totale, où le premier axe (Dim 1) exprimait 11,05% de la variation totale contre 8,26% pour le deuxième axe (Dim 2) (Figure 15).

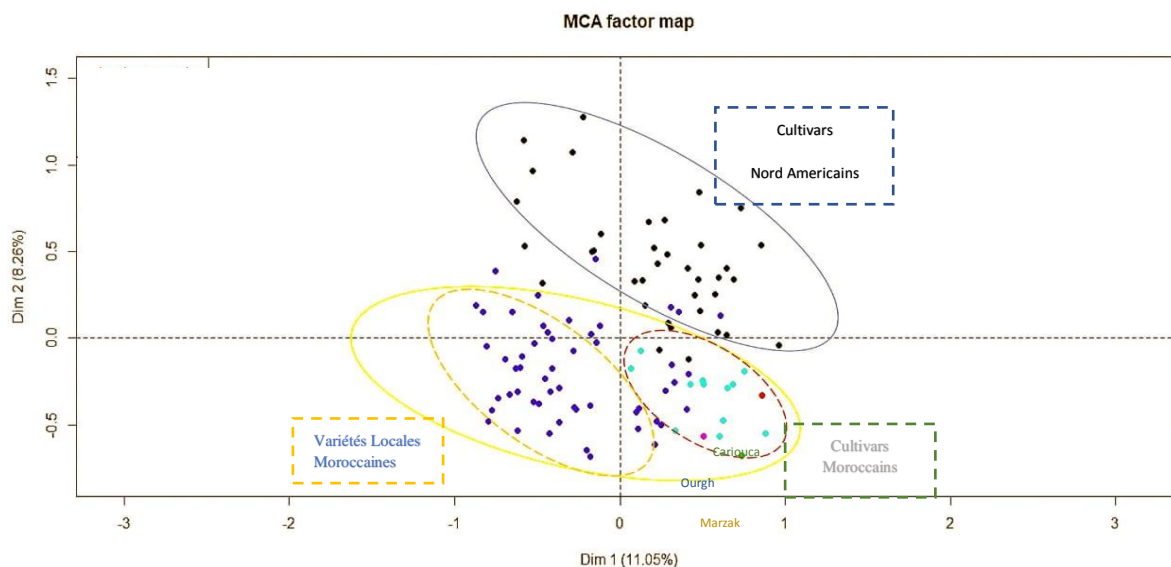


Figure 15: Distribution de 108 accessions de blé dur, au moyen d'une analyse de correspondances multiples et de treize caractères.

De plus, selon la figure 15, l'axe 1 a distribué les 108 accessions en deux grands groupes, le premier groupe a englobé les cultivars nord-américains, tandis que le second groupe a ragroupé les accessions d'origine marocaine : variétés locales et cultivars. En revanche, l'axe 2 a séparé



les cultivars de variétés locales, les cultivars témoins "Marzak", "Cariouca" et "Ourgh" ont été isolés dans le groupe des cultivars marocains.

### 2. Discussion des résultats et conclusion

Les descripteurs phénotypiques sont des outils efficaces pour estimer la diversité génétique du blé et de bonnes alternatives aux marqueurs moléculaires (Al Khanjari *et al.*, 2008 ; Hailu *et al.*, 2010). L'analyse de la diversité phénotypique est une approche préliminaire et fondamentale pour les programmes de sélection, car elle permet aux sélectionneurs, d'une part, de connaître l'importance de la variabilité génétique entre les génotypes et d'autres données supplémentaires concernant la description morphologique du matériel végétal étudié (Frankel *et al.*, 1995), d'autre part, d'exploiter la variabilité génétique disponible pour améliorer le rendement et la qualité en cas de déficit.

En effet, le Maroc est un gros consommateur de blé avec une consommation moyenne de 220 kg / habitant / an, dont la plus grande quantité est importée, de même que les importations de blé tendre et de blé dur coûtent au Maroc une somme importante en devises chaque année. Cependant, malgré le grand effort des programmes de sélection marocains pour réduire la dépendance des importations de blé pour répondre à ses besoins de consommation, le pays est pourtant classé parmi les six premiers pays importateurs de blé dur au monde (IGC, 2017), et les principaux exportateurs sont les états unis et le Canada car leur blé dur répond aux normes des industries de transformation modernes du pays. A cet fin, le travail de recherche de la présente étude est orienté dans ce sens, il s'agit en effet de caractériser et d'évaluer la diversité phénotypique présente dans une collection de variétés locales et de cultivars de blé dur maintenues ex-situ dans la banque de gènes nationale afin de contribuer à la caractérisation et l'évaluation des ressources génétiques dont les programmes de sélection ont besoin pour développer de nouvelles variétés répondant aux exigences de la situation actuelle du pays. Les accessions étudiées ici étaient composées des variétés locales et des cultivars du Maroc, en tant que source de gènes locaux, et des cultivars des États-Unis et du Canada, en tant que source de gènes contrôlant le rendement et la qualité acceptés par l'industrie marocaine de transformation moderne du blé.

Dans l'ensemble, sur la base de la distribution des fréquences, une forte diversité phénotypique a été observée entre ces accessions de blé dur stockées. Ce résultat est en accord avec ceux de Zarkti *et al* (2010a, b, 2012) et Cheg dali *et al* (2020) en termes de diversité agro-

## RESULTATS ET DISCUSSION

morphologique, moléculaire et biochimique sur les accessions d'une même banque de gènes. Cela implique l'importance de la diversité des ressources phyto-génétiques conservées et le rôle qui peut jouer ces ressources dans la réussite des programmes locaux de sélection chargés de développer de nouvelles variétés de haut rendement et de bonne qualité répondant aux attentes des consommateurs locaux.

De même, sur la base de la répartition des pourcentages, la date d'épiaison pour la collection a été affectée par l'effet de la précocité moyenne des cultivars marocains et par la date tardive des variétés locales. Ce résultat est en accord avec celui trouvé par Nassif et Mahdi (2002) et par Taghouti *et al* (2017).

Dans le cas de la classification de la hauteur de la plante, les accessions à hauteur moyenne ont été plus communes pour les cultivars marocains et les accessions de hautes hauteurs ont été plus fréquentes dans les variétés locales. La même conclusion a été notée par Taghouti *et al* (2017), qui ont constaté que la hauteur de la plante diminue des cultivars anciens aux cultivars modernes. Ceci pourrait être expliqué par l'effet de la sélection. D'autre part, les cultivars nord-américains ont été caractérisés par la présence de plantes moyennes à hautes.

Concernant les descripteurs qualitatifs de l'épi, la densité, la couleur, la forme et la glaucescence ont énormément contribué à la forte diversité trouvée entre ces ressources étudiées.

La densité d'épi est considérée comme un caractère de sélection important pour les programmes d'amélioration des plantes (Evans, 1981), et un trait discriminant dans l'analyse de la diversité (Pecetti *et al.*, 1992). Dans la présente étude, la plupart des accessions ont été marquées par des épis de densité moyenne à dense. Ce résultat découle de l'effet de sélection effectué par les paysans traditionnels ou les sélectionneurs lors de la domestication et de l'amélioration. Ce résultat peut être intéressant pour les programmes d'amélioration visant à créer de nouvelles variétés prometteuses.

Les épis des cultivars ont tous été distingués par une couleur "blanc" ou "marron clair", les épis des races locales ont été caractérisés par une couleur "brun clair" et "brun foncé". Pour la forme d'épi, la forme effilée a été la classe la plus fréquente dans les races locales et les cultivars marocains. Des résultats similaires ont été trouvés dans études menées en Afrique du Nord (Zarkti *et al.*, 2012 ; Othmani *et al.*, 2015) . Les cultivars nord-américains ont présenté l'abondance de la classe "effilée" et "fusiforme". Ces deux formes ont également été

## RESULTATS ET DISCUSSION

enregistrées pour un nombre important de variétés cultivées aux États-Unis (Clark et Bayles, 1939).

Dans le cas de la couleur de la barbe, les variétés locales ont été caractérisées, en général, par une couleur noire. Ce résultat est en concordance avec celui de Sahri *et al* (2014). Ce type de barbe se rencontre habituellement chez les variétés de blé qui se cultivent sur les montagnes de l'Atlas. De plus, Jain *et al* (1975) ont confirmé que la barbe noire prédominait dans le sud-ouest de l'Europe et en Afrique du Nord, tandis que la couleur non-noire était largement présente dans les autres origines. La plupart des cultivars, marocains et nord-américains, ont été distingués par la couleur "marron clair".

Selon McIntosh (1988), la pilosité de la glume est un trait dominant héréditaire monogénique. Ceci le rend un descripteur important pour la sélection. Dans la présente investigation, ce descripteur a été très-varié pour la collection, notamment chez les variétés locales. En effet, certaines accessions ont été caractérisées avec une légère dominance par des glumes poilues, d'autres ont eu des glumes non-poilues, les glumes glabres ont été très rares. Ce résultat contraste avec des études antérieures, certaines ont rapporté la dominance de la glume poilue (Eticha *et al.*, 2005 ; Al Khanjari *et al.*, 2008 ; Bekele, 2008), alors que d'autres ont trouvé la dominance des glumes glabres (Bechere *et al.*, 1996; Hailu *et al.*, 2010; Mengistu *et al.*, 2015).

Quant à la couleur du grain, le grain d'ambre était la sorte la plus courante entre les cultivars nord-américains et marocains, tandis que les variétés locales étaient marquées, à la fois, par des grains blancs ou ambrés. Ce résultat est en accord avec (Reoprt Crop Quality, 2019), qui ont reporté que le blé dur est en grande partie de couleur ambre. Mais il s'oppose avec le résultat de Mengistu *et al* (2015), qui ont signalé que la couleur ambre est très rare. La majorité des grains étudiés dans cette collection étaient de forme oblongue. Cela implique que ce trait qualitatif est monomorphe, ceci est probablement due à la pression de sélection appliquée, de sorte que leur utilisation dans la sélection ne serait pas utile pour la présente étude. Cette constatation a également été confirmée par Hailu *et al* (2010), qui ont signalé que le monomorphisme des accessions et le rétrécissement de la diversité génétique pourraient probablement être dus à l'effet de l'intervention humaine. De plus, Bayles et Clarck (1949) ont signalé que la forme du grain n'avait pas une grande importance dans la classification.

L'estimation de l'étendue de la diversité génétique sur la base de l'indice de Shannon Weaver (H') a été faite dans plusieurs études antérieures (Al Khanjari *et al.*, 2008 ; Hailu *et al.*, 2010; Sahri *et al.*, 2014 ; Mengistu *et al.*, 2015 ; Bouhaouel *et al.*, 2019). Notre étude a également

adopté cet indice pour évaluer la diversité phénotypique entre les génotypes. Et, ce dernier a révélé un indice de diversité moyen de 0,66, impliquant une diversité phénotypique relativement élevée.

De même, les variétés locales ont démontré un indice de diversité moyen de 0,68, qui a été supérieur à celui trouvé par Jaradat (1992), Sahri *et al* (2014), et Belhadj *et al* (2015), mais inférieur à celui observé dans les études de Jain *et al* (1975), Sourour *et al* (2010), Chentoufi *et al* (2014), Mengistu *et al* (2015), et Amallah *et al* (2015). Ceci explique la forte diversité génétique qui y existe entre les variétés locales de blé dur maintenue dans la conservation ex-situ. Des résultats similaires ont été observés dans des collections de blé dur d'origines marocaines (Zarkti *et al.*, 2012 ; Chentoufi *et al.*, 2014 ; Sahri *et al.*, 2014a et b ; Amallah *et al.*, 2015). Selon Ramdani *et al* (2014) et Taghouti *et al* (2017), cette forte diversité génétique en blé dur est due à la diversité du climat du Maroc et des terres où se cultivent ces génotypes. Ce résultat confirme également que le Maroc est un centre diversité pour le blé dur.

Pour les cultivars d'Amérique du Nord (Canada et USA), selon l'indice  $H'$  obtenu, une grande diversité génétique a été révélée. Cette forte différence entre ces génotypes provient de la différence des origines des cultivars en termes de pays et de provinces, c'est-à-dire la différence de position géographique de l'origine de ces cultivars et du site de culture. Ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Mengistu *et al* (2015) et Bechere *et al* (1996), qui ont conclu que la diversité phénotypique varie en fonction de l'altitude et de l'origine où ces génotypes sont cultivés.

Concernant l'estimation de la diversité génique, les paramètres  $H_t$  et  $H_s$  ont dévoilé une diversité significative en gènes, similaire à celle observée par Hailu *et al* (2010). D'autre part, la contribution du coefficient  $G_{st}$  à la diversité génique totale était modérée. Ce taux de contribution était significatif par rapport à celui trouvé par Hailu *et al* (2010).

L'analyse des correspondances multiples explique 19,31% de la variabilité totale. Ce résultat indique une variation significative entre les accessions de la collection et la possibilité de sélection. Aussi, cette analyse nous a permis de distinguer les cultivars nord-américains des génotypes marocains du point de vue des caractéristiques phénotypiques étudiées. Ce résultat a également été observé dans l'étude de Jain *et al* (1975), qui a démontré une distance génétique considérable, dans une collection mondiale de blé dur, entre les génotypes d'Amérique du Nord et du Maroc. Pour le cas de la structure de distribution des variétés locales et des cultivars

marocains, Chentoufi *et al* (2014) ont observé la même distribution dans une collection composée de variétés traditionnelles et modernes de blé dur.

Pour conclure, les résultats de ce chapitre ont montré une diversité phénotypique importante entre les accessions. L'estimation de la diversité à l'aide de l'indice de diversité moyen H' a révélé des indices très élevés pour tous les traits qualitatifs étudiés, sauf la forme du grain. Pour les sélectionneurs, la sélection sur la base de ces caractéristiques phénotypiques pourrait être considérée intéressante. De plus, selon l'indice de diversité moyen H', les données ont montré que les cultivars nord-américains et les variétés locales ont été plus divers que les cultivars marocains, indiquant l'importance de la diversité phénotypique de ces accessions. Par ailleurs, l'analyse des correspondances multiples a également révélé une variation totale significative, a séparé les entrées nord-américaines des accessions marocaines, tout en isolant, également, les cultivars marocains des variétés locales.

### C. Evaluation de la diversité des sous-unités de la gluténine

#### 1. Résultats et présentation

##### a) Variabilité pour des sous-unités de gluténine de haut poids moléculaire (HMW-Gs)

La détermination des allèles HMW-Gs à l'aide de SDS-PAGE a été effectuée pour tous les génotypes de la collection (variétés locales marocaines et cultivars du Maroc et d'Amérique du Nord). Le tableau 13 montre les fréquences de chaque allèle pour tous les génotypes de la collection et pour les trois groupes des accessions. Sur la figure 16, il est montré le HMW-GS des accessions représentatives de la variabilité trouvée pour chaque sous-collection.

Pour *Glu-A1*, deux allèles ont été détectés dans la collection : l'allèle nul (*Glu-A1c*), qui a été présenté dans la grande majorité des matériaux analysés, et l'allèle *Glu-A1a* (sous-unité 1), qui n'a été présent que dans la variété locale avec un nom inconnu (MGB-16563).

D'autre part, le locus *Glu-B1* a montré un plus grand niveau de polymorphisme et sept allèles différents ont été détectés. Dans le groupe des variétés locales, quatre allèles communs ont été trouvés pour ce locus : *Glu-B1b* (sous-unités 7+8), *Glu-B1d* (sous-unités 6+8), *Glu-B1e* (sous-unités 20x+20y), *Glu-B1f* (sous-unités 13+16). En outre, il y avait un grand pourcentage (38,5%) des accessions dans ce groupe qui ont montré l'allèle *Glu-B1aq* (sous-unités 32+33) (Figure 16-I, pistes L et M), qui est un allèle rare décrit dans les variétés locales de blé dur algérien par Cherdouh *et al* (2005). En plus de cela, deux variétés locales (MGB-2963 et MGB-

## RESULTATS ET DISCUSSION

3152) ont montré un nouvel allèle que nous proposons de le nommer *Glu-B1co* suivant l'ordre du catalogue de gènes de blé McIntosh *et al* (2011) et une publication récente sur le même sujet (Alvarez et Guzmán, 2019). Ce nouvel allèle est représenté par la nouvelle combinaison de sous-unités 20+22\* (Figure 16-I, piste F). La sous-unité 22\* est une sous-unité rare qui a été décrite par Hernández-Espinosa *et al* (2019) et qui montre une mobilité légèrement inférieure à celle de la sous-unité 22 décrite dans le cultivar de blé tendre 'Wilbur' (Figure 16-I, piste E).

De plus, dans les cultivars de blé dur marocain, quatre allèles ont été identifiés : *Glu-B1b* (sous-unités 7+8), *Glu-B1d* (sous-unités 6+8), *Glu-B1e* (sous-unités 20x+20y), *Glu-B1f* (sous-unités 13+16) et à nouveau le rare *Glu-B1aq* (sous-unités 32+33), qui dans ce cas a été présent dans deux cultivars. La plupart des cultivars modernes d'Amérique du Nord ont montré les allèles *Glu-B1b*, *Glu-B1d* et *Glu-B1e*. Dans ce groupe, une accession (MGB-66023) a montré une nouvelle sous-unité qui n'a pas été décrite précédemment, qui a été caractérisée par une mobilité légèrement plus élevée que la sous-unité 20x (présente dans le cultivar de blé tendre de référence 'Shan 229') (Figure 16 -III, pistes D et E). Nous avons provisoirement nommé cette nouvelle sous-unité 20\* et le nouvel allèle *Glu-B1cp*. En outre, deux accessions (MGB-66071 et MGB-66079) ont montré les sous-unités inattendues 5+10 (Figure 16-III, piste I), qui sont codées par le locus *Glu-D1* du chromosome 1D du blé tendre. Le reste du profil de la gluténine de ces deux lignées correspondait au blé dur ainsi qu'à d'autres caractères qui ont été examinés tels que la couleur et la dureté des grains, confirmant qu'il s'agit de blé dur et non de blé tendre.

Tableau 13: Fréquence allélique pour chaque locus de HMW-Gs dans les matériaux analysés.

HMW-GS	Total		Variétés locales		Cultivars marocains		Cultivars nord-américains	
	N (95)	%	N (52)	%	N (14)	%	N (29)	%
<b>Glu-A1</b>								
<i>a</i> (1)	1	1,1	1	1,9	-	-	-	-
<i>c</i> (Null)	94	98,9	51	98,1	14	100	29	100
<b>Glu-B1</b>								
<i>b</i> (7+8)	17	17,9	5	13,5	6	42,9	4	13,8
<i>d</i> (6+8)	27	28,4	7	9,6	3	21,4	19	65,5
<i>e</i> (20 +20)	25	26,3	17	32,7	3	21,4	5	17,2
<i>f</i> (13+16)	1	1,1	1	1,9	-	-	-	-
<i>aq</i> (32+33)	22	23,2	20	38,5	2	14,3	-	-
<i>co</i> (20+22*)	2	2,1	2	3,8	-	-	-	-
<i>cp</i> (20*)	1	1,1	-	-	-	-	1	3,4
<b>Glu-D1</b>								
<i>d</i> (5+10)	2	2,1	-	-	-	-	2	6,9

## RESULTATS ET DISCUSSION

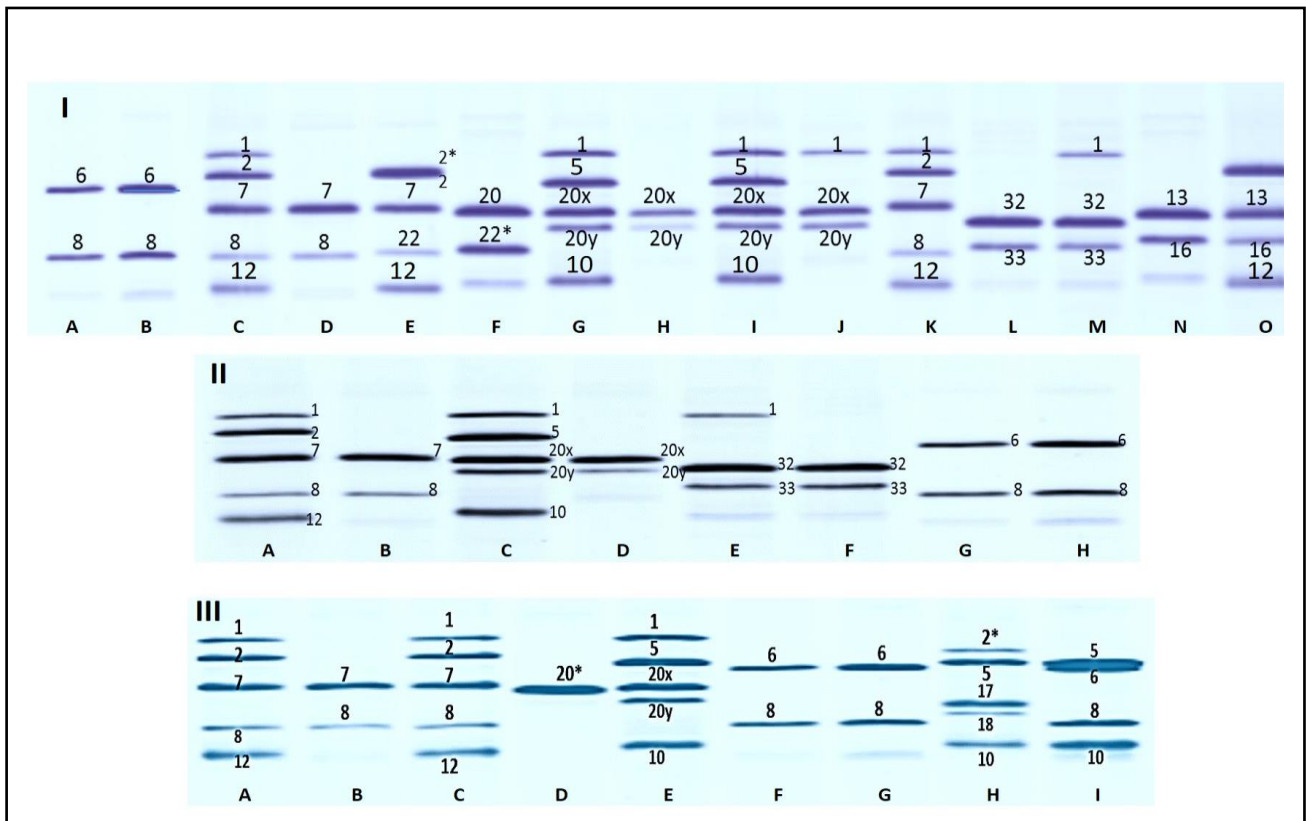


Figure 16: Composition de HMW-Gs observée dans une collection de blé dur. **I, Variétés locales.** Les pistes sont les suivantes : **A**, ‘Langdon’ (Glu-B1 6+8); **B**, MGB-9327 (Glu-B1 6+8); **C and K**, ‘Pitic’ (Glu-A1 1, Glu-B1 7+8, Glu-D1 2+12); **D**, MGB-9404 (Glu-B1 7+8); **E**, ‘Wilbur’ (Glu-A1 2\*, Glu-B1 7+22, Glu-D1 2+12); **F**, MGB-2963 (Glu-B1 20+22\*); **G and I**, ‘Shan 229’ (Glu-A1 1, Glu-B1 20x+20y, Glu-D1 5+10); **H**, MGB-3082 (Glu-B1 20x+20y); **J**, MGB-16563 (Glu-A1 1, Glu-B1 20x20y); **L**, MGB-3003 (Glu-B1 32+33); **M**, CI-12213 (Glu-A1 1, Glu-B1 32+33); **N**, MGB-5963 (Glu-B1 13+16); **O**, ‘Opata’ (Glu-A1 2\*, Glu-B1 13+16, Glu-D1 2+12). **II, Cultivars marocains.** Les pistes sont les suivantes : **A**, ‘Pitic’ (Glu-A1 1, Glu-B1 7+8, Glu-D1 2+12); **B**, MGB-20 (Glu-B1 7+8); **C**, ‘Shan 229’ (Glu-A1 1, Glu-B1 20x+20y, Glu-D1 5+10); **D**, MGB-32 (Glu-B1 20x+20y); **E**, CI-12213 (Glu-A1 1, Glu-B1 32+33); **F**, MGB-33 (Glu-B1 32+33); **G**, ‘Langdon’ (Glu-B1 6+8); **H**, MGB-34 (Glu-B1 6+8). **III, Cultivars nord-américains.** Les pistes sont les suivantes: **A and C**, ‘Pitic’ (Glu-A1 1, Glu-B1 7+8, Glu-D1 2+12); **B**, MGB-66092 (Glu-B1 7+8); **D**, MGB-66023 (Glu-B1 20\*); **E**, ‘Shan 229’ (Glu-A1 1, Glu-B1 20x+20y, Glu-D1 5+10); **F**, ‘Langdon’ (Glu-B1 6+8); **G**, MGB-66049 (Glu-B1 6+8); **H**, Pavon (Glu-A1 2\*, Glu-B1 17+18, Glu-D1 5+10); **I**, MGB-66079 (Glu-B1 6+8, Glu-D1 5+10).

### b) Variabilité pour des sous unités de glutéine de faible poids moléculaire (LMW-Gs)

La variabilité pour LMW-GS a également été analysée par SDS-PAGE. Au total, 21 allèles différents ont été détectés dans l’ensemble : huit pour *Glu-A3*, dix pour *Glu-B3* et trois pour *Glu-B2*. Comme cela a été fait pour le HMW-GS, la fréquence des allèles pour chaque locus

## RESULTATS ET DISCUSSION

est indiquée dans le tableau 14. La figure 17 (I et II) représente les patterns les plus représentatifs des LMW-GS dans ces matériaux.

Les variétés locales marocaines ont montré respectivement six, neuf et trois allèles aux locus *Glu-A3*, *Glu-B3* et *Glu-B2*. Pour le locus *Glu-A3*, la moitié du groupe a présenté l'allèle *Glu-A3e* (sous-unité 11), et plus d'un quart a eu l'allèle *Glu-A3a* (sous-unité 6). Les allèles *Glu-A3b* (sous-unité 5), *Glu-A3h* (nul) et *Glu-A3d* (sous-unités 6+11) ont été présents dans six, quatre et une accessions, respectivement. Une accession (MGB-16563) a eu la sous-unité 20 pour ce locus (Figure 17-I, piste H). Ce cas a également été décrit par Ruiz *et al* (2018) dans les matériaux de blé dur espagnol. Nous proposons provisoirement de nommer cet allèle *Glu-A3bb*. Au locus *Glu-B3*, dix allèles différents ont été trouvés dans ce groupe, étant l'allèle *Glu-B3a* le plus fréquent (sous-unité 6), qui a été présent dans 76,9% des variétés locales. Parmi les autres allèles *Glu-B3* trouvés dans ce groupe, l'allèle rare *Glu-B3ah* (sous-unités 8+9+16) décrit par Hernández-Espinosa *et al* (2019) a été trouvé. Une autre accession a montré la combinaison des sous-unités 2+4+8+15+19 (Figure 17-I, piste I), qui a également été décrite par Ruiz *et al* (2018). Nous proposons de nommer cet allèle *Glu-B3aq*. En plus de cela, cinq nouvelles combinaisons de sous-unités non signalées précédemment dans la littérature ont été trouvées dans ce groupe, que nous proposons provisoirement de les nommer comme il est indiqué entre parenthèses pour chaque combinaison de sous-unités: 1+3+7+15+18 (*Glu-B3ar*) (Figure 17-I, piste H), 1+3+8+13+16+19 (*Glu-B3as*) (Figure 17-I, piste F), 2 + 4 + 17 (*Glu-B3at*) (Figure 16-I, piste O), 2+4+7+15+19 (*Glu-B3au*) (Figure 17-I, piste T) et 9+13+16 (*Glu-B3av*). Pour le locus *Glu-B2*, trois allèles ont été trouvés : *Glu-B2a* (sous-unité 12) et *Glu-B2b* (nul) ont été observés avec une fréquence similaire, et un nouvel allèle provisoire a été présent dans la variété locale 'MGB-3125'. Cet allèle a présenté une sous-unité avec une mobilité légèrement plus élevée (Figure 17-I, piste O) que la sous-unité 12 du contrôle 'Cocorit' et une mobilité légèrement inférieure à la sous-unité 13 trouvée dans 'Fanfarron' (Figure 16-I, piste K). Nous proposons de nommer cette sous-unité 12.1 et l'allèle *Glu-B2d* selon l'ordre suivi dans le catalogue des gènes de blé.



RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 14:Fréquence allélique pour chaque locus de LMW-Gs dans les matériaux analysés.

LMW-GS	Total		Variétés locales		Cultivars marocains		Cultivars nord-américains	
	N (95)	%	N (52)	%	N (14)	%	N (29)	%
<b>Glu A3</b>								
<i>a</i> (6)	40	42,1	14	26,9	6	42,9	20	69
<i>b</i> (5)	10	10,5	6	11,5	2	14,3	2	6,9
<i>c</i> (6+10)	6	6,3	-	-	1	7,1	5	17,2
<i>d</i> (6+11)	3	3,2	1	1,9	-	-	2	6,9
<i>e</i> (11)	30	31,6	26	50	4	28,6	-	-
<i>h</i> (null)	4	4,2	4	7,7	-	-	-	-
<i>bb</i> (20)	1	1,1	1	1,9	-	-	-	-
<i>bc</i> (5**)	1	1,1	-	-	1	7,1	-	-
<b>Glu B3</b>								
<i>a</i> (2+4+15+19)	77	81,1	40	76,9	11	78,6	26	89,7
<i>b</i> (8+9+13+16)	4	4,2	3	5,8	-	-	1	3,4
<i>f</i> (2+4+15+17)	1	1,1	-	-	-	-	1	3,4
<i>ah</i> (8+9+16)	6	6,3	2	3,8	3	12,4	1	3,4
<i>aq</i> (2+4+8+15+19)	2	2,1	2	3,8	-	-	-	-
<i>ar</i> (1+3+7+15+18)	1	1,1	1	1,9	-	-	-	-
<i>as</i> (1+3+8+13+16+19)	1	1,1	1	1,9	-	-	-	-
<i>at</i> (2+4+17)	1	1,1	1	1,9	-	-	-	-
<i>au</i> (2+4+7+15+19)	1	1,1	1	1,9	-	-	-	-
<i>av</i> (9+13+16)	1	1,1	1	1,9	-	-	-	-
<b>Glu B2</b>								
<i>a</i> (12)	59	62,1	26	50	12	85,7	21	72,4
<i>b</i> (Null)	35	36,8	25	48,1	2	14,3	8	27,6
<i>d</i> (12,1)	1	1,1	1	1,9	6	42,9	-	-

Le groupe de cultivars marocains a montré cinq allèles au locus *Glu-A3*, tels que *Glu-A3a* et *Glu-A3e*, qui ont été les allèles les plus fréquents à ce locus (Tableau 14). Une accession (MGB-20) a montré une nouvelle sous-unité que nous avons provisoirement nommée 5\*\*. Cette sous-unité a une mobilité légèrement plus élevée que la sous-unité 5 présente dans le contrôle 'Fanfarron' (Figure 16-II, pistes A et B). Nous proposons de nommer provisoirement cet allèle *Glu-A3bc*. Pour le locus *Glu-B3*, *Glu-B3a* a été l'allèle le plus fréquent, tandis que trois cultivars ont présenté l'allèle *Glu-B3ah*. Au locus *Glu-B2*, l'allèle *Glu-B2a* a été plus fréquent que l'allèle *Glu-B2b*, ce qui a été le même cas dans le groupe de cultivars d'Amérique du Nord. Ce dernier groupe n'a montré aucun nouvel allèle pour le locus *Glu-A3*. Pour le *Glu-B3*, une accession de ce groupe (8981-GM2-I) a montré le nouvel allèle *ah* décrit précédemment.

## RESULTATS ET DISCUSSION

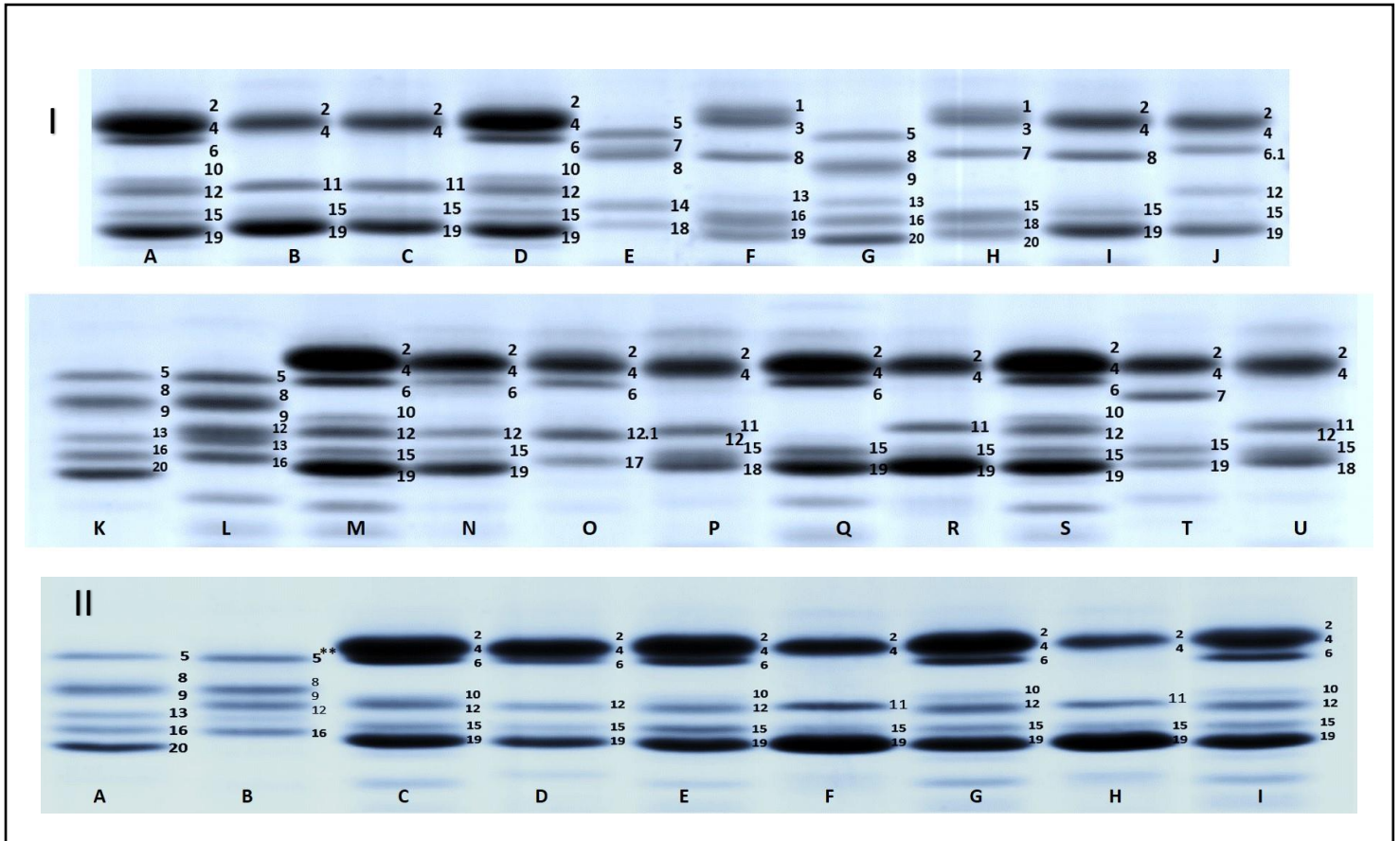


Figure 17: composition de LMW-GS observée dans les variétés locales et les cultivars marocains. **I, Variétés locales** : pistes sont les suivantes : **A, D, M and S**, 'Cocorit' (Glu-A3 6+10, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 12); **B**, MGB-3091 (Glu-A3 11, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 null); **C**, MGB-5967 (Glu-A3 11, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 null); **E**, 'Andalusia' (Glu-A3 5, Glu-B3 7+8+14+18, Glu-B2 null); **F**, MGB-3152 (Glu-A3 null, Glu-B3 1+3+8+13+16+19, Glu-B2 null); **G and K**, 'Fanfarron' (Glu-A3 5+20, Glu-B3 8+9+13+16, Glu-B2 null); **H**, MGB-16563 (Glu-A3 20, Glu-B3 1+3+7+15+18, Glu-B2 null); **I**, MGB-2963 (Glu-A3 null, Glu-B3 2+4+8+15+19, Glu-B2 null); **J**, 'BC' (Glu-A3 6.1, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 12); **L**, MGB-3104 (Glu-A3 5, Glu-B3 8+9+13+16, Glu-B2 12); **N**, MGB-3083 (Glu-A3 6, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 12); **O**, MGB-3125 (Glu-A3 6, Glu-B3 2+4+17, Glu-B2 12.1); **P and U**, 'Ardente' (Glu-A3 11, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 12); **Q**, MGB-9430 (Glu-A3 6, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 null); **R**, MGB-3003 (Glu-A3 11, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 null); **T**, MGB-5963 (Glu-A3 null, Glu-B3 2+4+7+15+19, Glu-B2 null). **II, Cultivars marocains** : Les pistes sont les suivantes : **A**, 'Fanfarron' (Glu-A3 5+20, Glu-B3 8+9+13+16, Glu-B2 null); **B**, MGB-20 (Glu-A3 5\*\*, Glu-B3 8+9+16, Glu-B2 12); **C, G and I**, 'Cocorit' (Glu-A3 6+10, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 12); **D**, MGB-32 (Glu-A3 6, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 12); **E**, MGB-27 (Glu-A3 6+10, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 12); **F**, MGB-29 (Glu-A3 11, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 null); **H**, MGB-33 (Glu-A3 11, Glu-B3 2+4+15+19, Glu-B2 null).

## RESULTATS ET DISCUSSION

### c) Diversité génétique

La diversité génétique a été estimée dans l'ensemble des matériaux analysés et dans chaque groupe (Tableau 15). Le groupe des variétés locales marocaines a montré les valeurs les plus élevées avec une valeur moyenne pour le nombre effectif d'allèles ( $Ne$ ) et la diversité génétique ( $He$ ) de 2,244 et 0,465, respectivement. Dans les trois groupes, une plus grande diversité a été observée pour le locus *Glu-B1*, tandis que le locus *Glu-A1* a été presque homogène et a eu les valeurs les plus faibles pour les trois groupes. Pour le LMW-GS, le locus *Glu-A3* a été celui qui a affiché les valeurs de diversité les plus élevées dans les trois groupes, malgré le nombre d'allèles parfois plus élevé dans le locus *Glu-B3* que dans le locus *Glu-A3*. Les variétés locales marocaines ont montré les valeurs les plus élevées pour *Glu-B3* et *Glu-B2*, tandis que le groupe de cultivars locaux a eu la plus grande diversité pour *Glu-A3*.

Tableau 15: Nombre des allèles et des patterns gluténines, et les paramètres de la diversité génétique.

Group	Locus	A	Ne	He
Total	<i>Glu-A1</i>	2	1,022	0,022
	<i>Glu-B1</i>	7	4,231	0,764
	<i>Glu-D1</i>	1	1,043	0,041
	<i>Glu-A3</i>	8	3,368	0,323
	<i>Glu-B3</i>	10	1,504	0,335
	<i>Glu-B2</i>	3	1,919	0,479
	<b>Mean</b>		<b>5,16</b>	<b>2,181</b>
Variétés locales	<i>Glu-A1</i>	2	1,039	0,037
	<i>Glu-B1</i>	6	3,516	0,716
	<i>Glu-A3</i>	6	2,922	0,657
	<i>Glu-B3</i>	9	1,668	0,400
	<i>Glu-B2</i>	3	2,076	0,518
	<b>Mean</b>		<b>5,2</b>	<b>2,244</b>
Cultivars marocains	<i>Glu-A1</i>	1	1	0
	<i>Glu-B1</i>	4	3,377	0,704
	<i>Glu-A3</i>	5	3,374	0,703
	<i>Glu-B3</i>	2	1,579	0,366
	<i>Glu-B2</i>	2	1,324	0,245
	<b>Mean</b>		<b>2,8</b>	<b>2,131</b>
Cultivars nord-américains	<i>Glu-A1</i>	1	1	0
	<i>Glu-B1</i>	4	2,088	0,521
	<i>Glu-D1</i>	1	1,123	0,11
	<i>Glu-A3</i>	4	1,941	0,485
	<i>Glu-B3</i>	4	1,237	0,192
	<i>Glu-B2</i>	2	0,166	0,4
<b>Mean</b>		<b>2,6</b>	<b>1,259</b>	<b>0,284</b>

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le nombre de modèles différents de combinaisons de gluténines basé sur la variabilité décrite pour les six loci décrits précédemment a également été calculé. Au total, 29 combinaisons différentes de gluténines ont été trouvées dans les matériaux analysés (Tableau 15). Cela signifie que près d'une des trois accessions analysées a eu un profil de gluténine différent. Le groupe des variétés locales marocaines a montré le plus grand nombre de combinaisons de gluténines (21), suivi par les cultivars nord-américains (12) et les variétés locales marocaines (9).

### 2. Discussion des résultats et conclusion

Les gluténines sont probablement les protéines les plus étudiées du grain de blé en raison de l'association de leur variabilité avec les caractéristiques de qualité de transformation et d'utilisation finale, à la fois dans le blé tendre et le blé dur (Carrillo *et al.*, 2000 ; Sissons *et al.*, 2005 ; Nazco *et al.*, 2014). L'analyse de la variation allélique des sous-unités de la gluténine parmi les géotypes utilisés dans les programmes de sélection est un outil clé et efficace pour utiliser avec succès toute la variabilité génétique disponible pour améliorer la qualité du blé. En outre, l'utilisation efficace d'une collection de germplasm est promue par la connaissance des patterns de variation génétique au sein de la collection pour des traits d'intérêt spécifiques (Sorrells *et al.*, 1995). Pour cette raison, cette étude a été menée en utilisant un ensemble de matériaux de blé dur disponibles pour la communauté de recherche et de sélection de la Banque marocaine du germplasm. Le Maroc est un important consommateur de blé (la consommation est d'environ 220 kg par habitant et par an) et de gros efforts sont nécessaires pour développer de nouvelles variétés de blé productives avec une qualité souhaitable pour l'industrie locale et les consommateurs, afin de réduire la dépendance vis-à-vis des importations de blé et de renforcer la sécurité alimentaire dans le pays. La collection des matériaux analysés pourrait être divisée en trois groupes: le premier était composé de variétés locales du pays, qui fait partie d'un des centres de diversité pour le blé dur (Afrique du Nord) (Janni *et al.*, 2018) ; le second, formé de cultivars marocains, résulte des travaux du CIMMYT, de l'ICARDA et des programmes nationaux de sélection ; et le troisième, un groupe de cultivars d'Amérique du Nord, détient dans la banque de gènes pour améliorer la diversité génétique dans les programmes de sélection locaux et améliorer la qualité des grains (le Canada, les États-Unis et le Mexique sont de grands exportateurs de blé dur et leur matériel génétique présente une qualité élevée exigée par l'industrie des pays importateurs).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le niveau de diversité génétique des gluténines trouvé dans cette collection ( $He = 0,327$ ) variait au sein des trois sous-groupes analysés, montrant aux variétés locales les valeurs les plus élevées comme prévu ( $He = 0,465$ ), suivies des cultivars marocains et nord-américains ( $He = 0,404$  et  $0,284$ , respectivement). Ce rétrécissement de la diversité génétique des cultivars modernes est une tendance mondiale commune, qui doit être inversée afin de ne pas perdre en efficacité dans les programmes de sélection. En fait, les résultats obtenus dans cette étude montrent que peu d'allèles rares du pool de variétés locales ont déjà été transférés vers le pool de cultivars modernes et que la plupart des allèles rares ne sont présents que dans le groupe de variétés locales, ce qui illustre bien la perte de variabilité due à l'érosion génétique. La variabilité génétique trouvée dans le groupe des variétés locales marocaines pourrait être considérée comme moyenne si nous comparons nos résultats avec des études similaires réalisées dans d'autres pays de la région méditerranéenne. Aguiriano et al (2008) ont trouvé une diversité plus élevée que dans notre étude sur les variétés locales espagnoles ( $He = 0,72$ ) comme Moragues *et al* (2006) l'ont fait ( $He = 0,67$ ) dans une collection plus hétérogène avec des matériaux de différents pays méditerranéens. Bellil *et al* (2012) ont également trouvé une grande diversité dans les variétés locales des oasis algériennes. En revanche, Igrejas *et al* (1999) et Hamdi *et al* (2010), ont rapporté des niveaux de diversité plus faibles ( $He = 0,36$  et  $0,34$ , respectivement) dans les matériaux portugais et algériens, respectivement.

Plusieurs allèles ont été trouvés pour chacun des loci de gluténines. Au sein du groupe HMW-GS, le *Glu-B1* a montré le plus grand nombre d'allèles (7), étant deux d'entre eux nouveaux (*Glu-B1cp*, sous-unité 20\*; *Glu-B1co*, sous-unités 20+22\*) et présents dans une accession nord-américaine et deux variétés locales, respectivement. D'autres allèles *Glu-B1* trouvés tels que *Glu-B1b*, *Glu-B1d* et *Glu-B1e* ont été beaucoup plus fréquents (17,9%, 28,4% et 26,3%, respectivement), ce qui correspond aux résultats obtenus dans l'analyse des collections de blé dur d'autres pays dans des études antérieures ( Raciti *et al.*, 2003 ; Bellil *et al.*, 2014 ; Janni *et al.*, 2018 ; Ruiz *et al.*, 2018). Dans l'ensemble, nos résultats concordent également avec ceux obtenus par (Zarkti *et al.*, 2010b), dont l'étude qui a également été réalisée avec d'autres accessions de la même banque de gènes, bien qu'il existe certaines différences entre les deux collections. Parmi les allèles *Glu-B1* trouvés, *Glu-B1b*, *Glu-B1d* ont été associés à différents degrés à une force de gluten élevée (Ammar *et al.*, 2000 ; Nazco *et al.*, 2014 ; Magallanes-López *et al.*, 2017), tandis que *Glu-B1e* a été lié par plusieurs études avec une faible qualité (Ruiz et Carrillo, 1995 ; Ammar *et al.*, 2000 ; Brites et Carrillo, 2001 ; Edwards *et al.*, 2007), ceci étant probablement dû à la substitution de deux résidus de cystéine avec tyrosine à

## RESULTATS ET DISCUSSION

l'extrémité N-terminale (Shewry *et al.*, 2003). D'autre part, Nazco *et al* (2014) n'ont pas pu associer *Glu-B1e* à une qualité médiocre. Un autre allèle trouvé, *Glu-B1aq* (32+33), a montré une fréquence élevée remarquable par rapport aux autres groupes. Cet allèle rare a été trouvé pour la première fois dans une accession de blé tendre (CI-12213) (Cherdouh *et al.*, 2005), dans certaines variétés locales espagnoles (Chacón *et al.*, 2020) et dans certaines variétés locales de blé dur d'Iran (Hernández-Espinosa *et al.*, 2019), mais avec des fréquences plus basses. Chacón *et al* (2020) ont constaté que cet allèle peut être associé à une force de gluten plus faible et Hernández-Espinosa *et al* (2019) avec une force de gluten plus élevée, une extensibilité et une qualité de panification plus élevées, bien que les deux études soient préliminaires en termes d'analyse des effets de cet allèle sur les traits de qualité. Pour le locus *Glu-A1*, une seule variété locale a montré un allèle non nul, ce qui est relativement normal, car la plupart des matériaux de blé dur modernes montrent l'allèle nul à ce locus (Branlard *et al.*, 1989 ; Ammar *et al.*, 2000; Henkrar *et al.*, 2017; Magallanes-López *et al.*, 2017). Cependant, d'autres collections de variétés locales de blé dur ont montré des fréquences plus élevées pour les allèles *Glu-A1* non nuls (Aguiriano *et al.*, 2008 ; Bellil *et al.*, 2012 ; Chacón *et al.*, 2020). La contribution des allèles non nuls *Glu-A1* aux caractères de qualité n'est pas encore bien définie : certaines études indiquent que cela n'a probablement pas d'effet significatif (Uthayakumaran *et al.*, 2002 ; Nazco *et al.*, 2014 ; Chacón *et al.*, 2020), tandis que d'autres ont montré que leur présence améliorait la force et l'extensibilité du gluten (Boggini *et al.*, 1995; Dhaliwal *et al.*, 2002; Martinez *et al.*, 2005). De plus, deux cultivars d'Amérique du Nord ont montré la présence de sous-unités de glutenines 5+10 qui appartiennent au locus *Glu-D1* du blé tendre. L'un d'eux (UCRD01-1) a été développé par l'ingénierie des chromosomes cyto-géniques (Lukaszewski, 2003) et l'autre (Westbred 1000D) est probablement un matériau similaire des mêmes auteurs, mais son nom est peut-être erroné dans les dossiers de la Banque de gènes. Ce type de lignées est intéressant et il a été démontré qu'il augmentait la force du gluten, bien que pour l'amélioration de la qualité de la panification du blé dur, les lignées montrant les sous-unités 2+12 dans *Glu-D1* se soient révélées plus prometteuses (Morris *et al.*, 2019; Sissons *et al.*, 2019).

Une grande variabilité a également été constatée pour les loci LMW-GS, qui jouent un rôle plus important dans la qualité du blé dur que HMW-GS. Plusieurs nouvelles sous-unités ont été identifiées qui ont été provisoirement attribuées aux différents loci LMW-GS en fonction de leur similitude avec les sous-unités/allèles identifiés précédemment. Au locus *Glu-A3*, les allèles *Glu-A3a* et *Glu-A3e* étaient les plus fréquents dans cette collection, ce qui correspond à d'autres études qui rapportent la dominance de *Glu-A3a* (Nieto-Taladriz *et al.*, 1997 ; Cherdouh

## RESULTATS ET DISCUSSION

*et al.*, 2005 ; Bellil *et al.*, 2012, 2014 ; Chacón *et al.*, 2020) et *Glu-A3e* (Hu *et al.*, 2018) à ce lieu. En principe, *Glu-A3a* et *Glu-A3e* sont associés respectivement à une bonne et à une mauvaise qualité (Carrillo *et al.*, 2000 ; Martinez *et al.*, 2005). En outre, un allèle rare et un nouvel allèle ont été identifiés : *Glu-A3bb* (sous-unité 20) et *Glu-A3bc* (sous-unité 5\*\*). Pour le locus *Glu-B3*, dix allèles différents ont été détectés, dont cinq se sont révélés nouveaux (*Glu-B3ar*, sous-unités 1+3+7+15+18 ; *Glu-B3as*, sous-unités 1+3+8+13+16+19 ; *Glu-B3at*, sous-unités 2 + 4 + 17 ; *Glu-B3au*, sous-unités 2 + 4 + 7 + 15 + 19 ; *Glu-B3av*, sous-unités 9+13+16), formé par de nouvelles combinaisons de sous-unités). La plupart de chacun de ces nouveaux allèles étaient présents dans une seule variété locale, ce qui souligne l'importance de sauvegarder ces anciens matériaux dans les banques de matériel génétique pour éviter la perte de la diversité génétique. La prévalence de l'allèle *Glu-B3a* dans ce groupe est probablement due à sa relation avec une bonne qualité (Ruiz et Carrillo, 1995 ; Brites et Carrillo, 2001 ; Martinez *et al.*, 2005). Enfin, pour le locus *Glu-B2*, quatre allèles ont été trouvés, étant le *Glu-B2a* le plus fréquent pour les cultivars marocains et nord-américains, ce qui concorde avec d'autres études (Cherdouh *et al.*, 2005 ; Subira *et al.*, 2014 ; Hernández-Espinosa *et al.*, 2019). Dans le cas des variétés locales, la dominance partagée des allèles *Glu-B2a* et *b* est en accord avec celle observée par Nazco *et al* (2014) et Chacón *et al* (2020). Parmi les quatre nouveaux allèles détectés pour *Glu-B2*, un était nouveau (*Glu-B2d*, sous-unité 12.1), ce qui est important, car auparavant seulement trois allèles ont été détectés à ce locus.

En conclusion, Une variation importante pour les loci de gluténine a été trouvée entre les accessions de blé dur conservés dans la banque de gènes marocaine, en particulier dans un ensemble d'anciennes variétés locales marocaines. Cette caractérisation des ressources génétiques est utile pour le développement de nouvelles variétés aux caractéristiques de qualité appréciées par les consommateurs et l'industrie locaux.

Aussi, l'étude ouvre la possibilité de recherches supplémentaires visant à étudier les effets sur les traits de qualité de la variation décrite, y compris les effets spécifiques d'allèles rares et nouveaux ainsi que les effets de nouvelles combinaisons d'allèles trouvées parmi ces ressources génétiques.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### D. Variation génétique à l'aide des paramètres physico-chimiques, des prédicteurs du rendement et de la morphométrie du grain et des marqueurs moléculaires

#### 1. Résultats et présentation

##### a) Analyses descriptive et comparaison des valeurs moyennes entre les groupes

Les statistiques sommaires de base (minimum, maximum, moyenne, erreur standard, standard de déviation, et coefficient de variation) pour tous les descripteurs dans quatre-vingt-quinze accessions et pour les trois groupes de la collection sont présentés dans le tableau 16. Une variabilité génétique élevée a été enregistré entre les accessions considérées. Le coefficient de la variation le plus haut (CV%) a été montré par le test de l'activité enzymatique de polyphénoloxydase (PPO, 141,4 %), suivie par la teneur en pigments jaunes (TPJ, 25,93%) et le test de sédimentation (TS, 25,93%). La valeur la plus faible a été notée pour le poids de mille grains (PMG, 0,14 %).

Pour la morphométrie du grain, l'aire (AIR), le périmètre (PER), le maj-ellipse (MAJ), et le min-ellipse (MIN) ont varié respectivement, de 7,6 à 10,98 mm<sup>2</sup>, de 7,65 à 10,98 mm, de 4,72 à 6,39 mm, et de 2 à 2,37mm, avec une moyenne de 9,09 mm<sup>2</sup> (AIR), 15,42 mm (PER), 5,28 mm (MAJ), et 2,19 mm (MIN). Le poids de mille grains (PMG) et le poids spécifique (PS) sont compris respectivement, entre 33 et 66 g et entre 70 et 86,2 kg/hl avec une moyenne de 48,37 g (PMG) et de 79,82 kg/hl (PS) (Tableau 16).

Quant aux traits physico-chimiques, la teneur en protéines a varié de 13,76 à 18, 11% avec une moyenne de 13,17% (Tableau 16). La valeur moyenne de test de sédimentation a été de 51,57 ml, tandis que les volumes de sédimentation ont varié entre 21 et 88 ml. Les teneurs en amidon ont oscillé entre 38,43 et 83,52 % avec une moyenne de 61,22 %. La moyenne des teneurs de pigments jaunes était de 6,44 ppm, alors que l'étendue des teneurs a varié entre 3,1 et 11,8 ppm. Les scores de l'activité enzymatiques des polyphénol-oxydases ont varié entre 1 et 5 scores avec un score moyen de 2,27.

Concernant les valeurs moyennes des descripteurs entre les groupes, toutes les valeurs les plus élevées des caractères ont été notées dans les cultivars, à l'exception de la valeur de test PPO qui a été enregistrée dans les variétés locales (Tableau 16). Les valeurs les plus hautes pour les cultivars nord-américains ont été observée dans le TP (13,75 %), la TPJ (7,53 ppm), le PS (80 kg/hl), le PER (15,48 mm), et le MAJ (5,3 mm), alors que les cultivars marocains étaient supérieurs en TS (55,32 ml), la TA (70,66%), PMG (50,57 g), AIR (9,36 mm<sup>2</sup>) et MIN (2,27



## RESULTATS ET DISCUSSION

mm). Les descripteurs des variétés locales ont enregistré des valeurs moyennes faibles à modérées.

Tableau 16: Analyse descriptive des caractères physico-chimiques et les grandeurs de la taille du grain.

Caractère	Range	Toutes Les Accessions (95)			Variétés locales marocaines (52)	Cultivars Marocains (14)	Cultivars Nord- Américains (29)
		M±ES	SD	CV (%)	M±ES	M±ES	M±ES
AIR (mm <sup>2</sup> )	7.65-10.98	9,09±0,05	0,74	8,14	9,03±0,08	9,36±0,1	9,07±0,09
PER (mm)	14.04-18.01	15,42±0,06	0,78	5,05	15,38±0,09	15,46±0,08	15,48±0,09
MAJ (mm)	4.72-6.39	5,28±0,02	0,3	5,68	5,27±0,03	5,26±0,03	5,3±0,03
MIN (mm)	2-2.37	2,19±0,01	0,09	4,1	2,18±0,01	2,27±0,02	2,18±0,01
PMG (g)	33-66	48,37±0,01	0,07	0,14	46,77±0,01	50,57±0,01	50,17±0,01
PS (kg/hl)	70-86.2	79,82±0,23	3,21	4,02	79,67±0,25	79,97±0,48	80±0,57
TP (%)	3.67-18.11	13,17±0,19	1,67	12,68	13,17±0,22	11,96±0,51	13,75±0,4
TS (ml)	21-88	51,57±0,93	12,86	25,93	49,29±1,23	55,32±3,23	53,84±1,33
TA (%)	38.43-83.52	61,22±0,69	9,56	15,61	59,34±0,89	70,66±1,36	60,03±1,16
TPJ (ppm)	3.1-11.8	6,44±0,12	1,67	25,93	6,19±0,13	5,12±0,23	7,53±0,23
PPO (score)	1-5	2,27±0,06	3,21	141,4	2,46±0,08	2±0,07	2,07±0,12

**M** : Moyenne ; **ES** : Erreur standard ; **SD** : Standard de deviation ; **CV** : coefficient de variation.

### b) Variation génétique totale et distribution des accessions de la collection par l'analyse en composantes principales :

La distribution des accessions de cette collection a été effectuée à l'aide de l'analyse en composantes principales (ACP). Afin de réduire le nombre de variables et de montrer l'effet de des traits sur la dispersion des accessions, deux analyses ACP ont été effectuées, l'une selon les caractéristiques physico-chimiques et l'autre selon les dimensions du grain (Figure 18).

Une variabilité génétique très significative a été enregistré entre les accessions de blé dur étudié. Cela est expliqué par les valeurs importantes de la variabilité totale enregistrée.

Sur la base des paramètres physico-chimiques, l'analyse en composante principale a dévoilé une variabilité totale de 54,87 % au sein de cette collection (figure 18 ; a)). Cette analyse a également classé la collection en trois groupes. Le groupe 1 a rassemblé les cultivars du Maroc, y compris les 3 témoins 'Ourgh', 'Marzak' et 'Cariouca', qui a été caractérisés par des hautes teneurs en amidon. Le groupe 2 a inclus les variétés locales, a été fortement corrélé avec PPO et la teneur en protéines, et moyennement corrélé avec la teneur en pigments jaunes. Le groupe 3 a regroupé les cultivars de l'Amérique du Nord, qui ont été marqués par des hautes teneurs en pigments jaunes et en protéines, et des volumes élevés de sédimentation.

## RESULTATS ET DISCUSSION

L'ACP dans le cas des dimensions du grain a expliqué 82% de la variabilité totale (figure 18 ; b)). La discrimination entre les groupes, dans ce cas-là, a été complexe par rapport à celle des paramètres physico-chimiques, mais selon les centroïdes on a pu détecter trois groupes A, B et C. Les cultivars du Maroc ont constitué un groupe 'A', qui est corrélé fortement avec le poids de mille grains et la min-ellipse, moyennement avec l'aire, le périmètre et le poids spécifique, et faiblement avec la maj-ellipse. Le groupe 'B' a inclus les cultivars de l'Amérique du Nord, et été dans l'ensemble très proche de cultivars du Maroc de points de vue de ces traits. Le groupe 'C' a été formé de variétés locales et a été caractérisé par une haute association avec la maj-ellipse et le périmètre.

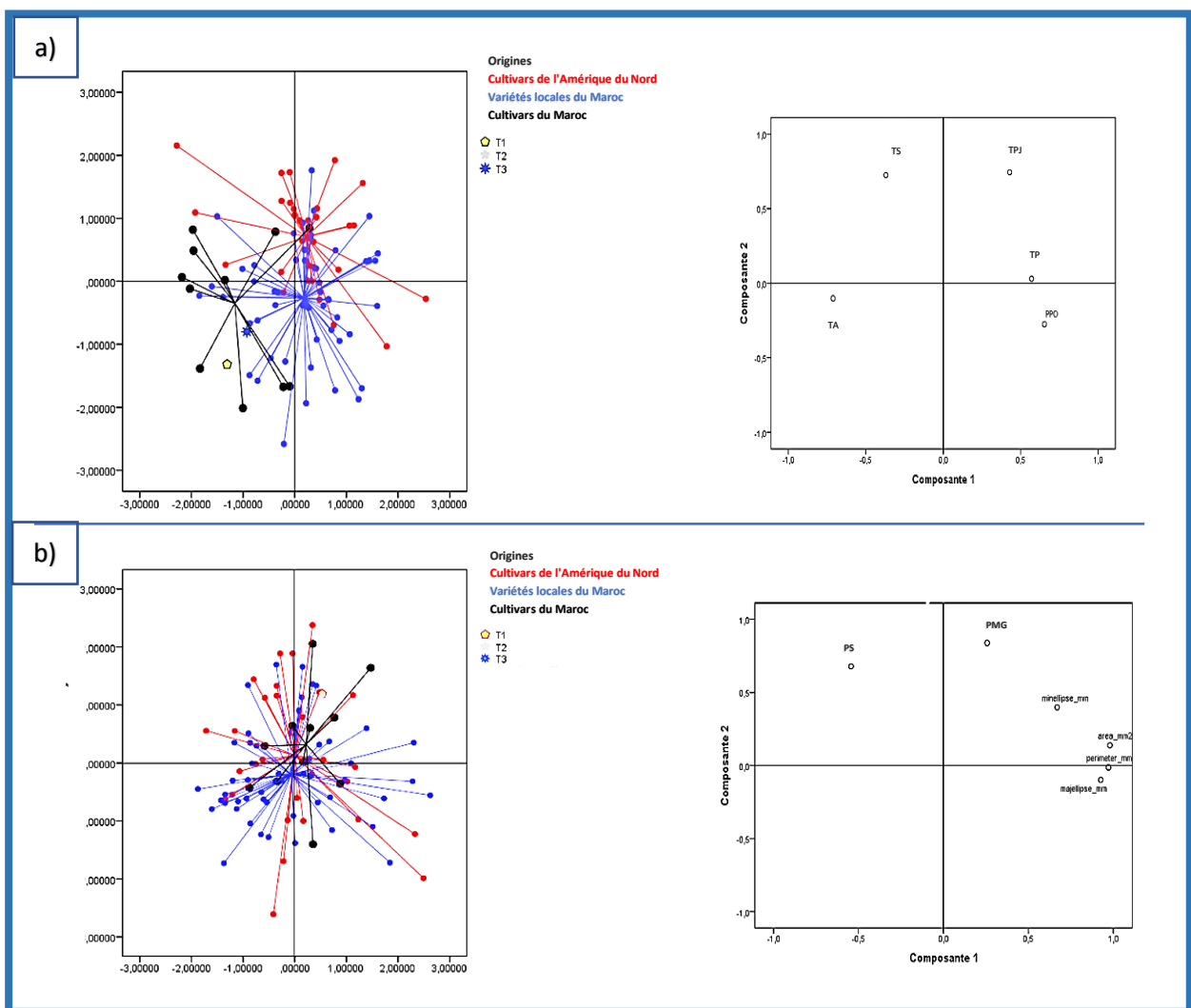


Figure 18: Analyse Gt-Biplot pour 95 accessions de blé dur. a) Gt-Biplot a expliqué 54,87 % de la variation totale (composante 1 : 31, 59 % ; composante 2 : 23,28 %) pour les paramètres physico-chimiques. b) Gt-Biplot a expliqué 81,91% de la variation totale (composante 1 : 59, 58 % ; composante 2 : 22,32 %) pour les prédicteurs du rendement.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### c) Association marqueur-trait

L'association de vingt-quatre marqueurs moléculaires avec les onze traits considérés dans cette investigation a été étudiée à l'aide de l'estimation de la *valeur-p* du test de Kruskal-Wallis (Tableau 18). Selon les valeurs-p trouvées, les résultats ont montré neuf marqueurs hétéromorphes contre 15 monomorphes.

En fait, les dimensions du grain étaient plus associées aux marqueurs moléculaires qu'aux paramètres physico-chimiques. Quatre associations très hautement significatives (\*\*\*) ont été observées entre maj-ellipse et *LOXA* et *TaCwi-4A*, entre le périmètre et *TaCwi-4A*, et entre le poids de mille grains et *GBSS-4A*. Des associations très significatives (\*\*) avaient également été révélées entre le périmètre et *LOXA*, entre l'aire et *TaCwi-4A*, et entre le poids de mille grains et *LOXA*. L'aire et le marqueur *LOXA* ont montré une association significative (\*).

Quant aux paramètres physico-chimiques, l'activité de l'enzyme polyphénol oxydase a été fortement associée avec *TaCwi-4A* (\*\*) et *PSY-1F5R5* (\*\*). En revanche, la teneur en protéines était significativement liée à *LOXA* (\*) et *TaCwi-4A* (\*), tandis que la teneur en amidon était uniquement associée à *TaSus-IIND* (\*).

Tableau 17: Association caractère- marqueur à l'aide de la valeur-p.

	<i>GBSS-4A</i>	<i>LOXA</i>	<i>PSY-1F5R5</i>	<i>Psy-B1c</i>	<i>Lox-B1</i>	<i>TaCwi-4A</i>	<i>GS5-2334</i>	<i>TaGW-2HAP</i>	<i>TaSus-IIND</i>
TP	0,082	*	0,533	0,294	0,695	*	0,398	0,145	0,091
TS	0,620	0,904	0,150	0,632	0,110	0,428	0,544	0,511	0,478
TA	0,565	0,099	0,748	0,302	0,565	0,301	0,151	0,145	*
TPJ	0,745	0,297	0,079	0,472	0,084	0,862	0,060	0,799	0,317
PPO	0,961	0,237	**	0,703	0,153	**	0,119	0,108	0,852
TKW	***	**	0,059	0,754	0,804	0,733	0,540	0,742	0,263
SW	0,719	0,100	0,090	0,568	0,270	0,274	0,201	0,729	0,598
ARE	0,296	*	0,295	0,347	0,125	**	0,340	0,189	0,384
PER	0,218	**	0,313	0,428	0,482	***	0,929	0,177	0,372
MAJ	0,260	***	0,508	0,754	0,737	***	0,984	0,189	0,432
MIN	0,414	0,146	0,179	0,191	0,057	0,531	0,138	0,258	0,540

Les signes (\*\*\*), (\*\*), et (\*) signifient respectivement très hautement significatifs, très significatifs et significatifs.

### 2. Discussion des résultats et conclusion :

D'une manière générale, dans l'agriculture céréalière, comme la production de blé dur, l'utilisation de cultivars à haut rendement, de bonne qualité et adaptés aux fluctuations climatiques est l'une des méthodes stratégiques les plus simples et les plus pratiques pour augmenter la rentabilité. Ainsi, l'utilisation de nouvelles variétés semble être la meilleure option pour les petits et grands agriculteurs de zones caractérisées par des précipitations irrégulières et une demande croissante. Afin de créer ces variétés modernes, les variétés locales et les anciens cultivars sont considérés comme représentant des solutions potentiellement utiles et nouvelles pour les programmes de sélection.

Au Maroc, la consommation annuelle de blé dur est d'environ 90 kg par personne (Taghouti *et al.*, 2017), et la grande partie consommée est importée. Afin de réduire le taux d'importation et la dépendance aux marchés d'importations de blé dur, le pays a mis en place plusieurs stratégies d'amélioration pour développer de nouvelles variétés. Pour améliorer le rendement et la qualité de cette culture, le pays a fait de gros efforts dans ce contexte à la fin du 20<sup>ème</sup> siècle. Mais ces efforts restent limités car le rendement reste lié aux conditions environnementales et la qualité ne répond qu'à l'utilisation traditionnelle et non à la fabrication de pâtes alimentaires.

Afin de contribuer au développement de bases de données d'informations pour les sélectionneurs établissant de nouvelles variétés, notamment pour introduire de nouvelles caractéristiques dans le matériel génétique local, 95 accessions de blé dur fournies à partir de la banque de gènes marocaine ont été caractérisées moyennant des tests physico-chimiques et des paramètres de taille de grain, ainsi que l'identification des associations marqueurs-traites. Ces accessions ont été composées des cultivars d'Amérique du Nord (États-Unis et Canada) en tant que systèmes de classement parfaits du blé dur et de cultivars et des variétés locales du Maroc comme des lignées adaptées au condition locales.

Dans la présente étude, les résultats obtenus pour les dimensions du grain et les propriétés physico-chimiques ont révélé une forte variabilité génétique entre les accessions étudiées. Ce résultat découle de la variation des origines des cultivars et des variétés locales, en plus de la distance génétique entre les génotypes nord-américains et ceux du Maroc. Cela explique également la richesse génotypique détenue dans notre banque de gènes nationale, ainsi que nos ressources génétiques locales (cultivars et variétés locales). Des résultats similaires ont été observés par Zarkti *et al* (2010a, b et 2012) et Chegdali *et al* (2020) dans des collections de blé dur fournies de la même banque de gènes.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Pour le blé dur, les dimensions du grain et le poids spécifique (PS, kg/hl) et le poids de mille grains (PMG, g) sont les composantes essentielles de la prédiction du rendement et de la qualité meunière, en raison de leurs relations directes avec le rendement en grains, le rendement en mouture, la qualité d'utilisation finale et le prix de commercialisation (Kehel *et al.*, 2020).

Réellement, les traits physiques et les dimensions ou morphométrie du grain ont été utilisées par de nombreuses études dans la détermination de la caractérisation morphologique du grain et pour prédire la qualité meunière (Matsuo et Dexter, 1980 ; Marshall *et al.*, 1986 ; Dexter *et al.*, 1987 ; Berman *et al.*, 1996 ; Novaro *et al.*, 2001 ; Whan *et al.*, 2014 ; Ali *et al.*, 2020 ; Kehel *et al.*, 2020). Au cours des dernières décennies, des techniques d'imagerie ou de traitement d'image ont été déployées dans le but d'identifier la couleur, la forme et la taille des grains. Grâce à son rôle dans la prédiction et l'estimation du rendement et de la qualité du grain, plusieurs applications et logiciels ont été développés dans ce sens, parmi ces moyens il y a le logiciel "Smartgrain" (Herridge *et al.*, 2011; Tanabata *et al.*, 2012; Whan *et al.*, 2014; Ali *et al.*, 2020), la plateforme robotique "PhenoSeeder" (Jahnke *et al.*, 2016), la tomographie à rayons X (Strange *et al.*, 2015), l'application mobile "SeedCounter" (Komyshev *et al.*, 2017).

Dans la présente étude, les mesures de la surface (AIR, mm<sup>2</sup>), du périmètre (PER, mm), de la maj-ellipse (MAJ, mm) et de la min-ellipse (MIN, mm) ont été réalisées à l'aide du logiciel "Smartgrain" développé par Whan *et al* (2014). Les résultats obtenus ont révélé une variation significative entre les accessions étudiées. Les valeurs moyennes de ces prédicteurs ont été légèrement inférieures à celles rapportées par Novaro *et al* (2001) dans une collection de blé dur Italien cultivées dans huit régions agro-climatiques en Italie. Cette différence pourrait être expliqués par la différence génotypique et la variation climatique. Ceci confirme ce qui a été rapporté par Ali *et al* (2020), où ont signalé que la dimension et la forme du grain de blé dur dépendent des facteurs environnementaux et génétiques.

Quant aux paramètres physiques du grains, le poids de mille grains et le poids spécifique sont les caractères les plus utiles pour estimer la densité des grains de blé, le rendement et le potentiel d'extraction de semoule des génotypes, et les principaux grandeurs permettant de déterminer le système de classement de blé dur (Novaro *et al.*, 2001 ; Iftikhar *et al.*, 2012 ; Amallah *et al.*, 2016b). Selon les résultats sommaires, les valeurs obtenues pour le poids de mille grains et le poids spécifique ont été similaires et comparables à celles trouvées dans l'étude de Bakhella et Akil (1995), El-Khayat *et al* (2006), Nazco *et al* (2012), Amallah *et al* (2016b), Hammami *et al* (2017), et Taneva *et al* (2019), mais supérieur à celles déterminées dans le rapport de la

## RESULTATS ET DISCUSSION

qualité de récolte (Crop Quality Report, 2019). Plusieurs auteurs ont décrit que ces grandeurs sont plus sensibles aux conditions climatiques que les facteurs génétiques lors du remplissage des grains (Bakhella et Akil 1995, Rharrabti *et al.*, 2003 ; Hammami *et al.*, 2017).

En ce qui concerne l'évaluation de la qualité, les tests physico-chimiques utilisés étaient la teneur en protéines (PC, %), le test de sédimentation SDS (SDS\_ST, ml), la teneur en amidon (SC, %), la teneur en pigments jaunes (YPC, ppm) et l'activité enzymatique de la polyphénol oxydase (PPO, scores).

Dans cette étude, les teneurs en protéines trouvées concordent avec celles des études précédemment menées (Williams *et al.*, 1988 ; Sayaslan *et al.*, 2012 ; Anonyme, 2013 ; Babay *et al.*, 2014 ; Amallah *et al.*, 2016 ; Hammami *et al.*, 2017 ; Taghouti *et al.*, 2017). Globalement, une teneur élevée en protéines rend le gluten fort, entraînant la formation d'un produit final de bonne qualité, tandis qu'une faible teneur rend le gluten faible et produisant donc un produit final de mauvaise qualité. Ainsi, la teneur en protéines possède un effet direct sur la qualité boulangère et culinaire des pâtes (Quaglia, 1988 ; Aalami *et al.*, 2007). Donc, les accessions à haute teneur en protéines pourraient être considérées comme un meilleur matériel génétique pour les unités de recherche qui visent à développer des variétés de bonne qualité technologiques destinées aux industries de transformation des produits de blé dur.

Le test de sédimentation est un paramètre physicochimique important dans l'évaluation et la prédiction de la qualité de blé dur, plus particulièrement les qualités de transformation, de gonflement du gluten, et de produit final (Dexter *et al.*, 1980 ; Dick et Quick, 1983). Dans ce travail, les volumes de sédimentation moyens mesurés ont été très proches de ceux trouvés par Taghouti *et al* (2010, 2017) dans des cultivars marocains et dans des accessions de blé dur collectées de régions montagneuses du Maroc, respectivement, et avec Babay *et al* (2014) et Hammami *et al* (2017) dans des cultivars de blé dur tunisien. Le volume élevé de sédimentation du SDS est lié à un gluten plus fort et à une qualité de panification supérieure (Dexter *et al.*, 1980 ; Quick and Donnelly, 1980 ; Guzman *et al.*, 2016). Par conséquent, une sélection directe de génotypes basée sur cette forte association entre ces paramètres pourrait avoir lieu.

Pour la teneur en amidon, les valeurs trouvées étaient généralement similaires à celles déterminées par El-Khayat *et al* (2003, 2006), McKevith (2004), Liu (2007), et Rocchetti *et al* (2020). Une teneur élevée en amidon rend le rendement en grains important et cela à partir de sa corrélation positive avec la taille des grains (Zhong-Min *et al.*, 2008). Ce paramètre chimique joue également un rôle immense dans la détermination de la qualité rhéologique et dans la

## RESULTATS ET DISCUSSION

modification du comportement de la viscoélasticité de la pâte via son interaction avec les protéines des grains (Edwards *et al.*, 2002), plus particulièrement par le fait de la gélatinisation de l'amidon et de la coagulation des protéines. Ainsi, les génotypes qui ont un volume de sédimentation élevé pourraient jouer un rôle crucial en ce sens.

La variation de la teneur en pigments jaunes dans ce travail a été comparable avec celle trouvée par Bakhella et Akil (1995) dans des cultivars marocains cultivées dans des trois régions au Maroc, par Amallah *et al* (2016) dans une collection composée de variétés locales marocaines et méditerranéennes, de variétés marocaines et de lignées de CIMMYT et ICARDA, et avec les fourchettes recommandées (4-8 mg/kg) dans d'autres études (Borrelli *et al.*, 1999 ; Troccoli *et al.*, 2000 ; Beleggia *et al.*, 2011 ; Brandolini *et al.*, 2015). La variation importante en teneurs de pigments au sein de cette collection pourrait donc offrir des opportunités importantes à l'avenir pour les programmes de sélection visant à développer la valeur nutritive du grain de blé dur et ses produits finis, surtout les accessions qui ont enregistré une teneur élevée en pigments jaunes. Joppa et Walsh (1974) ont indiqué que les couleurs de la semoule et des spaghettis sont généralement étroitement liées, sauf lorsque des niveaux élevés de lipoxydase détruisent le pigment pendant le processus de transformation.

Malgré sa valeur nutritive en tant qu'antioxydant, l'estimation de l'activité enzymatique de polyphénols oxydases a fait l'objectif de nombreuses recherches en raison de leur effet direct sur le brunissement et la réduction de la qualité de l'apparence des produits finis et non pas de leur effet antioxydant (Anderson et Morris, 2001 et 2003 ; Demeke *et al.*, 2001 ; Sun *et al.*, 2005 ; Fuerst *et al.*, 2006 ; Salaria *et al.*, 2018 ; Li *et al.*, 2019). Dans cette investigation, ce paramètre était le plus variable parmi les paramètres évalués, enregistrant le coefficient de variation le plus élevé. En outre, le score moyen le plus élevé a été enregistré par les variétés locales, le seul qui était élevé pour elles par rapport à d'autres paramètres physico-chimiques. Cela indique que l'activité enzymatique de la polyphénol oxydase dans les variétés locales était plus élevée que celle des cultivars d'Amérique du Nord et du Maroc, ce qui implique que la qualité des produits finaux des variétés locales y serait faible. Fuerst *et al* (2006) et Salaria *et al* (2018) ont rapporté qu'une activité plus élevée de PPO produit un effet néfaste sur l'apparence des produits finis. Par conséquent, afin de développer de nouvelles variétés de blé dur de bonne qualité, il serait utile d'écarter les accessions avec un score élevé.

Pour la comparaison de la valeur moyenne de chaque paramètre entre les groupes, les valeurs moyennes des cultivars modernes d'Amérique du Nord et du Maroc ont dépassé celles des

## RESULTATS ET DISCUSSION

variétés locales pour l'ensemble des traits, sauf l'activité enzymatique de PPO. Les cultivars nord-américains ont montré des valeurs élevées de la teneur en protéines et en pigments jaunes, le poids spécifique et le périmètre, tandis que les cultivars marocains étaient supérieurs en teneur d'amidon, volume de sédimentation, poids de mille grains, et min-ellipse. Cela explique d'une manière globale l'effet de l'amélioration et du développement sur le blé dur moderne et du gain génétique durant les dernières décennies dans le secteur agricole, la même conclusion a été rapportée par Taghouti *et al* (2017) dans le cas de l'amélioration de la productivité, et De Vita *et al* (2007) pour les attributs liés à la qualité. En fait, l'évolution de cette amélioration et ce gain génétique a commencé, dans un premier lieu, de la sélection traditionnelle basée sur des caractères visibles (la couleur du grain et les paramètres de productivité et de rendement), puis a été complétée ultérieurement par la sélection dirigée, c'est à dire l'introgession des gènes ou des allèles favorables des races locales dans les modernes cultivars (qualité nutritionnelle et culinaire et la valeur meunière). L'origine de cette évolution est le résultat de l'effet progressif de la pression de sélection exercée par les demandes du producteur, du transformateur, du consommateur et du marché international d'exportation, et qui demandent en effet des variétés modernes rentables et de bonne qualité. En plus de cela, cette constatation était en accord avec le système de classement qui considère que le blé dur des USA et du Canada est parmi les meilleurs génotypes du monde en termes de qualité nutritionnelle et de la valeur meunière. Dans le même respect, les Biplots ont clairement montré que le système de classement qui a été observé par la comparaison des valeurs moyennes entre les groupes, plus particulièrement dans la structuration identifiée pour les paramètres physico-chimiques dans laquelle la variabilité totale était inférieure à celle enregistrée pour les prédicteurs de productivité. Donc, ces résultats seraient très utiles et exploitables dans le développement des cultivars locaux avec un haut rendement meunier et de meilleure qualité, par conséquent réduire les appels d'offres et la dépendance du pays à l'importation.

La mesure des caractères par des méthodes conventionnelles est généralement limitée par la quantité de graines, le coût et le temps de collecte des données. Mais avec l'approche moléculaire, ces coûts ont été récompensés par l'utilisation de méthodes de génotypage utilisant des marqueurs moléculaires à des stades précoces et leur association avec les traits d'intérêt. Ainsi, la sélection assistée par marqueurs pourrait être bénéfique pour ces caractères. Pour cette raison, la présente étude a inclus l'étude de la validation de l'association de certains marqueurs moléculaires avec les caractères étudiés.



## RESULTATS ET DISCUSSION

Toujours le même matériel génétique, basé sur l'estimation de la valeur-P en utilisant à la fois des données moléculaires de STS et SNP, les résultats de l'association marqueur-trait obtenus ont révélé des associations significatives à très significatives ou très significatives à très hautement significatives ou non significatives.

Parmi les associations significatives, le marqueur *TaCwi-4A* était significativement associé à ARE, PER, MAJ, PPO et TP. Ce locus code pour une enzyme qui hydrolyse les sucres complexes en sucres simples tels que le glucose et le fructose, est appelée invertase de la paroi cellulaire (Ma *et al.*, 2012). Cela indique leur association avec le poids de mille grains par son rôle indirect sur la conversion des sucres (Wang *et al.*, 2008 ; Khalid *et al.*, 2019), mais ce n'était pas le cas dans cette étude. Ce résultat pourrait s'expliquer par la différence génotypique (cultivars et variétés locales) ou la distance génétique de la collection (des lignés de l'Amérique du Nord et du Maroc). Cette explication est similaire à celui de Yu *et al.* (2011) qui ont reporté que l'association des traits moléculaires n'est pas toujours reproductible et garantie d'une population à une autre lorsqu'il existe une distance génétique entre ces populations. Cependant, d'autre part, ce résultat valide l'association du *TaCwi-4A* avec les composantes du rendement tels qu'ARE, PER et MAJ en tant qu'une hydrolase contribuant à la conversion de sucrose lors du remplissage du grain et la structure morphométrique, et montre également l'effet pléiotrope de cet allèle sur ces caractères et sur l'activité enzymatique de la PPO et la teneur en protéines.

La même chose s'est produite avec *LOXA*, il a été corrélé avec ARE, PER, MAJ, TKW et TP dans cette étude, mais cela n'est pas en accord avec les études précédentes qui ont identifié leur association avec l'activité enzymatique de la lipoxigénase (Hessler *et al.*, 2002 ; Geng *et al.*, 2012). Cette enzyme possédait un effet indésirable sur l'aspect et l'arôme du produit fini lors de son activité au cours de la procédure de mouture (Siedow, 1991 ; Carrera *et al.*, 2007). Par conséquent, l'étude de sa présence ou de son absence peut aider le généticien à sélectionner facilement le génotype d'intérêt. De plus, son association indirecte dans la présente étude pourrait augmenter le degré de sélection indirecte.

En général, l'amidon synthétase lié aux grains (*GBSS-4A* ou *Wx-B1*) a été associé à la synthèse de l'amidon, plus précisément à la synthèse d'amylose (Sharma *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2016), mais dans notre étude, il a été lié très profondément au PMG. Ce résultat signifie qu'il existe une réelle relation entre eux et cela s'explique par la proportion représentant l'amidon dans le poids de l'amande, où il représente 70% du poids du grain mûr (Emes *et al.*, 2003; Lafiandra *et al.*, 2012). Outre la proportion, l'amidon synthétase lié aux grains est également l'une des cinq

## RESULTATS ET DISCUSSION

enzymes impliquées dans la conversion du D-glucose en amidon (polymère de glucose : amylopectine et amylose), par conséquent, a un effet sur la teneur. Plusieurs auteurs ont indiqué que la synthèse de l'amidon a un effet direct sur l'amélioration du poids de mille grains et l'un des déterminants du rendement (Barron *et al.*, 2007 ; Huang et Brûlé-Babel, 2012 ; Zuo et Li, 2014 ; Wang *et al.*, 2019).

De même, le locus *TaSus-IIND* est lié étroitement au poids de mille grains, mais dans notre étude il a été associé avec la teneur en amidon (Rasheed *et al.*, 2016 ; Sehgal *et al.*, 2019). Hou *et al* (2014) ont reporté que pendant le remplissage du grain, le sucrose synthase est une enzyme clé dans le processus de conversion du glucose en amidon en convertissant le *D*-glucose en fructose et *UDP*-glucose. Par conséquent, l'association du locus *TaSus-IIND* et de la teneur en amidon met en évidence le rôle de cette enzyme dans la concentration en amidon. Ceci indique peut-être que ce gène a un effet direct sur la chaîne de réaction de la biosynthèse de l'amidon, donc sur la teneur en amidon.

Le marqueur du gène de phytoène synthase *PSY-IF5R5* est lié à la variation de la concentration des pigments jaunes et de la couleur de la farine dans le blé dur (Pozniak *et al.*, 2007). Cependant, son association dans cette étude était avec l'activité enzymatique de la polyphénol oxydase et non avec la teneur en pigments jaunes. Cela suggère qu'il a une relation avec le gène de l'enzyme polyphénol oxydase et cette association reflète, probablement, à travers les effets de son activité sur la dégradation des caroténoïdes lors de la mouture des grains (Colasuonno *et al.*, 2019), c'est-à-dire l'effet indésirable de la polyphenoloxydase sur la couleur jaune des produits finis. Ainsi, cela peut indiquer qu'il existe un effet de pléiotropie du gène *PSY-IFR5* sur l'activité enzymatique de PPO.

En conclusion, globalement, l'amélioration du rendement et de la qualité des céréales est une priorité essentielle pour les programmes nationaux de sélection. Les variétés locales et les cultivars anciens de blé dur représentent l'une des composantes les plus dynamiques de la diversité inexploitée par les unités de recherche sur l'amélioration génétique. Par conséquent, leur évaluation et leur caractérisation peuvent être bénéfiques pour innover de nouvelles variétés avec une bonne appréciation. Et c'est ce que cette étude a accompli, où elle a montré de grandes sources de meilleures lignées qui peuvent être introduites dans les programmes de sélection. D'une manière générale, les cultivars nord-américains se sont révélés être des systèmes de classement parfaits du blé dur en possédant les valeurs les plus élevées de paramètres de qualité, tandis que les cultivars et les variétés locales marocains présentaient les

## RESULTATS ET DISCUSSION

valeurs les plus élevées de rendement et de caractéristiques de grain, respectivement. Ces résultats peuvent constituer une source diverse et précieuse de gènes de qualité et de rendement pour les unités de recherches souhaitant à développer de nouveaux cultivars locaux avec de meilleures caractéristiques et adaptés aux conditions locales, réduisant par conséquent les appels d'offres compensant le déficit de la récolte interne.

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

### IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La connaissance de l'étendue de la diversité génétique est une considération majeure dans la conception des stratégies de conservation et de sélection. Par conséquent, l'estimation de cette diversité à l'aide de la caractérisation et l'évaluation serait très utiles pour les unités de recherche sur l'amélioration génétique de blé dur. Dans ce contexte, la présente thèse vise à analyser la diversité génétique d'une collection de blé dur maintenue dans la banque de gènes du Maroc à l'aide de descripteurs agro-morphologiques, phénotypiques, biochimiques, physico-chimiques et moléculaires. Cette collection a englobé des accessions de cultivars d'Amérique du Nord (États-Unis et Canada) en tant que systèmes de classement parfaits du blé dur et de cultivars et de variétés locales du Maroc comme des lignées adaptées au condition locales.

Au niveau du premier chapitre, l'objectif était d'évaluer la variation génétique disponibles entre 280 accessions de blé dur, incluant des variétés locales et des cultivars du Maroc et de l'Amérique du Nord, en utilisant douze caractère agro-morphologiques. Les résultats de ce chapitre ont montré une variabilité remarquable entre les accessions étudiées pour de nombreux caractères désirables, indiquant le potentiel élevé des ressources génétiques pour une amélioration efficace des cultures. L'estimation des paramètres génétiques a révélé très peu d'influence des facteurs environnementaux sur l'expression de caractères importants qui ont entraîné de faibles différences entre les coefficients de variation phénotypiques et génotypiques. De plus, une grande héritabilité au sens large couplée à un gain génétique attendu élevé a été observée pour plusieurs caractères. Plus de cela, l'analyse de l'association des traits indique que le rendement en grains est fortement et positivement corrélé avec ses composants. Donc, une amélioration par sélection directe ou indirecte est donc possible pour ces caractères.

Pour l'étude du phénotype, l'objectif de ce volet était de monter la diversité phénotypique existante entre les cultivars et les variétés locale et leur distribution de point de vue des descripteurs phénotypiques héritables. Les résultats de la présente recherche ont montré que la collection de blé dur étudiée présente une grande diversité phénotypique, due à la présence de descripteurs hautement discriminants à savoir la densité, la couleur et la glaucescence de l'épi, l'attitude de la barbe, la couleur de la barbe, la pubescence de la glume et la couleur du grain. Cette étude a également permis de déterminer la distance génétique entre les génotypes du Maroc et d'Amérique du Nord, et entre les variétés locales et les cultivars marocains. L'étendue de la diversité phénotypique dans la collection actuelle pourrait également faire l'objet de programmes d'amélioration génétique, en particulier la grande diversité phénotypique des cultivars d'Amérique du Nord et des variétés locales.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans le cas de l'étude biochimique, l'objectif de cette étude est de montrer l'importance des variétés locales par rapport les anciens cultivars du Maroc et de l'Amérique du Nord de point de vue de la richesse alléliques dans les sous-unités de gluténines de haut et faible poids moléculaire, en utilisant la technique SDS-PAGE. Une diversité allélique importante a été montrée entre les accessions, plus particulièrement entre les variétés locales. De plus, l'analyse allélique a dévoilé des allèles rares et nouveaux et des nouvelles combinaisons d'allèles parmi ces accessions, qui ont été enregistré dans le catalogue « *the catalogue of genetic symbols for wheat* » : supplément 2020 (*Annual Wheat Newsletter* : Volume 66). Cette caractérisation des cultivars et des variétés locales serait utile pour le développement de nouvelles variétés adaptées à un usage interne.

Concernant l'étude de la morphométrie du grain, caractérisation physicochimique et moléculaire, le but de cette partie était d'étudier la caractérisation physico-chimique, la morphométrie des grains et leur association avec des marqueurs ADN. Une variabilité génétique remarquable a été observée entre les accessions pour la majorité des traits testés, surtout pour l'activité enzymatique de polyphénol oxydase. Concernant la comparaison entre les valeurs moyennes des caractéristiques analysés et l'analyse par Gt-Biplot, les résultats ont démontré le progrès génétique réalisé par les programmes d'amélioration génétique sur l'amélioration des cultivars par rapport aux variétés locales en terme de qualité et de rendement, où les cultivars nord-américains avaient des valeurs modérées à élevées, les cultivars marocains avaient des valeurs élevées ou modérées à faibles et les variétés locales des valeurs intermédiaires à faibles. Quant à l'association marqueur-caractère, sur la base de l'estimation de la valeur-P, les marqueurs choisis ont dévoilé des associations nouvelles et des multiples effets pléiotropes entre les loci et les traits analysés, notamment les marqueurs *TaCwi-4A* et *LOXA*.

En général, une collection contenant des accessions qui ont été décrites par des données de passeport (donneur, origine géographique, etc.), évaluées pour leurs caractéristiques moléculaires et agronomiques, et multipliées et stockées dans une banque de gènes rend son utilisation dans la sélection plus facile et plus efficace. Par conséquent, nous pouvons conclure que les résultats de la présente thèse pourraient offrir des opportunités importantes à l'avenir pour les programmes de sélection, plus particulièrement les unités de recherche sur l'amélioration génétique de blé dur, visant à développer des nouvelles variétés plus productives, de bonne qualité, et répondant ainsi aux besoins et nécessités de la société locale.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La caractérisation agro-morphologique, phénotypique, biochimique et moléculaire de ces accessions pourrait certainement offrir de meilleures opportunités pour les sélectionneurs visant à améliorer la productivité et la qualité de blé dur locale. Cependant, dans l'objectif de valoriser et rentabiliser notre étude, il serait intéressant et judicieux de suggérer de nouvelles perspectives.

Pour obtenir du blé dur local aux normes internationales, il est nécessaire de disposer aux sélectionneurs une grande base de données des gènes responsables de caractères d'intérêt agronomique (résistance, rendement et qualité). Celle-ci est réalisé en collectant et en caractérisant de nombreuses ressources génétiques.

Réellement, la diversité génotypique identifiée à l'aide de marqueurs conventionnels dans la présente étude serait mieux exploitée si elle était complétée par l'analyse de la diversité génétique à l'aide de marqueurs moléculaires spécifiques. Cette perspective permettra d'offrir une opportunité de faire une étude sur la diversité génétique à l'aide de marqueurs moléculaires spécifiques.

Egalement, pour les sous-unités de gluténines, la présente étude ouvre la possibilité de recherches complémentaires visant à étudier les effets des allèles rares et nouveaux et des nouvelles combinaisons d'allèles sur les paramètres et les tests de qualité.

Finalement, dans le but d'accomplir la caractérisation et l'évaluation complètes des accessions, il serait intéressant de faire une étude plus profonde sur la qualité de la rhéologie de la pâte, la cuisson, et la couleur du produit-fini (comme le taux de cendres, d'humidité et de luminosité, les tests d'élasticité et viscosité de la pâte, les enzymes affectant la couleur...etc.), et d'élargir le nombre des marqueurs moléculaires associés aux caractères du rendement et de la qualité, en facilitant par conséquent la sélection des génotypes par la sélection assistée par marqueurs, plus particulièrement la sélection des variétés locales.

Ainsi, outre la caractérisation et l'évaluation de la qualité de cette collection de blé dur, l'étude ouvre la perspective d'analyser la tolérance de ces accessions vis-à-vis du stress (biotique et abiotique) via des marqueurs conventionnels et des marqueurs moléculaires liées à des gènes de résistance.

## V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AACC (American Association of Cereal Chemists), 2000. In: Approved Methods of the AACC, 10th ed. Method 14-50. St, Paul, MN, USA.
- Aalami, M., Rao, U.J.S.P., Leelavathi, K., 2007. Physicochemical and biochemical characteristics of Indian durum wheat varieties: Relationship to semolina milling and spaghetti making quality. *Food Chemistry* 102, 993–1005. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.052>
- Abdel-Aal, E.-S.M., Young, J.C., Rabalski, I., Hucl, P., Fregeau-Reid, J., 2007. Identification and quantification of seed carotenoids in selected wheat species. *J. Agric. Food Chem.* 55, 787–794. <https://doi.org/10.1021/jf062764p>
- Abinasa, M., Ayana, A., Bultosa, G., 2011. Genetic variability, heritability and trait associations in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) genotypes. *African J Agric Sear*, 6, 3972-3979.
- Aghaee, M., Mohammadi, R., Nabovati, S., 2010. Agro-morphological characterization of durum wheat accessions using pattern analysis. *Australian Journal of Crop Science* 4, 505–514.
- Aguiriano, E., Ruiz, M., Fité, R., Carrillo, J.M., 2008. Genetic variation for glutenin and gliadins associated with quality in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *turgidum*) landraces from Spain. *Span J Agric Res* 6, 599. <https://doi.org/10.5424/sjar/2008064-353>
- Aguiriano, E., Ruiz, M., Fité, R., Carrillo, J.M., 2006. Analysis of genetic variability in a sample of the durum wheat (*Triticum durum* desf.) Spanish collection based on gliadin markers. *Genet Resour Crop Evol* 53, 1543–1552. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-7767-z>
- Akçura, M., n.d. Genetic variability and interrelationship among grain yield and some quality traits in Turkish winter durum wheat landraces. *Turk J Agri For*, 33, 547-556.
- Akesbi, N., 2005. Agriculture, pêche, alimentation et développement rural durable dans la région méditerranéenne-Rapport annuel 2005, Maroc.
- Al Khanjari, S., Filatenko, A.A., Hammer, K., Buerkert, A., 2008. Morphological spike diversity of Omani wheat. *Genet Resour Crop Evol* 55, 1185–1195. <https://doi.org/10.1007/s10722-008-9319-9>
- Alemu, A., Feyissa, T., Tuberosa, R., Maccaferri, M., Sciara, G., Letta, T., Abeyo, B., 2020. Genome-wide association mapping for grain shape and color traits in Ethiopian durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*). *The Crop Journal*, CJ-00434,10. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.01.001>
- Ali, A., Ullah, Z., Alam, N., Naqvi, S.M.S., Jamil, M., Bux, H., Sher, H., 2020. Genetic analysis of wheat grains using digital imaging and their relationship to enhance grain weight. *Sci agric (Piracicaba, Braz.)* 77, e20190069. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0069>
- Ali S, Shah SMA, Hassnain A, Shah Z, Munir I, 2007. Genotypic variation for yield and morphological traits in wheat. *Sarhad J Agric*, 23, 943-946.
- Allard, R.W., 1960. Principles of plant breeding. J. Wiley, New York.
- Alvarez, Guzmán, 2019. Recovery of wheat heritage for traditional food: Genetic variation for high molecular weight glutenin subunits in neglected/underutilized wheat. *Agronomy* 9, 755. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110755>
- Alzuwaid, N.T., Sissons, M., Laddomada, B., Fellows, C.M., 2020. Nutritional and functional properties of durum wheat bran protein concentrate. *Cereal Chem* 97, 304–315. <https://doi.org/10.1002/cche.10246>
- Amallah, L., Taghouti, M., Rhrib, K., Gaboun, F., Arahou, M., Hassikou, R., Diria, G., 2016. Validation of simple sequence repeats associated with quality traits in durum wheat. *J Crop Sci Biotech* 19, 137–150. <https://doi.org/10.1007/s12892-016-0096-2>
- Amallah, L., Taghouti, M., Rhrib, K., Gaboun, F., Hassikou, R., 2015. Genetic variability in agro-morphological and quality traits of Mediterranean durum wheat landraces. *Cereal Res Commun* 43, 123–132. <https://doi.org/10.1556/CRC.2014.0029>
- Ammar, K., Kronstad, W.E., Morris, C.F., 2000. Breading quality of selected durum wheat genotypes and its relationship with high molecular weight glutenin subunits allelic variation and gluten protein polymeric composition. *Cereal Chem* J77, 230–236. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2000.77.2.230>



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anderson, J.V., Morris, C.F., 2003. Purification and analysis of wheat grain polyphenol oxidase (PPO) protein. *Cereal Chem J* 80, 135–143. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2003.80.2.135>
- Anderson, J.V., Morris, C.F., 2001. An improved whole-seed assay for screening wheat germplasm for polyphenol oxidase activity. *Crop Sci* 41, 1697–1705. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.1697>
- Ashwell, G., 1957. Colorimetric analysis of sugars. *Methods EnZymol*, 3, 73-105.
- Autran, J.C., Galterio, G., 1989. Associations between electrophoretic composition of proteins, quality characteristics and agronomic attributes of durum wheats II. Protein-quality associations. *Journal of Cereal Science* 9, 195–215. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(89\)80002-5](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(89)80002-5)
- Babay, E., Hanana, M., Mzid, R., Haj-Salah, H.B., Rodriguez-Quijano, M., Ghorbel, A., Slim-Amara, H., 2014. Diversité génétique et qualité technologique du blé dur (*Triticum turgidum L. subsp. durum (Desf.) Husn.*) cultivé en Tunisie. *J New Sci* 4, 33-44.
- Baker, R.J., Bendelow, V.M., Kaufmann, M.L., 1968. Inheritance of and interrelationships among yield and several quality traits in common wheat. *Crop Sci* 8, 725–728. <https://doi.org/10.2135/cropsci1968.0011183X000800060025x>
- Bakhella, M., Akil, M., 1995. Appréciation de la valeur semoulière des principales variétés marocaines de blé dur. *Actes Inst Agron Vet (Maroc)* 16, 19–28.
- Bancel, E., Bonnot, T., Davanture, M., Alvarez, D., Zivy, M., Martre, P., Déjean, S., Ravel, C., 2019. Proteomic Data Integration Highlights Central Actors Involved in Einkorn (*Triticum monococcum ssp. monococcum*) grain filling in relation to grain storage protein composition. *Front Plant Sci*, 10, 832. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00832>
- Barron, C., Surget, A., Rouau, X., 2007. Relative amounts of tissues in mature wheat (*Triticum aestivum 467 L.*) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. *J Cereal Sci* 45, 88-96
- Bassi, F.M., Hassouni, K.E., Alahmad, S., Kabbaj, H., Zaim, M., Azouz, M., Sall, A.T., Kehel, Z., Abdallat, A.A., Alary, V., Niane, A.A., Belkadi, B., Filali-Maltouf, A., Hickey, L., Baum, M., Amri, A., 2019. The magic of crop wild relatives in durum wheat breeding. In: First International experts workshop on pre-breeding utilizing crop wild relatives. Program and abstract book. ICARDA, CWR. Rabat: ICARDA, 49-53. International Experts Workshop on Pre-breeding utilizing Crop Wild Relatives (PBCWR), Rabat, 2019/2019.
- Bechere, E., Belay, G., Mitiku, D., Merker, A., 1996. Phenotypic diversity of tetraploid wheat landraces from northern and north-central regions of Ethiopia. *Hereditas* 124, 165–172. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1996.00165.x>
- Becher, E., Pena, R.J., Mitiku, D., 2002. Glutenin composition, quality characteristics, and agronomic attributes of durum wheat realized in Ethiopia. *Afri Crop Sci J* 2, 177-182.
- Bekele, E., 2008. Analysis of regional patterns of phenotypic diversity in the Ethiopian tetraploid and hexaploid wheats. *Hereditas* 100, 131–154. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1984.tb00114.x>
- Belaid, A., Nsarellah, N., Laamari, A., Nachit, M., Amri, A., 2003. Assessing the economic impact of durum wheat research in Morocco. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. Aleppo, Syria, pp:51.
- Beleggia, R., Platani, C., Nigro, F., Papa, R., 2011. Yellow Pigment Determination for Single Kernels of Durum Wheat (*Triticum durum Desf.*). *Cereal Chem J* 88, 504–508. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-02-11-0013>
- Belhadj, H., Medini, M., Bouhaouel, I., Amara, H., 2015. Analyse de la diversité phénotypique de quelques accessions autochtones de blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum Desf.*) du sud tunisien. *J New Sci* 24, 1115-1125.
- Bellil, I., Chekara Bouziani, M., Khelifi, D., 2012. Genetic diversity of high and low molecular weight glutenin subunits in Saharan bread and durum wheats from Algerian Oases. *Czech J Genet Plant Breed* 48, 23–32. <https://doi.org/10.17221/105/2011-CJGPB>
- Bellil, I., Hamdi, O., Khelifi, D., 2014. Diversity of five glutenin loci within durum wheat (*Triticum turgidum L. ssp. durum (Desf.) Husn.*) germplasm grown in Algeria. *Plant Breed* 133, 179–183. <https://doi.org/10.1111/pbr.12156>
- Berman, M., Bason, M.L., Ellison, F., Peden, G., Wrigley, C.W., 1996. Image analysis of whole grains to screen for flour-milling yield in wheat breeding. *Cereal Chem* 73, 323-327.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bhandari, H.R., Nishant Bhanu, A., Srivastava, K., Singh, M.N., Shreya, Hemantaranjan, A., 2017. Assessment of genetic diversity in crop panlt-an review. *Adv Plants Agric Res* 7, 279-286.
- Bhargava, A., Srivastava, S., 2019. Participatory plant breeding: Concept and applications. Springer Singapore, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-7119-6>
- Birouk, A., Mellas, H., 2002. Genèse et organisation du projet In-situ Maroc. In: La conservation in-situ de la biodiversité agricole: un défi pour une agriculture durable. Actes du séminaire national Rabat, 21 et 22 janvier 2002, Rabat (Maroc), 2002.
- Blackmer, T.M., Schepers, J.S., 2001. Techniques for monitoring crop nitrogen status in corn, *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, no 25, 1791-1800. 1994 Scharf, P.C., Soil and plant tests to predict optimum nitrogen rates for corn, *J. Plant Nutr.*, No 24, p. 805-826.
- Blanco, A., Colasuonno, P., Gadaleta, A., Mangini, G., Schiavulli, A., Simeone, R., Digesù, A.M., De Vita, P., Mastrangelo, A.M., Cattivelli, L., 2011. Quantitative trait loci for yellow pigment concentration and individual carotenoid compounds in durum wheat. *J Cereal Sci* 54, 255–264. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.07.002>
- Bockelman, H.E., Valkoun. J., Ullrich S.E., 2010. Barley germplasm conservation and resources. *Barley: improvement, production, and uses*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 144-159.
- Boggini, G., Tusa, P., Pogna, N.E., 1995. Bread making quality of durum wheat genotypes with some novel glutenin subunit compositions. *J Cereal Sci* 22, 105–113. [https://doi.org/10.1016/0733-5210\(95\)90039-X](https://doi.org/10.1016/0733-5210(95)90039-X)
- Bonjean, A., 2001. Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*Triticum aestivum* L.). In : Agriculture et biodiversité des plantes. Dossier de l'environnement de l'INRA N°21, 29-37.
- Bordes, J., Ravel, C., Le Gouis, J., Lapierre, A., Charmet, G., Balfourier, F., 2011. Use of a global wheat core collection for association analysis of flour and dough quality traits. *J Cereal Sci* 54, 137–147. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.03.004>
- Borrelli, G.M., Troccoli, A., Di Fonzo, N., Fares, C., 1999. Durum wheat lipoxygenase activity and other quality parameters that affect pasta color. *Cereal Chem J* 76, 335–340. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.335>
- Bouhaouel, I., Medini, M., Belhadj, H., Ayed, O.S., Jabri, C., Slim, H., 2019. Phenotypic diversity of barley (*Hordeum vulgare* L. *subsp. vulgare*) landraces from the Center and the South of Tunisia and identification of potential area of on-farm conservation. *J NEW Sci* 66, 4157-4169.
- Brandolini, A., Hidalgo, A., Gabriele, S., Heun, M., 2015. Chemical composition of wild and feral diploid wheats and their bearing on domesticated wheats. *J Cereal Sci* 63, 122–127. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.03.005>
- Brandolini, A., Hidalgo, A., Moscaritolo, S., 2008. Chemical composition and pasting properties of einkorn (*Triticum monococcum* L. *subsp. monococcum*) whole meal flour. *J Cereal Sci* 47, 599–609. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.07.005>
- Branlard, G., Autran, J.C., Monneveux, P., 1989. High molecular weight glutenin subunit in durum wheat (*T. durum*). *Theoret Appl Genetics* 78, 353–358. <https://doi.org/10.1007/BF00265296>
- Brites, C., Carrillo, J.M., 2001. Influence of High Molecular Weight (HMW) and Low Molecular Weight (LMW) Glutenin Subunits Controlled by *Glu-1* and *Glu-3* Loci on Durum Wheat Quality. *Cereal Chem J* 78, 59–63. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2001.78.1.59>
- Brouns, F., Hemery, Y., Price, R., Anson, N.M., 2012. Wheat aleurone: Separation, composition, health aspects, and potential food use. *Crit Rev Food Sci Nutr* 52, 553–568. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.589540>
- Brush, B., Meng, E., 1998. Farmers' valuation and conservation of crop genetic resources. *Gen Res Crop Evol* 45, 139–150.
- Burton, G.W., 1952. Quantitative inheritance in grasses. *Proceedings of 6th International Grassland Congress* 277-283.
- Cam, D., 2017. Global Durum Outlook. Disponible en ligne : [http://www.italmopa.com/wp-content/uploads/2017/05/144\\_all\\_1.pdf](http://www.italmopa.com/wp-content/uploads/2017/05/144_all_1.pdf) (Consultée le 25 Janvier 2020)
- Carrera, A., Echenique, V., Zhang, W., Helguera, M., Manthey, F., Schrager, A., Picca, A., Cervigni, G., Dubcovsky, J., 2007. A deletion at the Lpx-B1 locus is associated with low lipoxygenase activity and improved pasta color in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*). *Journal of Cereal Science* 45, 67–77. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.07.001>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Carrillo, J.M., Martínez, M.C., Brites, M.C., Nieto-Taladriz, M.T., Vázquez, J.F., 2000. Relationship between endosperm proteins and quality in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). In: Royo, C., Nachit, M., Di Fonzo, N., Araus, J.L. (Eds.), Durum wheat quality in the Mediterranean region: New challenges. CIHEAM (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 40), Zaragoza, Spain, 2000; pp. 463–467.
- Carrillo, J.M., Vazquez, J.F., Orkellana, J., 1990. Relationship between gluten strength and glutenin proteins in durum wheat cultivars. *Plant Breeding* 104, 325–333. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1990.tb00443.x>
- Cenci, A., Somma, S., Chantret, N., Dubcovsky, J., Blanco, A., 2004. PCR identification of durum wheat BAC clones containing genes coding for carotenoid biosynthesis enzymes and their chromosome localization. *Genome* 47, 911–917. <https://doi.org/10.1139/g04-033>
- Chacón, E.A., Vázquez, F.J., Giraldo, P., Carrillo, J.M., Benavente, E., Rodríguez-Quijano, M., 2020. Allelic variation for prolamins in Spanish durum wheat landraces and its relationship with quality traits. *Agronomy* 10, 136. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010136>
- Chai, J.F., Zhou, R.H., Jia, J.Z., Liu, X., 2006. Development and application of a new codominant PCR marker for detecting 1BL.1RS wheat-rye chromosome translocations. *Plant Breeding* 125, 302–304. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01186.x>
- Chawade, A., Armoniené, R., Berg, G., Brazauskas, G., Frostgård, G., Geleta, M., Gorash, A., Henriksson, T., Himanen, K., Ingver, A., Johansson, E., Jørgensen, L.N., Koppel, M., Koppel, R., Makela, P., Ortiz, R., Podyma, W., Roitsch, T., Ronis, A., Svensson, J.T., Vallenback, P., Weih, M., 2018. A transnational and holistic breeding approach is needed for sustainable wheat production in the Baltic Sea region. *Physiol Plantarum* 164, 442–451. <https://doi.org/10.1111/ppl.12726>
- Chegdali, Y.; Ouabbou, H.; Essamadi, A.; Cervantes, F.; Ibba, M.I.; Guzmán, C. Assessment of the Glutenin Subunits Diversity in a Durum Wheat (*T. turgidum* ssp. *Durum*) Collection from Morocco. *Agronomy* 2020, 10, 957.
- Chen, G.-X., Zhou, J.-W., Liu, Y.-L., Lu, X.-B., Han, C.-X., Zhang, W.-Y., Xu, Y.-H., Yan, Y.-M., 2016. Biosynthesis and regulation of wheat amylose and amylopectin from proteomic and phosphoproteomic characterization of granule-binding proteins. *Sci Rep* 6, 33111. <https://doi.org/10.1038/srep33111>
- Chentoufi, L., Sahri, A., Arbaoui, M., Belqadi, L., Birouk, A., Roumet, P., Muller, M.-H., 2014. Anchoring durum wheat diversity in the reality of traditional agricultural systems: varieties, seed management, and farmers' perception in two Moroccan regions. *J Ethnobiol Ethnomed* 10, 58. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-10-58>
- Chentoufi, L., Sahri, A., Arbaoui, M., Birouk, A., Roumet, P., Muller, M.-H., Belqadi, L., 2014. Diversité agro-morphologique et gestion variétale par les agriculteurs du blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) dans le Pré-Rif marocain. *Rev Mar Sci Agron Vet* 2, 30-38.
- Cherdouh, A., Khelifi, D., Carrillo, J.M., Nieto-Taladriz, M.T., 2005. The high and low molecular weight glutenin subunit polymorphism of Algerian durum wheat landraces and old cultivars. *Plant Breeding* 124, 338–342. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2005.01118.x>
- Cho, R.J., Mindrinos, M., Richards, D.R., Sapolsky, R.J., Anderson, M., Drenkard, E., Dewdney, J., Reuber, T.L., Stammers, M., Federspiel, N., Theologis, A., Yang, W.-H., Hubbell, E., Au, M., Chung, E.Y., Lashkari, D., Lemieux, B., Dean, C., Lipshutz, R.J., Ausubel, F.M., Davis, R.W., Oefner, P.J., 1999. Genome-wide mapping with biallelic markers in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Genet* 23, 203–207. <https://doi.org/10.1038/13833>
- Choi, I.-Y., Hyten, D.L., Matukumalli, L.K., Song, Q., Chaky, J.M., Quigley, C.V., Chase, K., Lark, K.G., Reiter, R.S., Yoon, M.-S., Hwang, E.-Y., Yi, S.-I., Young, N.D., Shoemaker, R.C., van Tassell, C.P., Specht, J.E., Cregan, P.B., 2007. A Soybean transcript map: Gene distribution, haplotype and single-nucleotide polymorphism analysis. *Genetics* 176, 685–696. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.070821>
- Clark, J.A., Bayles, B.B., 1939. Classification of wheat varieties grown in U.S. U.S.D.A. Washington DC Techn Bull, pp: 459-164.
- Close, T.J., Bhat, P.R., Lonardi, S., Wu, Y., Rostoks, N., Ramsay, L., Druka, A., Stein, N., Svensson, J.T., Wanamaker, S., Bozdag, S., Roose, M.L., Moscou, M.J., Chao, S., Varshney, R.K., Szűcs, P., Sato, K., Hayes, P.M., Matthews, D.E., Kleinhofs, A., Muehlbauer, G.J., DeYoung, J.,

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Marshall, D.F., Madishetty, K., Fenton, R.D., Condamine, P., Graner, A., Waugh, R., 2009. Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley. *BMC Genomics* 10, 582. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-582>
- Colasuonno, P., Marcotuli, I., Blanco, A., Maccaferri, M., Condorelli, G.E., Tuberosa, R., Parada, R., de Camargo, A.C., Schwember, A.R., Gadaleta, A., 2019. Carotenoid pigment content in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var *durum*): an overview of quantitative trait loci and candidate genes. *Front. Plant Sci.* 10, 1347. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01347>
- Collard, B.C.Y., Mackill, D.J., 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil Trans R Soc B* 363, 557–572. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2170>
- Coventry, S.J., Collins, H.M., Barr, A.R., Jefferies, S.P., Chalmers, K.J., Logue, S.J., Langridge, P., 2003. Use of putative QTLs and structural genes in marker assisted selection for diastatic power in malting barley (*Hordeum vulgare* L.). *Aust J Agric Res* 54, 1241-1250. <https://doi.org/10.1071/AR02193>
- Crête, P., 1965. Précis de botanique .Tome II, systématique des angiospermes.Paris.
- Crop Quality Report, 2019. 2019 Crop Quality Report, U.S. Wheat Associates. ed, USW staff, U.S. wheat farmers, state wheat commission staff and industry guests at the 2019 USW World Staff Conference. ([www.uswheat.org](http://www.uswheat.org))
- Damidaux, R., Autran, J.G., Grignac, P., Feillet, P., 1978. Mise en évidence de relations applicables en sélection entre l'électrophoregramme des gliadines et les propriétés viscoélastique du gluten de *Triticum durum* Desf. *C R Acad Sci Paris* 287, 701-704.
- De Villiers, O.T., Laubscher, E.W., 1995. Use of the SDSS test to predict the protein content and bread volume of wheat cultivars. *S Afr J Plant Soil* 12, 140–142. <https://doi.org/10.1080/02571862.1995.10634353>
- De Vita, P., Nicosia, O.L.D., Nigro, F., Platani, C., Riefolo, C., Di Fonzo, N., Cattivelli, L., 2007. Breeding progress in morpho-physiological, agronomical and qualitative traits of durum wheat cultivars released in Italy during the 20th century. *Eur J Agron* 26, 39–53. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.08.009>
- Demeke, T., Morris, C.F., Campbell, K.G., King, G.E., Anderson, J.A., Chang, H., 2001. Wheat polyphenol oxidase: Distribution and genetic mapping in three inbred line populations. *Crop Sci.* 41, 1750–1757. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.1750>
- Dexter, J.E., Mastuo, R.R., Martin, D.G., 1987. The effect of test weight on durum wheat quality. *Cereal Foods World* 32,772-777.
- Dhaliwal, H.S., Garg, M., Singh, H., Chhuneja, P., Kaur, H., 2002. Transfer of HMW-glutenin subunits from wild wheats into *Triticum durum* and improvement of quality. *Cereal Research Commun* 30, 173–180.
- Dick, J.W., Quick, J.S., 1983. Modified screening test for rapid estimation of gluten strength in early-generation durum wheat breeding lines. *Cereal Chem* 60, 315-318.
- Díez, M.J., De la Rosa, L., Martín, I., Guasch, L., Cartea, M.E., Mallor, C., Casals, J., Simó, J., Rivera, A., Anastasio, G., Prohens, J., Soler, S., Blanca, J., Valcárcel, J.V., Casañas, F., 2018. Plant Genebanks: Present situation and proposals for their improvement. The case of the Spanish Network. *Front Plant Sci* 9, 1794. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01794>
- Dreisigacker, S., Sehgal, D., Reyes Jaimez, A., Luna Garrido, A., Muñoz Savala, S., Núñez-Ríos, C., Mollins, J., Mall, S., 2016. CIMMYT wheat molecular genetics: Laboratory protocols and applications to wheat breeding. *CIMMYT*.
- Dreisigacker, S., Xiao, Y., Sehgal, D., Guzman, C., He, Z., Xia, X., Peña, R.J., 2020. SNP markers for low molecular glutenin subunits (LMW-GSs) at the Glu-A3 and Glu-B3 loci in bread wheat. *PLoS ONE* 15, e0233056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233056>
- Du Cros, D.L., 1987. Glutenin proteins and gluten strength in durum wheat. *J Cereal Sci* 5, 3–12.
- Dubcovsky, J., Dvorak, J., 2007. Genome Plasticity a Key Factor in the Success of Polyploid Wheat Under Domestication. *Science* 316, 1862–1866. <https://doi.org/10.1126/science.1143986>
- Duda, A., Adamczak, J., Chelminska, P., Juszkievicz, J., Kowalczewski, P., 2019. Quality and nutritional/textural properties of durum wheat pasta enriched with cricket powder. *Foods*.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Edwards, K.J., Reid, A.L., Coghill, J.A., Berry, S.T., Barker, G.L.A., 2009. Multiplex single nucleotide polymorphism (SNP)-based genotyping in allohexaploid wheat using padlock probes. *Plant Biotechnol J* 7, 375–390. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00413.x>
- Edwards, N.M., Dexter, J.E., Scanlon, M.G., 2002. Starch participation in durum dough linear viscoelastic properties. *Cereal Chem J* 79, 850–856. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2002.79.6.850>
- Edwards, N.M., Gianibelli, M.C., McCaig, T.N., Clarke, J.M., Ames, N.P., Larroque, O.R., Dexter, J.E., 2007. Relationships between dough strength, polymeric protein quantity and composition for diverse durum wheat genotypes. *J Cereal Sci* 45, 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.07.012>
- Ehdaiel, B., Waines, J.G., 1989. Genetic variation, heritability and path-analysis in landraces of bread wheat from southwestern Iran. *Euphytica* 41, 183–190.
- El-Khayat, G.H., Samaan, J., Brennan, C.S., 2003. Evaluation of vitreous and starchy Syrian durum (*Triticum Durum*) wheat grains: The effect of amylose content on starch characteristics and flour pasting properties. *Starch/Stärke* 55, 358–365. <https://doi.org/10.1002/star.200300206>
- El-Khayat, G.H., Samaan, J., Manthey, F.A., Fuller, M.P., Brennan, C.S., 2006. Durum wheat quality I: some physical and chemical characteristics of Syrian durum wheat genotypes. *Int J Food Sci Tech* 41, 22–29. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01245.x>
- Elouafi, I., Nachit, M.M., Martin, L.M., 2001. Identification of a microsatellite on chromosome 7B showing a strong linkage with yellow pigment in durum wheat (*Triticum turgidum L. var. durum*). *Hereditas* 135, 255–261. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.2001.t01-1-00255.x>
- Emes, M.J., Bowsher, C.G., Hedley, C., Burrell, M.M., Scrase-Field, E.S.F., Tetlow, I.J., 2003. Starch synthesis and carbon partitioning in developing endosperm. *J Experim Bot* 54, 569–575. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg089>
- Eticha, F., Bekele, E., Belay, G., Börner, A., 2005. Phenotypic diversity in tetraploid wheats collected from Bale and Wello regions of Ethiopia. *Plant Genet Resour* 3, 35–43. <https://doi.org/10.1079/PGR200457>
- Evans, L.T., 1981. Yield improvement in wheat: empirical or analytical?, in: In: L.T. Evans, W.J. Peacock (Eds.), *Wheat Science-Today and Tomorrow*, Cambridge University Press, Cambridge. pp. 203-222.
- Falconer, D.S., Mackay, T.F.C., 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. Ed4, Harlow Green, Longman, Essex, UK.
- FAO, 2018. Food and Agriculture Organization. FAO, Rome, Italy, 2018. <http://faostat.fao.org/faostat> (consulté le 18 Août 2018).
- FAO, 1998. *The state of food and agriculture*. FAO, Rome, Italy, 1998.
- Fayaz, F., Aghaee Sarbarzeh, M., Talebi, R., Azadi, A., 2019a. Genetic Diversity and Molecular Characterization of Iranian Durum Wheat Landraces (*Triticum turgidum durum (Desf.) Husn.*) Using DArT Markers. *Biochem Genet* 57, 98–116. <https://doi.org/10.1007/s10528-018-9877-2>
- Fayaz, F., Sarbarzeh, M.A., Talebi, R., Azadi, A., 2019b. Genetic Diversity and Molecular Characterization of Iranian Durum Wheat Landraces (*Triticum turgidum durum (Desf.) Husn.*) Using DArT Markers. *Biochemical Genetics* 98–116.
- Federer, W.T., 1956. Augmented (or hoonuiaku) designs. *Hawaiian Planter's Records* 55, 191-208.
- Feillet, P., 2000. *Le grain de blé. Composition et utilisation*. Collection Mieux Comprendre, INRA, Paris 2000.
- Feltus, F.A., 2004. An SNP resource for rice genetics and breeding based on Subspecies Indica and Japonica genome alignments. *Genome Research* 14, 1812–1819. <https://doi.org/10.1101/gr.2479404>
- Feuillet, C., Langridge, P., Waugh, R., 2008. Cereal breeding takes a walk on the wild side. *Trends in Genetics* 24, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.11.001>
- Fiedler, J.D., Salsman, E., Liu, Y., Michalak de Jiménez, M., Hegstad, J.B., Chen, B., Manthey, F.A., Chao, S., Xu, S., Elias, E.M., Li, X., 2017. Genome-Wide association and prediction of grain and semolina quality traits in durum wheat breeding populations. *The Plant Genome* 10, plantgenome2017.05.0038. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2017.05.0038>
- Flint-Garcia, S.A., Thornsberry, J.M., Buckler, E.S., 2003. Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annu Rev Plant Biol* 54, 357–374. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134907>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Frankel, Brown, A.H.D., Burdon, 1995. *The Conservation of Plant Biodiversity*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Fu, B., Chiremba, C., Pozniak, C., Wang, K., Nam, S., 2017. Total phenolic and yellow pigment contents and antioxidant activities of durum wheat milling fractions. *Antioxidants* 6, 78. <https://doi.org/10.3390/antiox6040078>
- Fuerst, E.P., Anderson, J.V., Morris, C.F., 2006. Delineating the role of polyphenol oxidase in the darkening of alkaline wheat noodles. *J Agric Food Chem* 54, 2378–2384. <https://doi.org/10.1021/jf0526386>
- Galterio, G., Grita, L., Brunori, A., 1993. Pasta-Making quality in triticum durum. new indices from the ratio among protein components separated by SDS-PAGE. *Plant Breeding* 110, 290–296. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1993.tb00592.x>
- Ganeva, G., Korzun, V., Landjeva, S., Popova, Z., Christov, N.K., 2010. Genetic diversity assessment of Bulgarian durum wheat (*Triticum durum Desf.*) landraces and modern cultivars using microsatellite markers. *Genet Resour Crop Evol* 57, 273–285. <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9468-5>
- Genesys PGR, 2018. <https://www.genesys-pgr.org/>. (consulté le 18 juin 2018)
- Geng, H., Xia, X., Zhang, L., Qu, Y., He, Z., 2012. Development of functional markers for a lipoxygenase gene talox-bl on chromosome 4bs in common wheat. *Crop Sci* 52, 568–576.
- Gill, H.S., Li, C., Sidhu, J.S., Liu, W., Wilson, D., Bai, G., Gill, B.S., Sehgal, S.K., 2019. Fine Mapping of the Wheat Leaf Rust Resistance Gene Lr42. *IJMS* 20, 2445. <https://doi.org/10.3390/ijms20102445>
- Giraldo, P., Ruiz, M., Ibba, M.I., Morris, C.F., Labuschagne, M.T., Igrejas, G., 2020. Durum wheat storage protein composition and the role of LMW-GS in quality. In: *Wheat quality for improving processing and human health*. Springer Nature Switzerland AG, Gewerbestrasse 11, 6330 Cham, Switzerland.
- Goel, S., Yadav, M., Singh, K., Jaat, R.S., Singh, N.K., 2018. Exploring diverse wheat germplasm for novel alleles in HMW-GS for bread quality improvement. *J Food Sci Technol* 55, 3257–3262. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3259-y>
- Gupta, A., Singh, C., Kumar, V., Kundu, S., Tiwari, V., Singh, G.P., 2017. Indian Wheat Varieties at a Glance, Vol. II (Varieties released between 2006–2017). ICAR-Indian Institute of Wheat and Barley Research, Karnal- 132001, India, pp: 156.
- Gupta, H.S., Hossain, F., Muthusamy, V., Zunjare, R.U., 2019. Marker-Assisted Breeding for Enrichment of Provitamin A in Maize. In: Qureshi, A.M.I., Dar, Z.A., Wani, S.H. (Eds.), *Quality Breeding in Field Crops*. Springer International Publishing, Cham, pp: 139–157. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-04609-5\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-04609-5_6)
- Guzmán, C., Ortega, R., Yamamori, M., Peña, R.J., Alvarez, J.B., 2015. Molecular characterization of two novel null waxy alleles in Mexican bread wheat landraces. *J Cereal Sci* 62, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.11.003>
- Haas, M., Schreiber, M., Mascher, M., 2019. Domestication and crop evolution of wheat and barley: Genes, genomics, and future directions. *J Integr Plant Biol* 61, 204–225. <https://doi.org/10.1111/jipb.12737>
- Hailu, F., Johansson, E., Merker, A., 2010. Patterns of phenotypic diversity for phenologic and qualitative traits in Ethiopian tetraploid wheat germplasm. *Genet Resour Crop Evol* 57, 781–790. <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9518-z>
- Hailu, F., Merker, A., Harjit-Singh, Belay, G., Johansson, E., 2006. Multivariate analysis of diversity of *Tetraploid* wheat germplasm from Ethiopia. *Genet Resour Crop Evol* 53, 1089–1098. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-9776-3>
- Hamdi, W., Bellil, I., Branlard, G., Khelifi, D., Street, C., 2010. Genetic variation and geographical diversity for seed storage proteins of seventeen durum wheat populations collected in Algeria. *Not Bot Hort Agrobot Cluj* 38, 22–32.
- Hammami, R., Ayadi, B., Bargaoui, B., Mnajja, M., Gharbi, M.S., 2017. Study of the Genetic Diversity of Quality Parameters of Fourteen Varieties of Durum Wheat (*Triticum durum*) grown in Tunisia. *J New Sci* 47, 2548–2563.
- Hansen, J., Møller, I., 1975. Percolation of starch and carbohydrates from plant tissue for quantitative determination with anthrone. *Anal Biochem* 68, 87–94.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- He, X.Y., He, Z.H., Ma, W., Appels, R., Xia, X.C., 2009. Allelic variants of phytoene synthase 1 (*Psy1*) genes in Chinese and CIMMYT wheat cultivars and development of functional markers for flour colour. *Mol Breeding* 23, 553–563. <https://doi.org/10.1007/s11032-009-9255-1>
- He, X.Y., Zhang, Y.L., He, Z.H., Wu, Y.P., Xiao, Y.G., Ma, C.X., Xia, X.C., 2008. Characterization of phytoene synthase 1 gene (*Psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker. *Theor Appl Genet* 116, 213–221. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0660-8>
- Hemery, Y., Rouau, X., Lullien-Pellerin, V., Barron, C., Abecassis, J., 2007. Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *J Cereal Sci* 46, 327–347. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.09.008>
- Henkrar, F., El-Haddoury, J., Iraqi, D., Bendaou, N., Udupa, S.M., 2017. Allelic variation at high-molecular weight and low-molecular weight glutenin subunit genes in Moroccan bread wheat and durum wheat cultivars. *3 Biotech* 7, 287. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0908-1>
- Henkrar, F., El-Haddoury, J., Ouabbou, H., Nsarellah, N., Iraqi, D., Bendaou, N., Udupa, S.M., 2016. Genetic diversity reduction in improved durum wheat cultivars of Morocco as revealed by microsatellite markers. *Sci Agric* 73, 134–141. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0054>
- Hentschel, V., Kranl, K., Hollmann, J., Lindhauer, M.G., Böhm, V., Bitsch, R., 2002. Spectrophotometric determination of yellow pigment content and evaluation of carotenoids by high-performance liquid chromatography in durum wheat grain. *J Agric Food Chem* 50, 6663–6668. <https://doi.org/10.1021/jf025701p>
- Hernández-Espinosa, N., Payne, T., Huerta-Espino, J., Cervantes, F., Gonzalez-Santoyo, H., Ammar, K., Guzmán, C., 2019. Preliminary characterization for grain quality traits and high and low molecular weight glutenins subunits composition of durum wheat landraces from Iran and Mexico. *J Cereal Sci* 88, 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.05.007>
- Herridge, R.P., Day, R.C., Baldwin, S., Macknight, R.C., 2011. Rapid analysis of seed size in *Arabidopsis* for mutant and QTL discovery. *Plant Methods* 7, 3. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-7-3>
- Hessler, T.G., Thomson, M.J., Benscher, D., Nachit, M.M., Sorrells, M.E., 2002. Association of a lipxygenase locus, *Lpx-B1*, with variation in lipxygenase activity in durum wheat seeds. *Crop Sci* 42, 1695–1700. <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.1695>
- Heun, M., Schäfer-Pregl, R., Klawan, D., Castagna, R., Accerbi, M., Borghi, B., Salamini, F., 1997. Site of einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting. *Sci New Series* 278, 1312–1314.
- Holubec, V., Hanušová, R., Kostkanová, E., 2008. The *Aegilops* collection in the Praha-Ruzyně (Czechoslovakia) Gene Bank: Collecting, evaluation and documentation. *Hereditas* 116, 271–276. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1992.tb00835.x>
- Hou, J., Jiang, Q., Hao, C., Wang, Y., Zhang, H., Zhang, X., 2014. Global selection on sucrose synthase haplotypes during a century of wheat breeding. *Plant Physiol* 164, 1918–1929. <https://doi.org/10.1104/pp.113.232454>
- Hu, X., Peng, Y., Ren, X., Peng, J., Nevo, E., Ma, W., Sun, D., 2018a. Allelic variation of low molecular weight glutenin subunits composition and the revealed genetic diversity in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum* (Desf)). *Breed Sci* 68, 524–535. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.18085>
- Hu, X., Ren, J., Ren, X., Huang, S., Sabiel, S.A.I., Luo, M., Nevo, E., Fu, C., Peng, J., Sun, D., 2015. Association of agronomic traits with SNP markers in durum wheat (*Triticum turgidum* L. *durum* (Desf.)). *PLoS ONE* 10, e0130854. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130854>
- Huang, X.-Q., Brûlé-Babel, A., 2012. Sequence diversity, haplotype analysis, association mapping and functional marker development in the waxy and starch synthase IIa genes for grain-yield-related traits in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol Breeding* 30, 627–645. <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9649-8>
- Hung, P.V., Hatcher, D.W., 2011. Ultra-performance liquid chromatography (UPLC) quantification of carotenoids in durum wheat: Influence of genotype and environment in relation to the colour of yellow alkaline noodles (YAN). *Food Chem* 125, 1510–1516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.078>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hyten, D.L., Smith, J.R., Frederick, R.D., Tucker, M.L., Song, Q., Cregan, P.B., 2009. Bulk segregant analysis using the Goldengate assay to locate the *Rpp3* locus that confers resistance to soybean rust in Soybean. *Crop Sci* 49, 265–271. <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.08.0511>
- Iftikhar, R., Khaliq, I., Kashif, M., Anwar Ahmed, M., Smiullah, 2012. Study of morphological traits affecting grain yield in wheat (*Triticum aestivum L.*) under field stress condition. *Middle-East Journal of Scientific Research* 11, 19–23.
- Igrejas, G., Guedes-Pinto, H., Carnide, V., Branlard, G., 1999. The high and low molecular weight glutenin subunits and gliadin composition of bread and durum wheats commonly grown in Portugal. *Plant Breeding* 118, 297–302.
- INRA, 2007. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phyto-génétiques pour l'alimentation et l'agriculture (RPGAA). Rapport, Rabat, Maroc.
- IPGRI, 2001. Establishment and management of field genebank. Mohd Said Saad and V. Ramanatha Rao, eds. 2001. A Training Manual. IPGRI-APO, Serdang.
- Jackson, E.A., Holt, L.M., Payne, P.I., 1983. Characterisation of high molecular weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localisation of their controlling genes. *Theoret Appl Genetics* 66, 29–37. <https://doi.org/10.1007/BF00281844>
- Jahnke, S., Roussel, J., Hombach, T., Kochs, J., Fischbach, A., Huber, G., Scharr, H., 2016. "PhenoSeeder" A robot system for automated handling and phenotyping of individual seeds. *Plant Physiol* 172, 1358–1370. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01122>
- Jain, S.K., Qualset, C.O., Bhatt, G.M., Wu, K.K., 1975. Geographical patterns of phenotypic diversity in a world collection of durum wheats. *Crop Sci* 15, 700–704. <https://doi.org/10.2135/cropsci1975.0011183X001500050026x>
- Janni, M., Cadonici, S., Bonas, U., Grasso, A., Dahab, A.A.D., Visioli, G., Pignone, D., Ceriotti, A., Marmioli, N., 2018. Gene-ecology of durum wheat HMW glutenin reflects their diffusion from the center of origin. *Sci Rep* 8, 16929. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35251-4>
- Jaradat, A.A., 1992. Breeding potential of durum wheat landraces from Jordan: Phenotypic diversity. *Hereditas* 116, 301–304. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1992.tb00159.x>
- Jena, K.K., Mackill, D.J., 2008. Molecular markers and their use in marker-assisted selection in rice. *Crop Sci* 48:1266–1276.
- Jiang, G.-L., 2013. Molecular Markers and Marker-Assisted Breeding in Plants, in: Andersen, S.B. (Ed.), *Plant Breeding from Laboratories to Fields*. InTech. <https://doi.org/10.5772/52583>
- Johnson, H.W., Robinson, H.F., Comstock, R.E., 1955. Estimates of genetic and environmental variability in soybeans. *Agronomy J* 47, 314. <https://doi.org/10.2134/agronj1955.00021962004700070009x>
- Johnson, M., Kumar, A., Oladzad-Abbasabadi, A., Salsman, E., Aoun, M., Manthey, F.A., Elias, E.M., 2019. Association Mapping for 24 Traits Related to protein content, gluten strength, color, cooking, and milling quality using balanced and unbalanced data in durum wheat (*Triticum turgidum L. var. durum (Desf.)*). *Front Genet* 10, 717. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00717>
- Johnston, H.R., Keats, B.J.B., Sherman, S.L., 2019. Population Genetics. In: Emery and Rimoin's principles and practice of medical genetics and genomics. Elsevier, pp. 359–373. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812537-3.00012-3>
- Joppa, R.L., Walsh, D.E., 1974. Quality characteristics of tall and semidwarf near-isogenic lines of durum wheat. *Crop Sci* 14, 420–422.
- Kehel, Z., Sanchez-Garcia, M., El Baouchi, A., Aberkane, H., Tsivelikas, A., Charles, C., Amri, A., 2020. Predictive Characterization for Seed Morphometric Traits for Genebank Accessions Using Genomic Selection. *Front. Ecol. Evol.* 8, 32. <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00032>
- Khalid, M., Afzal, F., Gul, A., Amir, R., Subhani, A., Ahmed, Z., Mahmood, Z., Xia, X., Rasheed, A., He, Z., 2019. Molecular Characterization of 87 functional genes in wheat diversity panel and their association with phenotypes under well-watered and water-limited conditions. *Front Plant Sci* 10, 717. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00717>
- Khan, S., Hassan, G., 2017. Heritability and correlation studies of yield and yield related traits in bread wheat. *Sarhad J Agric* 33, 103–107.
- Kjeldahl, J., 1883. Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. *Fresenius, Zeitschrift f anal Chemie* 22, 366–382. <https://doi.org/10.1007/BF01338151>



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Komyshv, E., Genaev, M., Afonnikov, D., 2017. Evaluation of the "SeedCounter", a mobile application for grain phenotyping. *Front. Plant Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01990>
- Kosmolak, F.G., Leisle, D., Dexter, J.E., Matsuo, R.R., Marchylo, B.A., 1980. A relationship between durum wheat quality and gliadin electrophoregrams. *Can J Plant Sci* 60, 427–432. <https://doi.org/10.4141/cjps80-064>
- Kota, R., Varshney, R.K., Prasad, M., Zhang, H., Stein, N., Graner, A., 2008. EST-derived single nucleotide polymorphism markers for assembling genetic and physical maps of the barley genome. *Funct Integr Genomics* 8, 223–233. <https://doi.org/10.1007/s10142-007-0060-9>
- Kruskal, W.H., Wallis, W.A., 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical association* 47, 583–621. <https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>
- Kuchel, H., Fox, R., Reinheimer, J., Mosionek, L., Willey, N., Bariana, H., Jefferies, S., 2007. The successful application of a marker-assisted wheat breeding strategy. *Mol Breeding* 20, 295–308. <https://doi.org/10.1007/s11032-007-9092-z>
- Kumar, A., Biradar, S.S., Kumar, K.J.Y., Desai, S.A., Patel, B.N., Deepak, D.A., Arpitha, H.R., Tigga, A., 2017. Studies on genetic variability and heritability for yield and yield attributing traits in advanced backcross segregating populations in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Intern J Current Microbiol Applied Sci* 6, 3664–3670. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.610.430>
- Kumar, A., Kapoor, P., Chunduri, V., Sharma, S., Garg, M., 2019. Potential of aegilops sp. for improvement of grain processing and nutritional quality in wheat (*Triticum aestivum*). *Front Plant Sci* 10, 308. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00308>
- Kumar, Amit, Singh, D., Kerkhi, S.A., Chand, P., Sirohi, A., Kumar, N., Kumar, Ashwani, 2016. Genetic variability, heritability and genetic advance for yield and its contributing traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Res Environ Life Sci* 9, 317–319.
- Lachman, J., Martinek, P., Kotíková, Z., Orsák, M., Šulc, M., 2017. Genetics and chemistry of pigments in wheat grain. *J Cereal Sci* 74, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.02.007>
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685.
- Lafiandra, D., Masci, S., Sissons, M., Dornez, E., Delcour, J.A., Courtin, C.M., Caboni, M.F., 2012. Kernel components of technological value, In: *Durum wheat*. Elsevier, pp. 85–124. <https://doi.org/10.1016/B978-1-891127-65-6.50011-8>
- Iannucci, A., Codianni, P., 2019. Phenotypic Parent selection within a Khorasan wheat collection and genetic variation in advanced breeding lines derived by hybridization with durum wheat. *Front Plant Sci* 10:1460. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01460>
- Laidò, G., Marone, D., Russo, M.A., Colecchia, S.A., Mastrangelo, A.M., De Vita, P., Papa, R., 2014. Linkage disequilibrium and genome-wide association mapping in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.). *PLoS ONE* 9, e95211. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095211>
- Li, C., Xu, W., Guo, R., Zhang, J., Qi, X., Hu, L., Zhao, M., 2018. Molecular marker assisted breeding and genome composition analysis of Zhengmai 7698, an elite winter wheat cultivar. *Sci Rep* 8, 322. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18726-8>
- Li, Y.F., Wu, Y., Zhang, C.Y., Zhang, L., Liu, Z.H., Zhang, C.H., 2019. Conservation and differentiation of polyphenol oxidase (*PPO*) gene introns in *Triticum* and *Aegilops tauschii* Coss. *Genet Resour Crop Evol* 66, 1443–1457. <https://doi.org/10.1007/s10722-019-00797-3>
- Liu, C.Y., Shepherd, K.W., Rathjen, A.J., 1996. Improvement of durum wheat pastamaking and breadmaking qualities. *Cereal Chem* 73, 155–166.
- Liu, R.H., 2007. Whole grain phytochemicals and health. *J Cereal Sci* 46, 207–219. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.010>
- Long, H., Wei, Y.-M., Yan, Z.-H., Baum, B., Nevo, E., Zheng, Y.-L., 2005. Classification of wheat low-molecular-weight glutenin subunit genes and its chromosome assignment by developing LMW-GS group-specific primers. *Theor Appl Genet* 111, 1251–1259. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0024-1>
- Love, B., Spaner, D., 2007. Agrobiodiversity: Its value, measurement, and conservation in the context of sustainable agriculture. *J Sustai Agric* 31, 53–82. [https://doi.org/10.1300/J064v31n02\\_05](https://doi.org/10.1300/J064v31n02_05)
- Lukaszewski, A.J., 2003. Registration of six germplasm of durum wheat with introgressions of the Glu-D1 locus. *Crop Sci* 43, 1138–1139.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Luo, M.-C., Yang, Z.-L., You, F.M., Kawahara, T., Waines, J.G., Dvorak, J., 2007. The structure of wild and domesticated emmer wheat populations, gene flow between them, and the site of emmer domestication. *Theor Appl Genet* 114, 947–959. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0474-0>
- Ma, D., Yan, J., He, Z., Wu, L., Xia, X., 2012. Characterization of a cell wall invertase gene TaCwi-A1 on common wheat chromosome 2A and development of functional markers. *Mol Breeding* 29, 43–52. <https://doi.org/10.1007/s11032-010-9524-z>
- Magallanes-López, A.M., Ammar, K., Morales-Dorantes, A., González-Santoyo, H., Crossa, J., Guzmán, C., 2017. Grain quality traits of commercial durum wheat varieties and their relationships with drought stress and glutenins composition. *J Cereal Sci* 75, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.03.005>
- Maniee, M., Kahrizi, D., Mohammadi, R., 2009. Genetic Variability of Some Morpho-Physiological Traits in Durum Wheat (*Triticum turgidum* var. *Durum*). *J Appl Res Sci* 9, 1383–1387.
- MAPM, 2017. Ministère de l’agriculture et de la pêche maritime. Bilan de la campagne agricole 2016-2017. Direction de la production végétale.
- MAPMDREF, 2018. Ministère de l’agriculture, de la pêche maritime, du développement rural et des eaux et forêts. Bilan de la campagne agricole 2017-2018. Direction de la production végétale. [www.agriculture.gov.ma](http://www.agriculture.gov.ma) (Accessed June 20, 2018).
- Marshall, D., Mares, D., Moss, H., Ellison, F., 1986. Effects of grain shape and size on milling yields in wheat. II. Experimental studies. *Aust J Agric Res* 37, 331. <https://doi.org/10.1071/AR9860331>
- Martinez, M. del C., Ruiz, M., Carrillo, J.M., 2005. Effects of different prolamin alleles on durum wheat quality properties. *J Cereal Sc* 41, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2004.10.005>
- Matsuo, R.R., Dexter, J.E., 1980. Relationship between some durum wheat physical characteristics and semolina milling properties. *Can J Plant Sci* 60, 49–53. <https://doi.org/10.4141/cjps80-007>
- McIntosh, R.A., 1988. The role of specific genes in breeding for durable stem rust resistance in wheat and triticale. In: Simmonds N.W., and Rajaram S., (Eds.), *Breeding Strategies for Resistance to the Rusts of Wheat*. CIMMYT, Mexico, pp. 1–10.
- McIntosh, R.A., Dubcovsky, J., Rogers, W.J., Morris, C., Appels, R., Xia, X.C., 2011. Catalogue of gene symbols for wheat: 2011 supplement. Disponible en ligne : <https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2011.pdf> (consulté le 25 Octobre 2019)
- McKevith, B., 2004. Nutritional aspects of cereals. *Nutr Bulletin* 29, 111–142. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2004.00418.x>
- McLauchlan, A., Ogonnaya, F.C., Hollingsworth, B., Carter, M., Gale, K.R., Henry, R.J., Holton, T.A., Morell, M.K., Rampling, L.R., Sharp, P.J., Shariflou, M.R., Jones, M.G.K., Appels, R., 2001. Development of robust PCR-based DNA markers for each homoeo-allele of granule-bound starch synthase and their application in wheat breeding programs. *Aust J Agric Res* 52, 1409. <https://doi.org/10.1071/AR01036>
- Mehdi, C., Virginie, L., Audrey, G., Axelle, B., Colette, L., Hélène, R., Elisabeth, J., Fabienne, G., Mathilde, F.-A., 2019. Cell wall proteome of wheat grain endosperm and outer layers at two key stages of early development. *IJMS* 21, 239. <https://doi.org/10.3390/ijms21010239>
- Mengistu, D., Bewket, W., Lal, R., 2016. Conservation effects on soil quality and climate change adaptability of Ethiopian watersheds: Soil and water conservation soil quality mitigation adaptation. *Land Degrad Develop* 27, 1603–1621. <https://doi.org/10.1002/ldr.2376>
- Mengistu, D.K., Kidane, Y.G., Fadda, C., Pè, M.E., 2018a. Genetic diversity in Ethiopian Durum Wheat (*Triticum turgidum* var. *durum*) inferred from phenotypic variations. *Plant Gen Resour* 16, 39–49. <https://doi.org/10.1017/S1479262116000393>
- Mengistu, D.K., Kidane, Y.G., Fadda, C., Pè, M.E., 2018b. Genetic diversity in Ethiopian Durum Wheat (*Triticum turgidum* var. *durum*) inferred from phenotypic variations. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 16, 39–49. <https://doi.org/10.1017/S1479262116000393>
- Mengistu, D.K., Kiros, A.Y., Pè, M.E., 2015. Phenotypic diversity in Ethiopian durum wheat (*Triticum turgidum* var. *durum*) landraces. *The Crop Journal* 3, 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.04.003>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Mérida-García, R., Bentley, A.R., Gálvez, S., Dorado, G., Solís, I., Ammar, K., Hernandez, P., 2020. Mapping agronomic and quality traits in elite durum wheat lines under differing water regimes. *Agronomy* 10, 144. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010144>
- Miedaner, T., Korzun, V., 2012. Marker-Assisted Selection for disease resistance in wheat and barley breeding. *Phytopathology* 102, 560–566. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-11-0157>
- Mohammadi, M., Sharifi, P., Karimizadeh, R., Alt Jafarby, J., Khanzadeh, H., Hosseinpour, T., Mahi Poursiabidi, M., Rous, M., 2015. Stability of grain yield of durum wheat genotypes by ammi model. *Agricult Forest* 61. <https://doi.org/10.17707/AgricultForest.61.3.18>
- Moll, R.H., Stuber, C.W., 1974. Quantitative genetics-empirical results relevant to plant breeding, in: *advances in agronomy*. Elsevier, pp. 277–313. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60874-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60874-3)
- Moragues, M., Zarco-Hernández, J., Moralejo, M.A., Royo, C., 2006. Genetic diversity of glutenin protein subunits composition in durum wheat landraces [*Triticum turgidum* ssp. *turgidum* Convar. *durum* (Desf.) MacKey] from the Mediterranean Basin. *Genet Resour Crop Evol* 53, 993–1002. <https://doi.org/10.1007/s10722-004-7367-3>
- Morgounov, A., Keser, M., Kan, M., Küçükçongar, M., Özdemir, F., Gummadov, N., Muminjanov, H., Zuev, E., Qualset, C.O., 2016. Wheat landraces currently grown in Turkey: Distribution, diversity, and use. *Crop Science* 56, 3112–3124. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.03.0192>
- Morris, C.F., Kiszonas, A.M., Murray, J., Boehm, J., Ibba, M.I., Zhang, M., Cai, X., 2019. Re-evolution of durum wheat by introducing the hardness and *Glu-D1* Loci. *Front Sustain Food Syst* 3, 103. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00103>
- Mulualem, T., Bekeko, Z., 2016. Advances in quantitative trait loci, mapping and importance of markers assisted selection in plant breeding research. *International J plant Breed Genet* 10, 58-68.
- Najimi, B., El Jaafari, S., Jlibène, M., Jacquemin, J.-M., 2003. Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes.
- Nassif, F., Mahdi, M., 2002. La conservation in situ des espèces cultivées et l'environnement socioéconomique au Maroc. In: *La conservation in-situ de la biodiversité agricole: un défi pour une agriculture durable*. Actes du séminaire national Rabat, 21 et 22 janvier 2002, Rabat (Maroc), 2002. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy 118–134.
- Nasu, S., 2002. Search for and Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Rice (*Oryza sativa*, *Oryza rufipogon*) and Establishment of SNP Markers. *DNA Research* 9, 163–171. <https://doi.org/10.1093/dnares/9.5.163>
- Nazco, R., Peña, R.J., Ammar, K., Villegas, D., Crossa, J., Moragues, M., Royo, C., 2014. Variability in glutenin subunit composition of Mediterranean durum wheat germplasm and its relationship with gluten strength. *J Agric Sci* 152, 379–393. <https://doi.org/10.1017/S0021859613000117>
- Nazco, R., Villegas, D., Ammar, K., Peña, R.J., Moragues, M., Royo, C., 2012. Can Mediterranean durum wheat landraces contribute to improved grain quality attributes in modern cultivars? *Euphytica* 185, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0588-6>
- Negassa, M., 2008. Patterns of phenotypic diversity in an Ethiopian barley collection, and the Arussi-Bale Highland as a center of origin of barley. *Hereditas* 102, 139–150. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00474.x>
- Negri, V., Maxted, N., Veteläinen, M., 2009. European landrace conservation: an introduction. In: Veteläinen, M., Negri, V. and Maxted, N. (eds.), *European landraces: on-farm conservation, management and use*. Bioversity Technical Bulletin 15. Bioversity International, Rome, pp: 1-22.
- Nei, M., 1973. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 70, 3321–3323.
- Nei, M., 1972. Genetic Distance between Populations. *Am Nat* 106, 283–292.
- Nei M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89, 583–590
- Nei M, Chesser R.K., 1983. Estimation of fixation indices and gene diversities. *Ann Human Genet* 47,253–259. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1983.tb00993.x>
- Nieto-Taladriz, M.T., Ruiz, M., Martínez, M.C., Vázquez, J.F., Carrillo, J.M., 1997. Variation and classification of B low-molecular-weight glutenin subunit alleles in durum wheat. *Theor Appl Genet* 95, 1155–1160. <https://doi.org/10.1007/s001220050676>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- NordGen (Nordic Genetic Resource Center), 2013. NordGen Annual Review 2013. Disponible en ligne : [www.nordgen.org](http://www.nordgen.org) (Consulté Juin 2018)
- Novaro, P., Colucci, F., Venora, G., D'Egidio, M.G., 2001. Image analysis of whole grains: a noninvasive method to predict semolina yield in durum wheat. *Cereal Chem J* 78, 217–221. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2001.78.3.217>
- Nsarellah, N., Amamou, A., Taghouti, M., Annicchiarico, P., 2011. Adaptation of Moroccan durum wheat varieties from different breeding eras. *J Plant Breed Crop Sci* 3, 34–40.
- Oak, M.D., Dexter, J.E., 2006. Chemistry, genetics and prediction of dough strength and end-use quality in durum wheat. In: *Gliadin and Glutenin*, AACC International, St. Paul, MN, pp 281–305.
- Olson, M., Hood, L., Cantor, C., Botstein, D., 1989. A common language for physical mapping of the human genome. *Science* 245, 1434–1435. <https://doi.org/10.1126/science.2781285>
- ONU, 2020. Organisation des nations unies. Disponible en ligne : [www.un.org](http://www.un.org) (Consultée en 2020).
- Osborne, T.B., 1907. The proteins of the wheat kernel. Carnegie Inst, Washington, DC, USA.
- Othmani, A., Mosbahi, M., Ayed, S., Slim-Amara, H., Boubaker, M., 2015. Morphological characterization of some Tunisian bread wheat (*Triticum aestivum L.*) accessions. *J New Sci* 15, 503–510.
- Parker, G.D., Langridge, P., 2000. Development of a STS marker linked to a major locus controlling flour colour in wheat (*Triticum aestivum L.*). *Molecular Breeding* 6: 169–174 6.
- Payne, P.I., Holt, L.M., Jackson, E.A., Law, C.N., 1984. Wheat storage proteins: Their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Phil Trans R Soc Lond B* 304, 359–371. <https://doi.org/10.1098/rstb.1984.0031>
- Payne, P.I., Holt, L.M., Lawrence, G.J., Law, C.N., 1982. The genetics of gliadin and glutenin, the major storage proteins of the wheat endosperm. *Plant Food Hum Nutr* 31, 229–241. <https://doi.org/10.1007/BF01108632>
- Payne, P.I., Lawrence, G.J., 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, and *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res Commun* 11, 29–35.
- Pecetti, L., Damania, A.B., Kashour, G., 1992. Geographic variation for spike and grain characteristics in durum wheat germplasm adapted to dryland conditions. *Genetic Resou Crop evol* 39, 97–105.
- Peña, R.J., Gonzalez-Santoyo, H., Cervantes, F., 2004. Relationship between *Glu-D1/Glu-B3* allelic combinations and bread-making quality-related parameters commonly used in wheat breeding. pp. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, pp: 156–157.
- Peng, J., Sun, D., Nevo, E., n.d. Wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, occupies a pivotal position in wheat domestication process. *Aust J Crop Sci* 5, 1127–1143.
- Piergiovanni, A.R., Lioi, L., 2010. Italian common bean landraces: History, Genetic diversity and seed quality. *Diversity* 2, 837–862. <https://doi.org/10.3390/d2060837>
- Pogna, N.E., Autran, J.-C., Mellini, F., Lafiandra, D., Feillet, P., 1990. Chromosome 1B-encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat: Genetics and relationship to gluten strength. *J Cereal Sci* 11, 15–34. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(09\)80178-1](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(09)80178-1)
- Pomeranz, Y., 1988. Chemical composition of kernel structures. In: *Wheat chemistry and technology*. AACC International, St. Paul, MN, pp: 97–158.
- Pozniak, C.J., Knox, R.E., Clarke, F.R., Clarke, J.M., 2007. Identification of QTL and association of a phytoene synthase gene with endosperm colour in durum wheat. *Theor Appl Genet* 114, 525–537. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0453-5>
- Preston, K.R., March, P.R., Tipples, K.H., 1982. An assessment of the sds-sedimentation test for the prediction of canadian bread wheat quality. *Can J Plant Sci* 62, 545–553. <https://doi.org/10.4141/cjps82-083>
- Quaglia, G.B., 1988. Other durum wheat products. In: *Durum chemistry and technology*, AACC International, St. Paul, MN, pp 263–282.
- Raciti, C.N., Doust, M.A., Lombardo, G.M., Boggini, G., Pecetti, L., 2003. Characterization of durum wheat mediterranean germplasm for high and low molecular weight glutenin subunits in relation with quality. *European J Agronomy* 19, 373–382. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(02\)00091-6](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(02)00091-6)

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ramachandran, A., Pozniak, C.J., Clarke, J.M., Singh, A.K., 2010. Carotenoid accumulation during grain development in durum wheat. *Journal of Cereal Science* 52, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.02.014>
- Ramdani, A., Ouabbou, H., Nsarellah, N., Lhaloui, S., Abbad-Andaloussi, F., Nachit, M.M., Bhavani, S., Nazari, K., Wanyera, R., Ferrahi, M., Haddoury, J., Udupa, S.M., 2014. The strategies to serve and conserve Moroccan durum wheat genetic diversity before it is lost. In: Proceedings of the International Symposium on Genetics and breeding of durum wheat; Porceddu, E., Damania, A.B., Qualset, C.O., (Eds). CIHEAM (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 110), Bari, Italy, pp: 131-138.
- Ravel, C., Martre, P., Romeuf, I., Dardevet, M., El-Malki, R., Bordes, J., Duchateau, N., Brunel, D., Balfourier, F., Charmet, G., 2009. Nucleotide polymorphism in the wheat transcriptional activator *spa* influences its pattern of expression and has pleiotropic effects on grain protein composition, dough viscoelasticity, and grain hardness. *Plant Physiol* 151, 2133–2144. <https://doi.org/10.1104/pp.109.146076>
- Ravel, C., Praud, S., Murigneux, A., Canaguier, A., Sapet, F., Samson, D., Balfourier, F., Dufour, P., Chalhou, B., Brunel, D., Beckert, M., Charmet, G., 2006. Single-nucleotide polymorphism frequency in a set of selected lines of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* 49, 1131–1139. <https://doi.org/10.1139/g06-067>
- Rharrabti, Y., Royo, C., Villegas, D., Aparicio, N., 2003. Durum wheat quality in Mediterranean environments I. Quality expression under different zones, latitudes and water regimes across Spain. *Field Crops Res* 80, 123-131.
- Ribaut, J.-M., Ragot, M., 2006. Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: the backcross approach, perspectives, limitations, and alternatives. *J Experim Botany* 58, 351–360. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl214>
- Rocchetti, G., Rizzi, C., Pasini, G., Lucini, L., Giuberti, G., Simonato, B., 2020. Effect of moringa oleifera l. leaf powder addition on the phenolic bio accessibility and on in vitro starch digestibility of durum wheat fresh pasta. *Foods* 9, 628. <https://doi.org/10.3390/foods9050628>
- Rodriguez-Quijano, M., Vazquez, J.F., Carrillo, J.M., 2004. Waxy proteins and amylose content in *diploid Triticeae* species with genomes A, S and D. *Plant Breeding* 123, 294–296. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2004.00883.x>
- Roldan, D.L., 2011. Thèse : Détection de QTL : Interaction entre dispositif expérimental et méthodes statistiques. Disponible en ligne: <http://www.theses.fr/2011TOU30114> (Consulté Janvier 2019)
- Roselló, M., Royo, C., Álvaro, F., Villegas, D., Nazco, R., Soriano, J.M., 2018. Pasta-Making quality QTLome from Mediterranean durum wheat landraces. *Front Plant Sci* 9, 1512. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01512>
- RPGAA, 2007. Deuxième rapport National sur l'état des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture. Rédigé par : S. Saidi O. Sebbata A. Bencherqi R. Mrabet A. Oukabli N.E. Es Safi M. Hammoutou H. Ouabbou M. Iblou Ali Alaoui ; Avec la participation de : N. Saidi A. Boutouba Z. Mouatamid M. Alaoui A. Lagho. Edité par Seddik SAIDI. INRA-Rabat, Mars 2007.
- Ruan, Y., Yu, B., Knox, R.E., Singh, A.K., DePauw, R., Cuthbert, R., Zhang, W., Piche, I., Gao, P., Sharpe, A., Fobert, P., 2020. High density mapping of quantitative trait loci conferring gluten strength in Canadian durum wheat. *Front. Plant Sci* 11, 170. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00170>
- Ruiz, M., Bernal, G., Giraldo, P., 2018. An update of low molecular weight glutenin subunits in durum wheat relevant to breeding for quality. *J Cereal Sci* 83, 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.09.005>
- Ruiz, M., Carrillo, J.M., 1996. *Gli-B3/Glu-B2* encoded prolamins do not affect selected quality properties in the durum wheat cross “Abadia” x “Mexicali 75”. *Plant Breeding* 115, 410–412. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00943.x>
- Ruiz, M., Carrillo, J.M., 1995. Separate effects on gluten strength of *Gli-1* and *Glu-3* prolamins genes on chromosomes 1A and 1B in durum wheat. *J Cereal Sci* 21, 137–144. [https://doi.org/10.1016/0733-5210\(95\)90029-2](https://doi.org/10.1016/0733-5210(95)90029-2)
- Ruiz, M., Carrillo, J.M., 1993. Linkage relationships between prolamins genes on chromosomes 1A and 1B of durum wheat. *Theoret Appl Genetics* 87, 353–360. <https://doi.org/10.1007/BF01184923>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sahri, A., Chentoufi, L., Arbaoui, M., Ardisson, M., Belqadi, L., Birouk, A., Roumet, P., Muller, M.-H., 2014. Towards a comprehensive characterization of durum wheat landraces in Moroccan traditional agrosystems: Analysing genetic diversity in the light of geography, farmers' taxonomy and tetraploid wheat domestication history. *BMC Evolutionary Biology* 14. <https://doi.org/10.1186/s12862-014-0264-2>
- Sahri, A., Chentoufi, L., Arbaoui, M., Muller, M.-H., Belqadi, L., Birouk, A., 2014. Impact du relief et des circuits semenciers locaux sur la diversité agro-morphologique du blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum*) dans la vallée d'Er Rich-Imilchil (Maroc). *Rev Mar Sci Agron Vét* 2, 39-49.
- Saint Pierre, C., Peterson, C.J., Ross, A.S., Ohm, J.B., Verhoeven, M.C., Larson, M., Hoefler, B., 2008. Winter wheat genotypes under different levels of nitrogen and water stress: Changes in grain protein composition. *J Cereal Sci* 47, 407-416. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.05.007>
- Saito, M., Vrinten, P., Ishikawa, G., Graybosch, R., Nakamura, T., 2009. A novel codominant marker for selection of the null *Wx-B1* allele in wheat breeding programs. *Mol Breeding* 23, 209-217. <https://doi.org/10.1007/s11032-008-9226-y>
- Salaria, N., Kukreja, S., Kaur, S., Goutam, U., 2018. Variable polyphenol oxidase (*PPO*) activity indicates grain quality in bread wheat (*Triticum aestivum L.*). *Ind J Plant Physiol.* 23, 516-520. <https://doi.org/10.1007/s40502-018-0379-3>
- Saleem, B., Khan, A., Shahzad, M., Ijaz, F., 2016. Estimation of heritability and genetic advance for various metric traits in seven F2 populations of bread wheat (*Triticum aestivum L.*). *J Agric Sci Belgrade* 61, 1-9. <https://doi.org/10.2298/JAS1601001S>
- Santra, M., Rao, V.S., Tamhankar, S.A., 2003. Modification of AACC Procedure for measuring  $\beta$ -carotene in early generation durum wheat. *Cereal Chem J* 80, 130-131. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2003.80.2.130>
- Sayaslan, A., Koyuncu, M., Yildirim, A., Güleç, T.E., Sönmezoğlu, Ö.A., Kandemir, N., 2012. Some quality characteristics of selected durum wheat (*Triticum durum*) landraces. *Turk J Agric For* 36, 749-756.
- Schmid, K.J., 2003. Large-Scale Identification and Analysis of Genome-Wide Single-Nucleotide Polymorphisms for Mapping in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Research* 13, 1250-1257. <https://doi.org/10.1101/gr.728603>
- Schut, J.W., Qi, X., Stam, P., 1997. Association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley: *Theor Appl Genet* 95:1161-1168. <https://doi.org/10.1007/s001220050677>
- Schulthess, A., Matus, I., Schwember, A.R., 2013. Genotypic and environmental factors and their interactions determine semolina color of elite genotypes of durum wheat (*Triticum turgidum L. var. durum*) grown in different environments of Chile. *Field Crops Res* 149, 234-244. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.05.001>
- Seguin, M., Attard, A., Bataillon, T., Billot, C., Cenci, A., Chantret, N., Courtois, B., David, J., Deu, M., Azhari, N.E., Glaszmann, J.-C., Glemin, S., Haudry, A., Guen, V.L., Maynadier, M., Pomiès, V., Ronfort, J., Tsitronne, A., Weber, C., 2006. Analyse et prédiction des patrons de déséquilibre de liaison dans les collections de ressources génétiques de plantes pérennes ou annuelles, autogames ou allogames. *Les Actes du BRG*, 6, 57-74 18.
- Sehrawat, K.D., Khan, M., 2017. Investigation of Genetic Variability for Yield and Yield Related Traits in Barley (*Hordeum vulgare L.*) Genotypes. *Indian J Ecol* 44, 869-872.
- Shankarrao, B.S., Mukherjee, S., Pal, A.K., De, D.K., 2010. Estimation of variability for yield parameters in Bread Wheat (*Triticum aestivum L.*) grown in Gangetic West Bengal. *Electronic Journal of Plant Breeding* 5.
- Shannon, C.E., Weaver, W., 1949. *The mathematical theory of communication*. Urbana, IL the University of Illinois Press, 1-117.
- Sharma, R., Sissons, M.J., Rathjen, A.J., Jenner, C.F., 2002. The *Null-4A* allele at the waxy locus in durum wheat affects pasta cooking quality. *J Cereal Sci* 35, 287-297. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0423>
- Shewry, P., Gilbert, S., Savage, A., Tatham, A., Wan, Y.-F., Belton, P., Wellner, N., D'Ovidio, R., Békés, F., Halford, N., 2003. Sequence and properties of HMW subunit 1Bx20 from pasta wheat

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (*Triticum durum*) which is associated with poor end use properties. *Theor Appl Genet* 106, 744–750. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1135-6>
- Shokat, S., Sehgal, D., Vikram, P., Liu, F., Singh, S., 2020. Molecular markers associated with agro-physiological traits under terminal drought conditions in bread wheat. *IJMS* 21, 3156. <https://doi.org/10.3390/ijms21093156>
- Siedow, J.N., 1991. Plant lipoxygenase: Structure and function. *Plant Physiol Plant Mol Biol* 42, 145–188.
- Simeone, R., Pasqualone, A., Clodoveo, M.L., Blanco, A., 2002. Genetic mapping of polyphenol oxidase in tetraploid wheat. *Cellular Mol Biol Letters* 7, 763-769.
- Simons, K.J., Fellers, J.P., Trick, H.N., Zhang, Z., Tai, Y.S., Gill, B.S., Faris, J.D., 2006. Molecular characterization of the major wheat domestication gene Q. *Genetics* 172, 547–555.
- Singh, H., Singh, N., Kaur, L., Saxena, S.K., 2001. Effect of sprouting conditions on functional and dynamic rheological properties of wheat. *J Food Engin* 47, 23-29.
- Singh, J., Prasad, L.C., Madakemohekar, A.H., Bornare, S.S., 2014. Genetic variability and character association in diverse genotypes of barley (*Hordeum vulgare L.*); *Th bioscan* 2, 759-761.
- Sissons, M., 2008. Role of durum wheat composition on the quality of pasta and bread. *Food, Global Science Books* 2, 75-90.
- Sissons, M., Pleming, D., Sestili, F., Lafiandra, D., 2019. Effect of *Glu-D1 gene* introgression and amylose content on breadmaking potential of blends of durum and hexaploid wheat. *Cereal Chem* 96, 193–206. <https://doi.org/10.1002/cche.10136>
- Sissons, M.J., Ames, N.P., Hare, R.A., Clarke, J.M., 2005. Relationship between glutenin subunit composition and gluten strength measurements in durum wheat. *J Sci Food Agric* 85, 2445–2452. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2272>
- Skerritt, J.H., 1998. Gluten proteins: Genetics, Structure, drought quality- A review. *AgBiothe* 10, N247-N270.
- Smith, C., Simpson, S.P., 1986. The use of genetic polymorphisms in livestock improvement. *J Anim Breeding Genet* 103, 205-207.
- Soller, M., Beckmann, J.S., 1982. Restriction fragment length polymorphisms and genetic improvement. *Proc: 2nd World Congress Genetics Applied to Livestock Production* 6: 396–404.
- Soriano, J.M., Villegas, D., Aranzana, M.J., García del Moral, L.F., Royo, C., 2016. Genetic structure of modern durum wheat cultivars and mediterranean landraces matches with their agronomic performance. *PLoS ONE* 11, e0160983. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160983>
- Sorkheh, K., Malysheva-Otto, L.V., Wirthensohn, M.G., Tarkesh-Esfahani, S., Martínez-Gómez, P., 2008. Linkage disequilibrium, genetic association mapping and gene localization in crop plants. *Genet Mol Biol* 31, 805–814.
- Sorrells, M.E., Nachit, M.M., Ketata, H., 1995. Relationships among 81 durum genotypes based RFLPs, gliadins, parentage, and quality traits. In: Di Fonzo, N., Kaan, F., Nachit, M., (Eds), *Durum wheat quality in the Mediterranean region. CIHEAM (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens ; n. 22)*, Zaragoza, Spain, pp : 249-262.
- Sourour, A., Afef, O., Salah, B., Mounir, R., Mongi, B.Y., 2018. Correlation between agronomical and quality traits in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germplasm in semi arid environment. *Adv Plants Agric Res* 8, 612–615.
- Sourour, A., Chahine, K., Youssef, T., Olfa, S., Hajer, S., 2010. Phenotypic diversity of Tunisian durum wheat landraces. *African Crop Science Journal* 18. <https://doi.org/10.4314/acsj.v18i1.54197>
- Sourour, A., Hajer, S.-A., 2009. Distribution and phenotypic variability aspects of some quantitative traits among durum wheat accessions. *Afric Crop Sci J* 16, 219–224.
- Šramková, Z., Gregová, E., Šturdík, E., 2009. Chemical composition and nutritional quality of wheat grain. *Acta Chimica Slovaca* 2, 115-132.
- Strange, H., Zwiggelaar, R., Sturrock, C., Mooney, S.J., Doonan, J.H., 2015. Automatic estimation of wheat grain morphometry from computed tomography data. *Funct Plant Biol* 42, 452. <https://doi.org/10.1071/FP14068>
- Subira, J., Peña, R.J., Álvaro, F., Ammar, K., Ramdani, A., Royo, C., 2014. Breeding progress in the pasta-making quality of durum wheat cultivars released in Italy and Spain during the 20th Century. *Crop Pasture Sci.* 65, 16. <https://doi.org/10.1071/CP13238>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sun, D.J., He, Z.H., Xia, X.C., Zhang, L.P., Morris, C.F., Appels, R., Ma, W.J., Wang, H., 2005. A novel STS marker for polyphenol oxidase activity in bread wheat. *Mol Breeding* 16, 209–218. <https://doi.org/10.1007/s11032-005-6618-0>
- Sun, L., Huang, S., Sun, G., Zhang, Y., Hu, X., Nevo, E., Peng, J., Sun, D., 2020. SNP-based association study of kernel architecture in a worldwide collection of durum wheat germplasm. *PLoS ONE* 15, e0229159. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229159>
- Surget, A., Barron, C., 2005. Histologie du grain de blé. *Industries des Céréales* 145, 3-7.
- Tacer-Caba, Z., Nilufer-Erdil, D., Ai, Y., 2015. Chemical Composition of Cereals and Their Products; In: Cheung PCK., Mehta BM. (eds.), *Handbook of Food Chemistry*. SpringerVerlag, Berlin, Heidelberg, pp: 301–329.
- Taghouti, M., Gaboun, F., Nsarellah, N., Rhrib, K., Nachit, M.M., Saidi, M., Boujnah, M., Maataoui, F., 2006. Analyse de la diversité génétique de populations locales de blé dur et potentialités d'utilisation en amélioration génétique. *Al wamania* 120-4. Rabat, Maroc, Automne 2006.
- Taghouti, M., Gaboun, F., Nsarellah, N., Rhrib, R., El-Haila, M., Kamar, M., Abbad, F., Udupa, S.M., 2010. Genotype x Environment interaction for quality traits in durum wheat cultivars adapted to different environments. *African J Biotechno* 9, 3054–3062.
- Taghouti, M., Nsarellah, N., Gaboun, F., Rochdi, A., 2017. Multi-environment assessment of the impact of genetic improvement on agronomic performance and on grain quality traits in Moroccan durum wheat varieties of 1949 to 2017. *Global J Plant Breed Genet* 4, 94–404.
- Taghouti, M., Rhrib, K., Gaboun, F., 2014. Exploiting landrace genetic diversity for germplasm enhancement in durum wheat breeding in Morocco. In: Porceddu E., Damania AB., Qualset CO. ( eds), *Proceedings of the International Symposium on Genetics and breeding of durum wheat. CIHEAM Options Méditerranéennes (Série A. Séminaires Méditerranéens ; n. 110)*, Bari, Italy, pp : 109-119.
- Tanabata, T., Shibaya, T., Hori, K., Ebana, K., Yano, M., 2012. *SmartGrain*: High-Throughput phenotyping software for measuring seed shape through image analysis. *Plant Physiol* 160, 1871–1880. <https://doi.org/10.1104/pp.112.205120>
- Taneva, K., Bozhanova, V., Petrova, I., 2019. Variability, heritability and genetic advance of some grain quality traits and grain yield in durum wheat genotypes. *Bulgarian J Agric Sci* 25, 288–295.
- Taranto, F., Pasqualone, A., Mangini, G., Tripodi, P., Miazzi, M., Pavan, S., Montemurro, C., 2017. Polyphenol oxidases in crops: Biochemical, physiological and genetic aspects. *IJMS* 18, 377. <https://doi.org/10.3390/ijms18020377>
- Tian, J., Deng, Z., Zhang, K., Yu, H., Jiang, X., 2015. Genetic analyses of wheat and molecular marker-assisted breeding, volume 1. Springer Netherlands, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7390-4>
- Troccoli, A., Borrelli, G.M., De Vita, P., Fares, C., Di Fonzo, N., 2000. Mini Review: Durum wheat quality: A multidisciplinary concept. *J Cereal Sci* 32, 99–113. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2000.0322>
- Tsegaye, D., Dessalegn, T., Dessalegn, Y., Share, G., 2010. Genetic variability, correlation and path analysis in durum wheat germplasm (*Triticum durum* Desf) . *Agric Res Rev* 1, 107-112.
- Tzarfati, R., Barak, V., Krugman, T., Fahima, T., Abbo, S., Saranga, Y., Korol, A.B., 2014. Novel quantitative trait loci underlying major domestication traits in tetraploid wheat. *Mol Breeding* 34, 1613–1628. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0182-4>
- UPOV, 2012. Guideline for the conduct of test of distinctness, uniformity, and stability. Geneva, Swiss.
- Uthayakumaran, S., Beasley, H.L., Stoddard, F.L., Keentok, M., Phan-Thien, N., Tanner, R.I., Békés, F., 2002. Synergistic and additive effects of three high molecular weight glutenin subunit loci. i. effects on wheat dough rheology. *Cereal Chem J* 79, 294–300. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2002.79.2.294>
- Vagndorf, N., Kristensen, P.S., Andersen, J.R., Jahoor, A., Orabi, J., 2018. Marker-Assisted Breeding in Wheat. In: Çiftçi, Y.Ö. (Ed.), *Next Generation Plant Breeding*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74724>
- Vensel, W.H., Tanaka, C.K., Cai, N., Wong, J.H., Buchanan, B.B., Hurkman, W.J., 2005. Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. *Proteomics* 5, 1594–1611. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401034>



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Wang, L., Li, G., Peña, R.J., Xia, X., He, Z., 2010. Development of STS markers and establishment of multiplex PCR for *Glu-A3* alleles in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science* 51, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.01.005>
- Wang, Y., Hou, J., Liu, Hong, Li, T., Wang, K., Hao, C., Liu, Hongxia, Zhang, X., 2019. *TaBT1*, affecting starch synthesis and thousand kernel weight, underwent strong selection during wheat improvement. *J Experim Botany* 70, 1497–1511. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz032>
- Wang, Y.-Q., Wei, X.-L., Xu, H.-L., Chai, C.-L., Meng, K., Zhai, H.-L., Sun, A.-J., Peng, Y.-G., Wu, B., Xiao, G.-F., Zhu, Z., 2008. Cell-wall invertases from rice are differentially expressed in caryopsis during the grain filling stage. *J Integrative Plant Biology* 50, 466–474. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00641.x>
- Whan, A.P., Smith, A.B., Cavanagh, C.R., Ral, J.-P.F., Shaw, L.M., Howitt, C.A., Bischof, L., 2014. GrainScan: a low cost, fast method for grain size and colour measurements. *Plant Methods* 10, 23. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-10-23>
- Williams, P.C., El Haramain, F.J., Nakkoul, H., Rihawi, S., 1988. Crop quality evaluation, methods and guidelines. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo, Syria.
- Wolde, T., Eticha, F., Alamerew, S., Assefa, E., 2016. Genetic variability, heritability and genetic advance for yield and yield related traits in Durum wheat (*Triticum durum* L.) accessions. *Sky J Agri Res* 5, 042-047.
- Yagdi, K., 2009. Path coefficient analysis of some yield components in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Pak J Bot* 41, 745–751.
- Yagdi, K., Sozen, E., 2009. Heritability, variance components and correlations of yield and quality traits in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Pak J Bot* 41, 753–759.
- Yildirim, A., Sönmezoglu, Ö.A., Sayaslan, A., Koyuncu, M., Güleç, T., Kandemir, N., 2013. Marker-assisted breeding of a durum wheat cultivar for  $\gamma$ -gliadin and LMW-glutenin proteins affecting pasta quality. *Turk J Agric For* 37, 527–533.
- Young, N.D., 1999. A cautiously optimistic vision for marker-assisted breeding. *Molecular Breeding* 5, 505–510.
- Yu, X., Bai, G., Luo, N., Chen, Z., Liu, S., Liu, J., Warnke, S.E., Jiang, Y., 2011. Association of simple sequence repeat (SSR) markers with submergence tolerance in diverse populations of perennial ryegrass. *Plant Science* 180, 391–398. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.10.013>
- Zarkti, H., Ouabbou, H., Hilali, A., Udupa, S.M., 2010a. Detection of genetic diversity in Moroccan durum wheat accessions using agro-morphological traits and microsatellite markers. *African Journal of Agricultural Research* 5, 1837–1844.
- Zarkti, H., Ouabbou, H., Taghouti, M., Hilali, A., Udupa, S.M., 2010b. Comparison of genetic diversity at prolamin loci in Moroccan durum wheat accessions. *Plant Omics* 3, 154–158.
- Zarkti, H., Ouabbou, H., Udupa, S.M., Gaboun, F., Hilali, A., 2012. Agro-morphological variability in durum wheat landraces of Morocco 1172–1178.
- Zhang, W., Gianibelli, M.C., Ma, W., Rampling, L., Gale, K.R., 2003. Identification of SNPs and development of allele-specific PCR markers for  $\gamma$ -gliadin alleles in *Triticum aestivum*. *Theor Appl Genet* 107, 130–138. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1223-2>
- Zhong-Min, D., Yan-Ping, Y., Min, Z., Wen-Yang, L., Su-Hui, Y., Rui-Guo, C., Zhen-Lin, W., 2008. Distribution of starch granule size in grains of wheat grown under irrigated and rainfed conditions. *Acta Agron Sin* 34, 795-802.
- Žilić, S., Hadži-Tašković Šukalović, V., Dodig, D., Maksimović, V., Maksimović, M., Basić, Z., 2011. Antioxidant activity of small grain cereals caused by phenolics and lipid soluble antioxidants. *J Cereal Sci* 54, 417–424. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.08.006>
- Zuo, J., Li, J., 2014. Molecular dissection of complex agronomic traits of rice: a team effort by Chinese scientists in recent years. *Natl Sci Rev* 1, 253–276. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwt004>

## ANNEXES

## VI. ANNEXES :

Annexe 1 : Origine et le code MGB pour les accessions de la collection.

Code parcelle	Code MGB	Origin	Code parcelle	Code MGB	Origine	Code parcelle	Code MGB	Origin
1	19	MC	46	3021	ML	91	3100	ML
2	20	MC	47	3027	ML	92	3101	ML
3	21	MC	48	3029	ML	93	3102	ML
4	22	MC	50	3030	ML	94	3103	ML
6	23	MC	51	3035	ML	95	3104	ML
7	24	MC	52	3051	ML	96	3106	ML
8	25	MC	53	3051	ML	97	3108	ML
9	26	MC	55	3052	ML	99	3110	ML
11	27	MC	56	3054	ML	100	3111	ML
12	28	MC	57	3055	ML	101	3114	ML
13	29	MC	58	3056	ML	102	3115	ML
14	30	MC	59	3057	ML	103	3116	ML
15	31	MC	61	3058	ML	105	3117	ML
17	32	MC	62	3059	ML	106	3118	ML
18	33	MC	63	3060	ML	107	3119	ML
19	34	MC	64	3061	ML	108	3122	ML
20	35	MC	65	3062	ML	109	3123	ML
21	36	MC	66	3064	ML	110	3124	ML
22	49	MC	67	3065	ML	112	3125	ML
23	1397	ML	68	3066	ML	113	3127	ML
24	2963	ML	69	3068	ML	114	3129	ML
25	2997	ML	70	3069	ML	115	3131	ML
26	3001	ML	71	3070	ML	116	3132	ML
27	3002	ML	72	3072	ML	117	3133	ML
28	3002	ML	74	3073	ML	118	3135	ML
29	3003	ML	75	3075	ML	119	3136	ML
30	3004	ML	76	3076	ML	120	3140	ML
31	3005	ML	77	3078	ML	122	3144	ML
33	3006	ML	78	3079	ML	123	3145	ML
34	3006	ML	79	3082	ML	124	3146	ML
35	3007	ML	81	3083	ML	125	3147	ML
36	3014	ML	82	3085	ML	126	3149	ML
37	3015	ML	83	3088	ML	127	3150	ML
39	3016	ML	84	3089	ML	129	3152	ML
40	3016	ML	85	3090	ML	130	3153	ML
41	3017	ML	87	3091	ML	131	3155	ML
42	3017	ML	88	3093	ML	132	3156	ML
44	3019	ML	89	3095	ML	133	3160	ML
45	3020	ML	90	3096	ML	135	3162	ML

## ANNEXES

Annexe 1 : Origine et le code MGB pour les accessions de la collection. (Suite)

Code parcelle	Code MGB	Origin	Code parcelle	Code MGB	Origin	Code parcelle	Code MGB	Origin
136	3164	ML	180	9312	ML	226	16655	ML
137	3166	ML	181	9313	ML	227	16656	ML
138	3168	ML	183	9316	ML	228	16662	ML
139	3176	ML	184	9321	ML	229	16666	ML
140	3179	ML	185	9323	ML	230	16818	ML
141	3180	ML	187	9327	ML	231	Unkown1	ML
143	3191	ML	188	9331	ML	232	Unkown2	ML
144	3193	ML	189	9338	ML	233	Unkown3	ML
145	3194	ML	190	9358	ML	234	66022	NAC
146	3195	ML	191	9377	ML	235	66023	NAC
147	3205	ML	193	9385	ML	237	66024	NAC
149	3208	ML	194	9399	ML	238	66025	NAC
150	3209	ML	195	9401	ML	239	66026	NAC
151	3210	ML	196	9402	ML	240	66027	NAC
152	3210	ML	197	9404	ML	241	66028	NAC
153	3212	ML	198	9407	ML	242	66029	NAC
154	3213	ML	200	9409	ML	244	66030	NAC
156	3214	ML	201	9412	ML	245	66031	NAC
157	3216	ML	202	9418	ML	246	66032	NAC
158	3217	ML	203	9421	ML	247	66033	NAC
159	5037	ML	204	9428	ML	248	66034	NAC
160	5039	ML	205	9430	ML	250	66035	NAC
161	5040	ML	206	9431	ML	251	66036	NAC
162	5043	ML	207	9433	ML	252	66037	NAC
163	5920	ML	208	16555	ML	253	66038	NAC
164	5960	ML	209	16558	ML	254	66039	NAC
165	5963	ML	210	16559	ML	255	66040	NAC
166	5965	ML	212	16562	ML	256	66041	NAC
167	5966	ML	213	16563	ML	257	66042	NAC
168	5967	ML	214	16565	ML	258	66043	NAC
170	5969	ML	215	16566	ML	260	66044	NAC
171	5981	ML	216	16568	ML	261	66045	NAC
172	5985	ML	218	16571	ML	262	66046	NAC
173	5986	ML	219	16573	ML	263	66047	NAC
174	5996	ML	220	16574	ML	264	66048	NAC
175	6000	ML	221	16590	ML	266	66049	NAC
177	6098	ML	222	16601	ML	267	66050	NAC
178	6404	ML	223	16646	ML	268	66051	NAC
179	9302	ML	225	16652	ML	269	66052	NAC

## ANNEXES

Annexe 1 : Origine et le code MGB pour les accessions de la collection. (Suite)

Code parcelle	Code MGB	Origin	Code parcelle	Code MGB	Origin
270	66053	NAC	315	66092	NAC
271	66054	NAC	316	66093	NAC
273	66055	NAC	317	66094	NAC
274	66056	NAC	318	66095	NAC
275	66057	NAC	319	66096	NAC
276	66058	NAC	321	66097	NAC
277	66059	NAC	322	66098	NAC
278	66060	NAC			
279	66061	NAC			
281	66062	NAC			
282	66063	NAC			
283	66064	NAC			
284	66065	NAC			
285	66066	NAC			
286	66067	NAC			
288	66068	NAC			
289	66069	NAC			
290	66070	NAC			
291	66071	NAC			
292	66072	NAC			
294	66073	NAC			
295	66074	NAC			
296	66075	NAC			
297	66076	NAC			
298	66077	NAC			
299	66078	NAC			
300	66079	NAC			
301	66080	NAC			
302	66081	NAC			
304	66082	NAC			
305	66083	NAC			
306	66084	NAC			
307	66085	NAC			
308	66086	NAC			
309	66087	NAC			
310	66088	NAC			
311	66089	NAC			
312	66090	NAC			
314	66091	NAC			

MGB: Moroccan Gene Bank

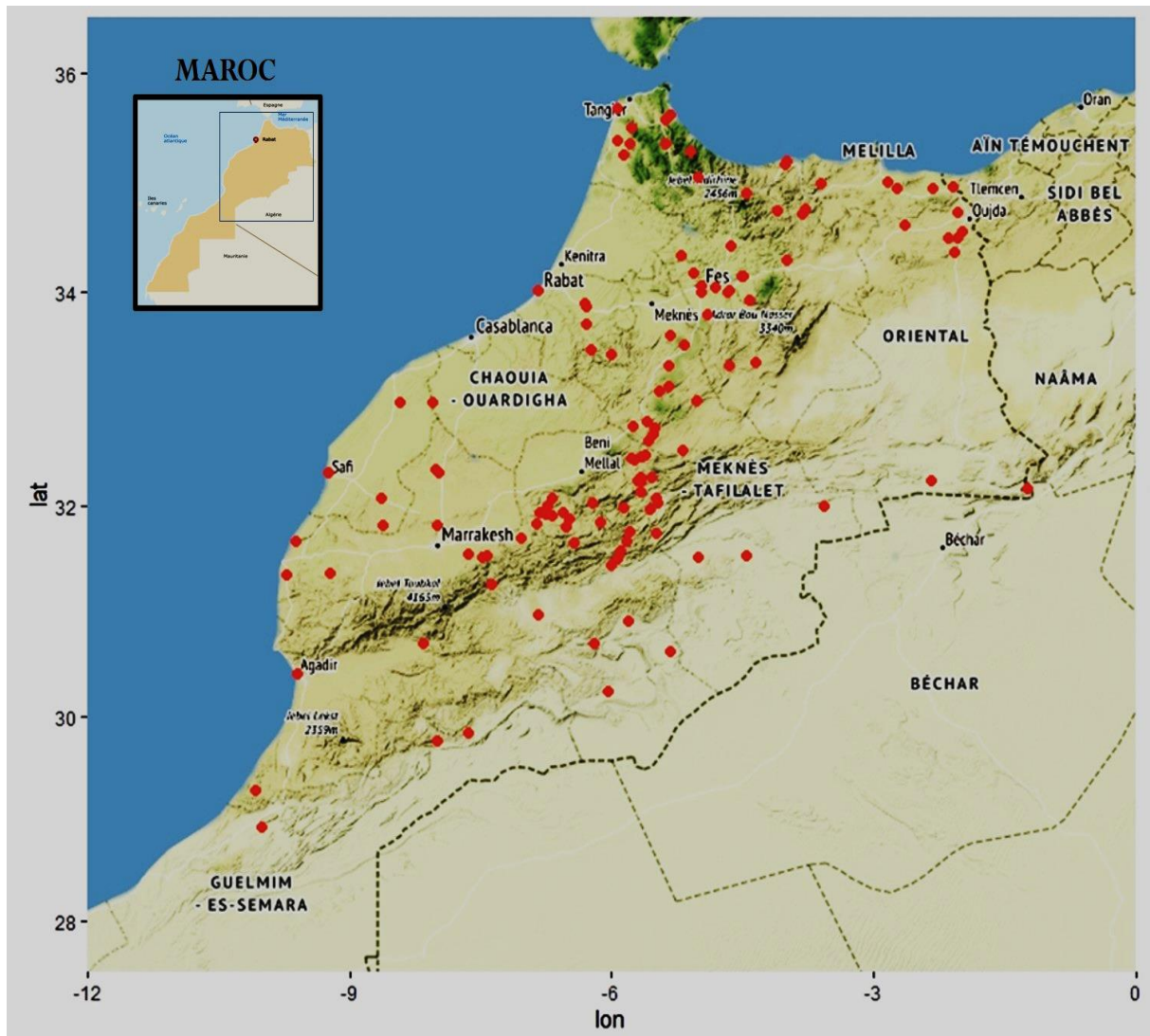
MC: Moroccan Cultivars

ML: Moroccan Landrace

NAC : North American Cultivars

## ANNEXES

Annexe 2 : Carte du Maroc. Présentation des régions et des sites de collectes de différentes variétés locales de blé dur.



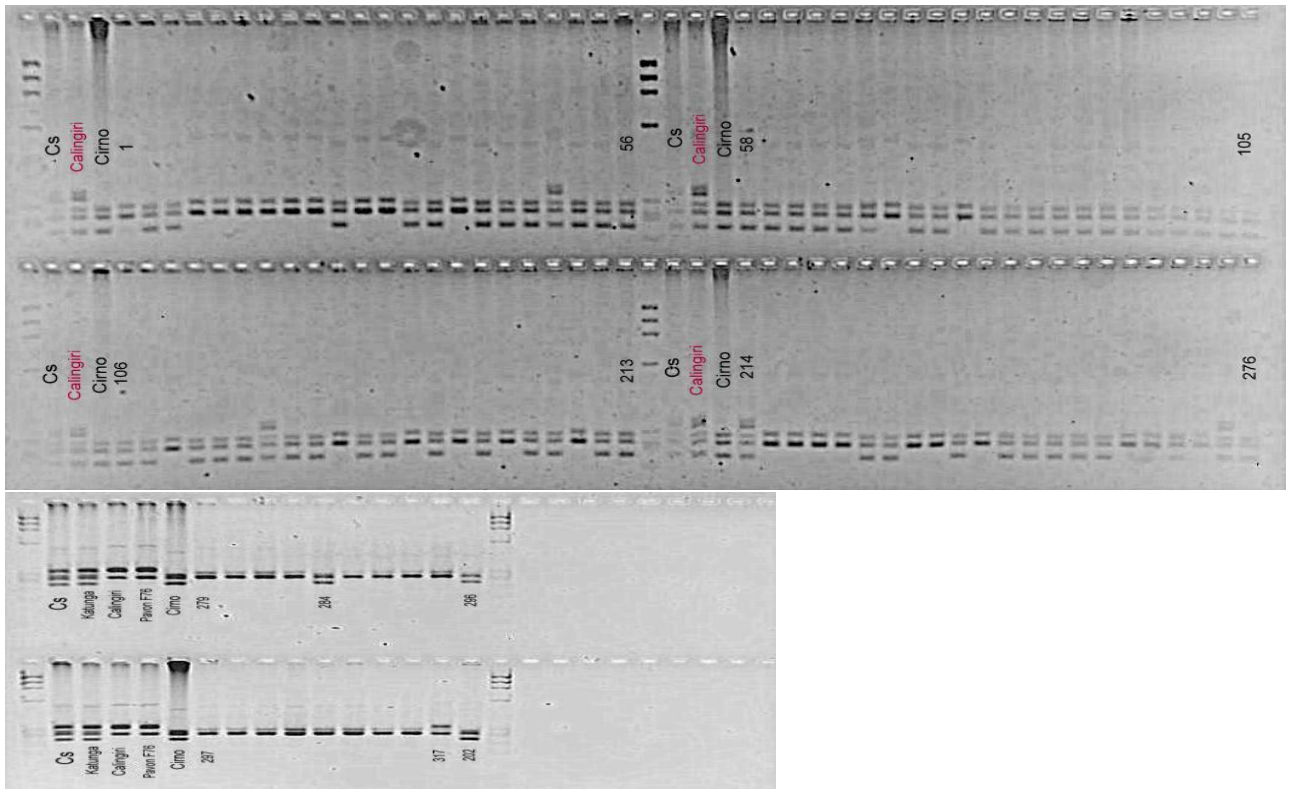
## ANNEXES

Annexe 3 : Marqueurs moléculaire étudiés et leurs séquences.

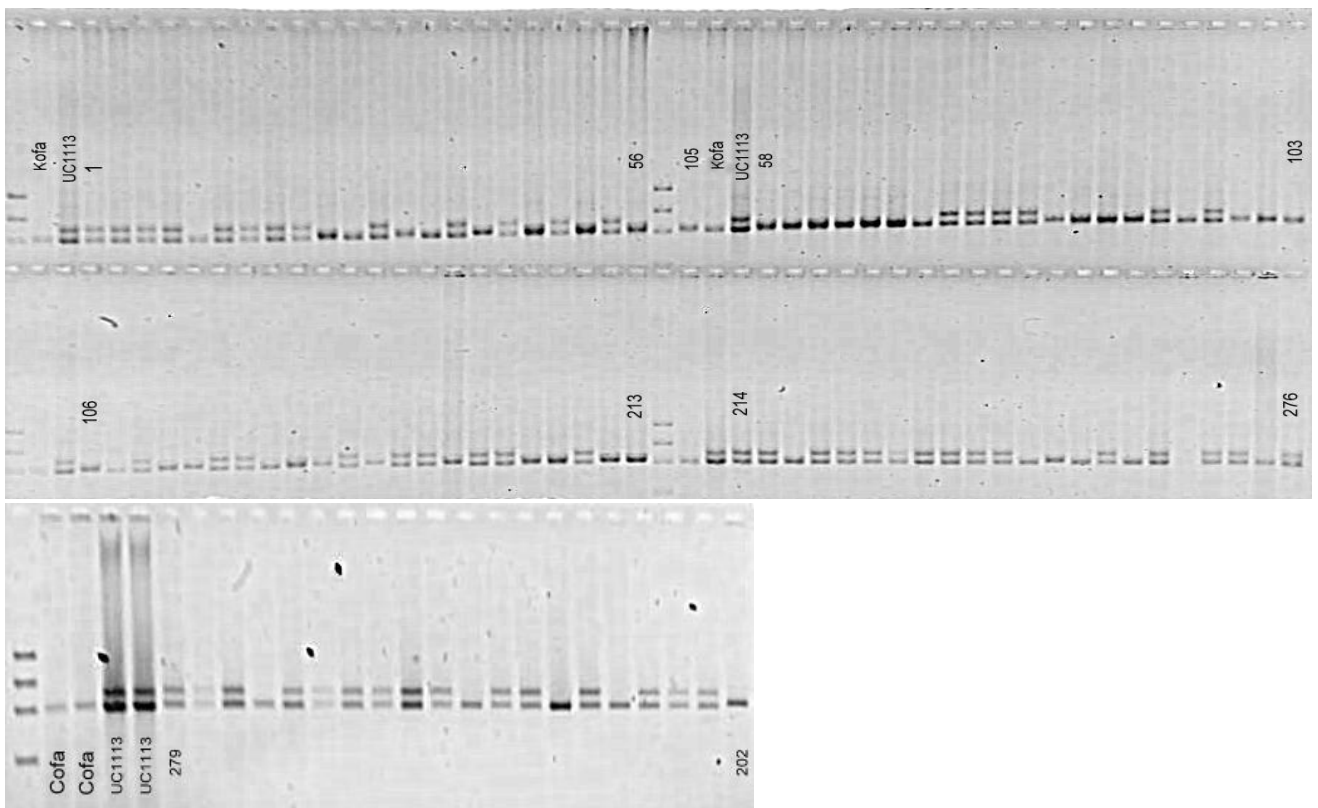
Code et source du marqueur	Trait	Gène	Type de marqueur	Chr	Brin normal 1 (5'-3') Brin inverse 1 (3'-5')
CIMwMASSTS0157 <b>Carrera et al., (2007)</b>	Lipoxygénase	<i>Lox-B1</i>	STS	4B	CTGATCGACGTCAACAAC CAGGTACTIONGCTCACGTA
CIMwMASSTS0151 <b>(Liu et al., 2005)</b>	Amidon	<i>Wx-A1</i>	STS	7A	CCAAAGCAAAGCAGGAAACC TACCTCGGAGATGACGCTGG
CIMwMASSTS0152 <b>McLauchlan et al (2001)</b>	Amidon	<i>GBSS-Null/Wx-B1</i>	STS	4A	TGGCCTGCTACCTCAAGA CCCTCCACCGGCTTCT
CIMwMASSTS0153 <b>Saito (2009)</b>	Amidon	<i>GBSS-Wx-B1</i>	STS	4A	CTGGCCTGCTACCTCAAGAGCAACT GGTTGCGGTTGGGGTCGATGAC
CIMwMASSTS0154 <b>Saito (2009)</b>	Amidon	<i>GBSS-Null</i>	STS	4A	CGTAGTAAGGTGCAAAAAAGTGCCACG ACAGCCTTATTGTACCAAGACCCATGTGTG
CIMwMASSTS0160 <b>He et al (2008)</b>	Phytoéne synthase	<i>Psy-A1</i>	STS	7AL	GGACCTTGCTGATGACCGAG TGACGGTCTGAAGTGAGAATGA
CIMwMASSTS0161 <b>He et al (2009)</b>	Phytoéne synthase	<i>Psy-B1</i>	STS	7B	GCCACAACCTGAATGTGAAAC ACTTCTCCATTGAACCC
CIMwMASSTS0162 <b>Posinak et al (2007)</b>	Phytoéne synthase	<i>Psy-B1</i>	STS-KAPS	7BL	GCGAGGAGTATGCCAAGACCT AAGGCCGACAAACGAAACAAT
CIMwMAS0162 <b>Saito et al (2009)</b>	Amidon	<i>Wx-B1_Null</i>	SNP	4A	CATCCGTATGTAGTCCCAATTGAA ACCCTAGTATTGTACCTTAGTTCAAAC
CIMwMAS0113 <b>He et al (2008)</b>	Phytoéne synthase	<i>Psy-A1_IND</i>	SNP	7A	GCCATCTACGGTAATCTGAAAATTCA CAATGGAGGGTCCAAACCAGGCAT
CIMwMAS0117 <b>He et al (2009)</b>	Phytoéne synthase	<i>Psy-B1c</i>	SNP	7B	GTGAAGAATAAAGGCCTCAC GCCTAATTTGATTCTTCCACAC
CIMwMAS0115 <b>Geng et al (2012)</b>	Lipoxygénase	<i>Lox-B1</i>	SNP	4B	TCCTCGGCGGAGCGCCGAG TCGGGTGCTTGGCGTTGGGCTT
CIMwMAS0079 <b>Sehgal et al., 2019</b>	PMG	<i>TaCwi-2A</i>	SNP	2A	CCTGATGAAACAAGTTAGTCCGGTAA CTGATGAAACAAGTTAGTCCGGTAC
CIMwMAS0095 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaCwi-4A</i>	SNP	4A	TTTATTTAAAATTTGATGAACCTTTTCAAAAT TTTATTTAAAATTTGATGAACCTTTTATAAAC
CIMwMAS0280 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaGS5</i>	SNP	3A	GTGCAATCTTGGACAAACATCAG GTGCAATCTTGGACAAACATCAT
CIMwMAS0081 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaGW2-6A</i>	SNP	6A	AGGGTGAGACGAAAATAAATCGG AGGGTGAGACGAAAATAAATCGA
CIMwMAS0281 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaGW6</i>	SNP	4A	ACGGGCCCGAGAGCGTCGCCCTC AGTGCACGGGCCCGAGAGCGTCCG
CIMwMAS0157 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaSus1</i>	SNP	7A	GATTTGATCCATGCCCTCTT GATTTGATCCATGCCCTCTC
CIMwMAS0158 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaSus1</i>	SNP	7A	CGGTATCAGGGTATCCCAACACTTTGTT CGGTATCAGGGTATCCCAACACATTGGA
CIMwMAS0159 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaSus1</i>	SNP	7A	TTGTGAATGGGGTGTCTGGTC TTGTGAATGGGGTGTCTGGTG
CIMwMAS0156 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaSus1</i>	SNP	7B	CAATTGCTTATGTTCTGTTGTACAT CAATTGCTTATGTTCTGTTGTATGG
CIMwMAS0155 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaSus2</i>	SNP	2A	AGCAATGGGGGAGACTGCTGGAGG AGCAATGGGGGAGACTGCTGGAGA
CIMwMAS0027 <b>CerealsDB</b>	PMG	<i>TaSus2</i>	SNP	2B	GCGGTGTCCTTGAGCTTCTCA GCGGTGTCCTTGAGCTTCTCG
CIMwMAS0154 <b>Rasheed et al (2016)</b>	PMG	<i>TaTGW6</i>	SNP	1A	CTGCGCTTACCAACGGTGTGACGTCA CTGCGCTTACCAACGGTGTGACGTCCG

# ANNEXES

Annexe 4 : Electrophorèse sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur *GBSS* (STS).

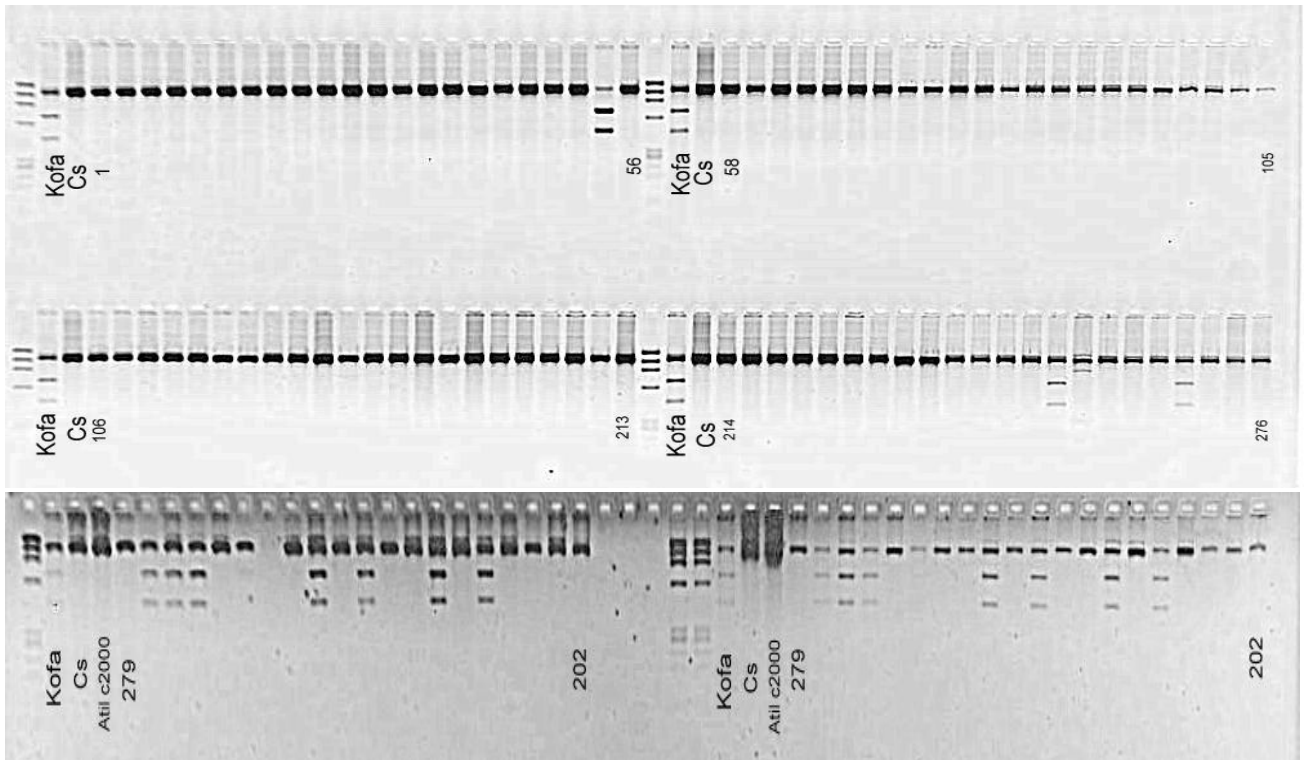


Annexe 5 : Electrophorèse sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur *LOXA* (STS).



ANNEXES

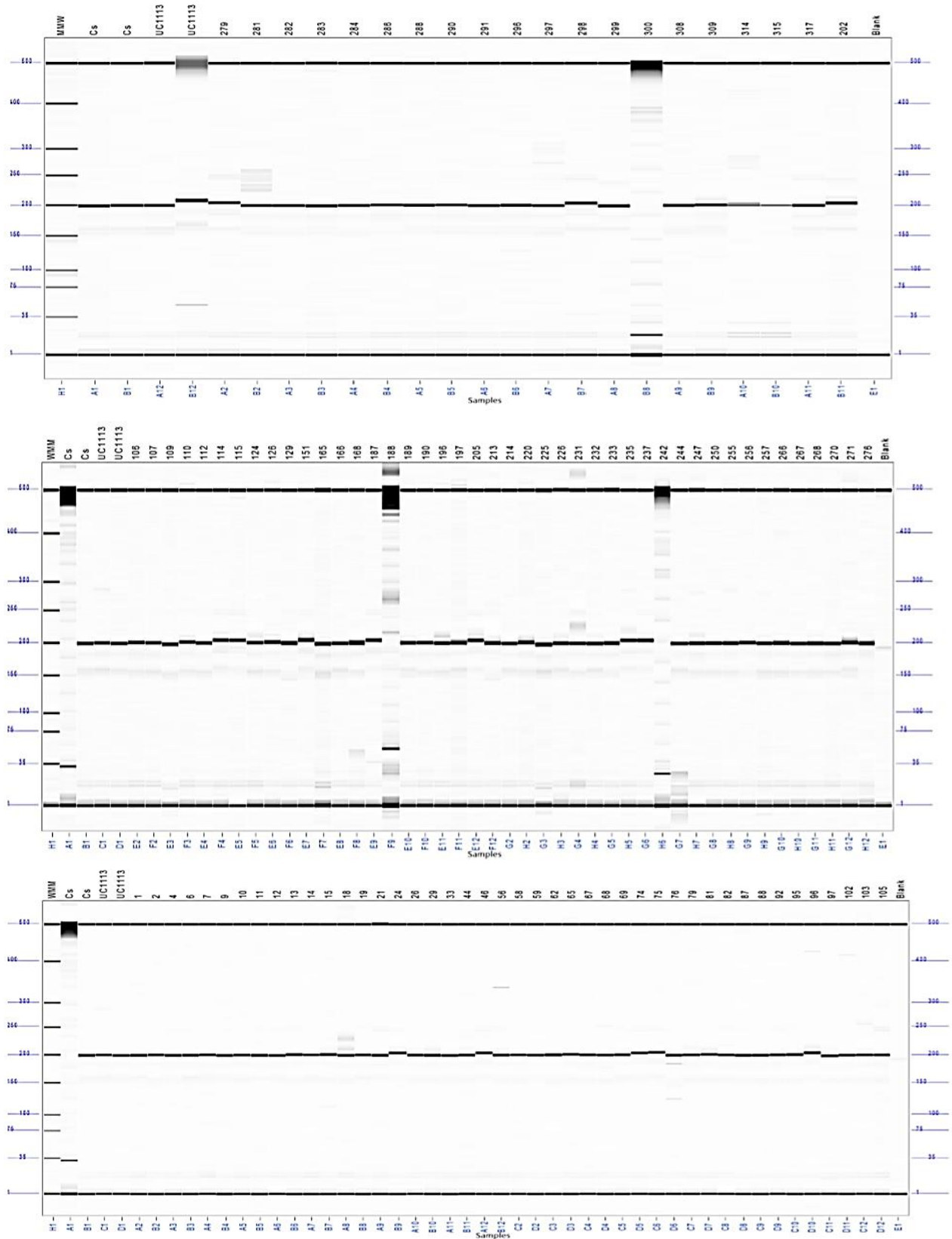
Annexe 6 : Electrophorese sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur *PSY1-F5/R5* (STS).





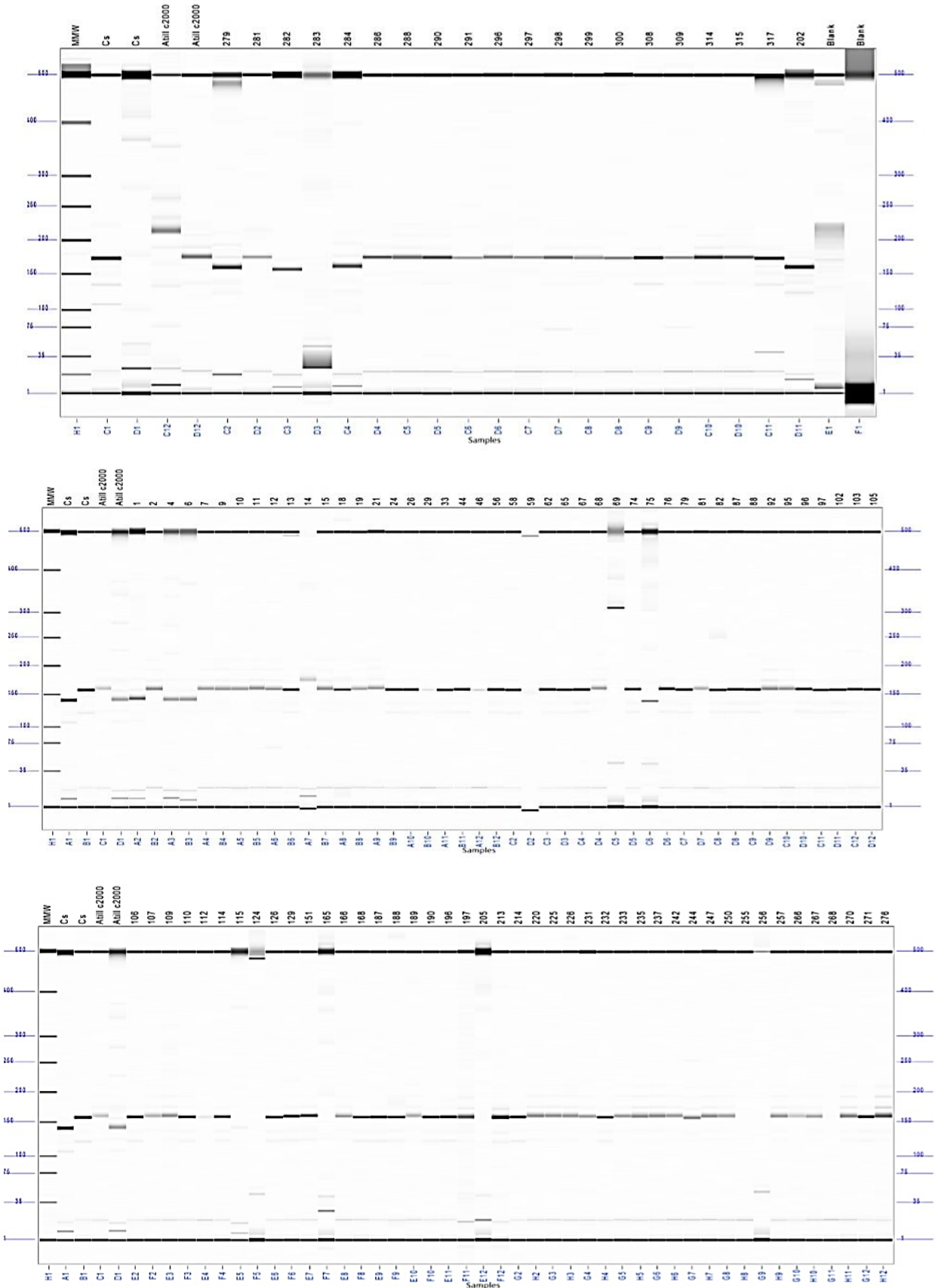
# ANNEXES

Annexe 7 : Electrophorese sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur *PSY-A1* (STS) en utilisant l'appareil « *Fragment Analyser™ Automated CE System* ».



# ANNEXES

Annexe 8 : Electrophorèse sur gel d'agarose des produits de PCR du marqueur du marqueur *YP7B-1* (STS) sur le gel d'agarose en utilisant l'appareil « *Fragment Analyser™ Automated CE System* ».



ANNEXES

Annexe 9 : Diagrammes de dispersion (Scatter plot pour le test KASP) pour certains marqueurs de SNPs. a : Diagramme de clustering pour *TaCwi-4A* ; b : Diagramme de clustering pour *GS5-2334*, c : Diagramme de clustering pour *TaSus1-7A*, d : Diagramme de clustering pour *Lox-B1*.

