

AVANT-PROPOS

- ✚ **Nom et prénom :** Youssef AIT BELLA
- ✚ **Intitulé du travail :** Apport des marqueurs morphologiques, biochimiques et génétiques dans le typage et la caractérisation de *Prunus* spp. au Maroc.
- ✚ **Directeur de la recherche :** Pr. Abdelmajid HADDIOUI
- ✚ **Co-encadrant :** Pr. Said BOUDA
- ✚ **Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Biotechnologie et Valorisation des Ressources Phytogénétiques.
- ✚ **Période de la thèse :** 2015-2021
- ✚ **Rapporteurs :**
 - Pr. Abdelilah MEDDICH, Professeur à la Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech.
 - Pr. Nadya WAHID, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal.
 - Pr. Soumia AMIR, Professeur à la Cité de l'Innovation, Marrakech.

✚ **Principales publications et communications auxquelles ce travail a donné lieu :**

Publications :

- Ait bella Y., Bouda S., Haddioui A. 2018. Phenotypic Diversity Analysis of Plum (*Prunus domestica* L.) Cultivars. *Phytomorphology*, 68 (3&4):93-101.
- Ait bella Y., Bouda S., Khachtib Y., Haddioui A. 2021. Genetic variability of cultivated plum (*Prunus domestica* L. & *Prunus salicina* Lindl.) in Morocco assessed by ISSR markers. *Australian Journal of Crop Science*, 15(06):948-954.
- Ait bella Y., Bouda S., Khachtib Y., Haddioui A. 2021. Biochemical composition and Antioxidant Activity of Moroccan Plum Cultivars. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. (Accepté)

Communications :

- Ait Bella Y., Bouda S., Haddioui A. 2016. collecte et évaluation des ressources génétiques du prunier (*Prunus domestica* L.) au Maroc. Workshop National sur la Biotechnologie. 26-27 Décembre, Beni Mellal, Maroc.
- Ait Bella Y., Bouda S., bouta W., Kabiri G., Haddioui A. 2017. Caractérisation morphologique et pomologique des ressources génétiques du prunier (*Prunus domestica* L.) au Maroc. Symposium Santé, Environnement et Développement Durable. 25 Février, El Jadida, Maroc.
- Ait Bella Y., Bouda S., bouta W., Kabiri G., Haddioui A. 2017. Biochemical characterization of Moroccan plum (*Prunus domestica* l.) cultivars. 4^{ème} Congrès International de Biodiversité Végétale. 05-08 Octobre, Marrakech, Maroc.
- Ait Bella Y., Bouda S., Haddioui A. 2018. Estimation of biochemical properties and antioxidant of several of Moroccan plum (*Prunus domestica* l.) cultivars. 4th International American Moroccan Agricultural Sciences Conference. 09-11 Mai, Meknès, Maroc.
- Bouda S., Ait Bella Y., Haddioui A. 2018. Usefulness of ISSR markers to investigate genetic variability of cultivated plum in Morocco. 6^{ème} Meeting international “ Agriculture Oasienne et Développement Durable” 19-21 Décembre, Zarzis, Tunisie.
- Ait Bella Y., Bouda S., Haddioui A. 2019. Exploration des marqueurs ISSR pour l'évaluation de la variabilité et des relations génétiques des cultivars de prunier au maroc. 7^{ème} Edition de l'École Internationale de Recherche “Biodiversité, Biotechnologies et Développement Durable”. 25-27 Avril, Agadir, Maroc.
- Ait Bella Y., Bouda S., Khachtib Y., Haddioui A. 2020. Etude de la diversité génétique du prunier au Maroc. 1st international E-conference on Climate Nexus Perspectives (I2CNP): Water Food and Biodiversity. 4 Juin, Khenifra.
- Ait Bella Y., Bouda S., Khachtib Y., Haddioui A. 2021. Etude de la diversité phénotypique et moléculaire du prunier au Maroc. 1ères Assises Régionales : « Innovation & Recherche dans l'Agriculture ». 28–29 Avril, Khénifra, Maroc.

DEDICACES

À mon fils Aaron

Ma source de joie et de bonheur.

À mon père et ma mère auxquels je reste redevable

Nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer suffisamment ma profonde affection et mon immense gratitude pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et mes études.

À ma chère épouse

Son soutien sans faille, sa grande indulgence, sa compréhension et surtout sa contribution dans le partage de stress de la recherche.

À mes chères sœurs

Je vous remercie pour toute l'aide et le soutien et les encouragements qui m'ont toujours donné de la force pour persévérer et pour prospérer dans la vie.

À tous les membres des trois familles AIT BELLA, TAHIRI et TAADIT sans aucune exception.

À tous mes enseignants tout au long de mes études.

À tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce travail.

REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche n'est pas le fruit d'un seul homme, bien qu'il serve maintenant à n'en couronner qu'un seul. De nombreuses personnes y ont participé apportant leur pierre à ce que je considère comme une œuvre collective. C'est la raison pour laquelle, au bout de six ans, malgré mes occupations professionnelles, j'ai pu mener à bien, je l'espère, ce travail de recherche dans des conditions plus favorables selon le lieu de travail. J'adresse mes chaleureux remerciements et toute ma grande reconnaissance à Monsieur **Abdelmajid HADDOUI**, Professeur à l'Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques, et Directeur du Laboratoire de Biotechnologie et Valorisation des Ressources Phytogénétiques pour m'avoir accueilli au sein de son équipe. Pr. A. HADDIOUI m'a toujours soutenu pour que je puisse mener ce travail de recherche dans les meilleures conditions possibles. Je le remercie aussi pour son encadrement pendant ces années, ses orientations, ses précieuses informations et ses encouragements.

Tous mes sincères remerciements vont également à mon Co-encadrant Monsieur **Said BOUDA**, Professeur à l'Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques Béni Mellal, pour son accompagnement, pour les discussions fructueuses et le partage de son savoir, ainsi que pour la rigueur, la patience et la bonne humeur qu'il a déployée pour m'initier aux différentes techniques moléculaires.

Je tiens à remercier Monsieur **Mohammed EL HANSALI**, Professeur à l'Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques Béni Mellal, d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse, malgré ses nombreuses occupations. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de mon profond respect.

Je voudrais remercier également les rapporteurs de cette thèse qui sont **Abdelilah MEDDICH**, Professeur à la Faculté des Sciences Semlalia Marrakech, **Soumia AMIR**, Professeur à la Cité de l'Innovation de Marrakech et **Nadya WAHID**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques Béni Mellal, qui ont bien voulu accepter d'être rapporteur et pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur **Mohamed FARISSI**, Professeur à la Faculté polydisciplinaire Béni Mellal et **Youness ABBAS**, Professeur à la Faculté

polydisciplinaire Béni Mellal, d'avoir aimablement accepté de faire partie de mon jury de thèse et de m'avoir fait l'honneur d'évaluer et de juger ce travail.

Mes vifs remerciements à Madame **Soumaya HAMMADA**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques Béni Mellal, pour son soutien moral, son coopération et l'ambiance conviviale de travail.

Je voudrais que tous mes collègues de la faculté des Sciences et techniques de Beni Mellal et plus particulièrement les docteurs et les doctorants du laboratoire de Biotechnologie et Valorisation des Ressources Phytogénétiques, même si je ne peux pas tous les nommer, trouvent ici l'expression de toute ma gratitude pour leur aide au cours de toutes ces années, en premier lieu Youssef KHACHTIB, Taoufik ELRASAFI, Abdessalam BIHAOUI, Wassila BOUTA, Hassane ABD-DADA pour leurs soutiens et leurs solidarités et leur aimable présence.

Résumé

Dans le but de définir une stratégie de conservation et d'amélioration du prunier marocain, des marqueurs morpho-pomologiques, biochimiques et moléculaires ont été utilisés afin de caractériser la diversité génétique des cultivars locaux et introduits au Maroc.

Les résultats de la variabilité des caractères morphologiques liés aux feuilles et aux fruits de 30 cultivars ont révélé une différence très significative entre les cultivars pour la majorité des traits analysés. Parmi les traits analysés les plus puissants pour la discrimination des cultivars étudiés se trouve le poids, la taille, la longueur, le diamètre du fruit, la largeur du noyau et la longueur des feuilles.

Les caractéristiques de la composition biochimique, minérale et du pouvoir antioxydant des fruits ont montré l'existence d'une variation très importante entre les cultivars étudiés pour la majorité des paramètres à l'exception de la teneur des protéines et du potassium. Les prunes sont riches en eau (83,33%), sucre 62,97 mg/g, vitamine C 146,19 mg/kg, potassium 229,77 mg/100g et fer 1,31 mg/100g, aussi elles ont une activité antioxydante importante (58,05%). Le cultivar Lmozari a présenté des valeurs élevées de vitamine C (249,33 mg/kg), protéines (0,88%) polyphénols (9,39 mgGAE/g), flavonoïdes (2,87 mgCE/g), cuivre (1,22 mg/100g) et fer (1,87 mg/100g).

La variation génétique a été estimée à l'aide des marqueurs ISSR. Les paramètres calculés de Rp (3,03), PBP (84%) et PIC (0,45) ont prouvé l'efficacité des amorces utilisées pour étudier la variabilité génétique chez ces espèces. Les distances génétiques établies entre paires de cultivars, ont varié de 0,06 à 0,67, alors que les indices de la diversité génétique de Nei (Ht) et (Hs) ont été respectivement de 0,27 et 0,21 indiquant une importante variabilité génétique entre les cultivars de prunier. Par ailleurs, La différenciation génétique entre les groupes géographiques des cultivars était large ($G_{ST}=0,23$). D'autre part, la structuration génétique de ces cultivars s'est opérée indépendamment de l'origine géographique et de la dénomination.

Les résultats obtenus dans cette étude fournissent des informations cruciales sur les caractéristiques phénotypiques et génétiques et la composition biochimique des pruniers au Maroc, et seront d'une grande valeur pour la conservation et l'amélioration de cette espèce d'importance économique.

Mots clés : prunier, marqueurs morpho-pomologiques, composition biochimique, marqueur ISSR, diversité génétique.

ABSTRACT

In order to define a conservation and improvement strategy for the Moroccan plum, morpho-pomological, biochemical, and molecular markers were used to characterize the genetic diversity of local and introduced cultivars in Morocco.

The results of the variability of morphological characters linked to leaves and fruits of 30 cultivars revealed a very significant difference between the cultivars for the majority of traits analyzed. Among the most powerful traits analyzed for discriminating the cultivars studied are the weight, size, length, fruit diameter, stone width and leaf length.

The characteristics of the biochemical, mineral composition and antioxidant power of fruits showed that there is a very important diversity among the studied cultivars, with the exception of proteins and potassium. This study also showed that prunes are rich in water (83.33%), sugar 62.97 mg / g, vitamin C 146.19 mg / kg, potassium 229.77 mg / 100g and iron 1.31 mg / 100g, so they have an antioxidant activity significant (58.05%). The cultivar Lmozari exhibited high values of vitamin C (249.33 mg / kg), protein (0.88%) polyphenols (9.39 mgGAE / g), flavonoids (2.87 mgCE / g), copper (1.22 mg / 100g) and iron (1.87 mg / 100g).

Genetic variation was estimated using ISSR markers. The calculated parameters of Rp (3.03), PBP (84%) and PIC (0.45) proved the effectiveness of the primers used to study genetic variability in these species. The genetic distances of Nei, established between pairs of cultivars, varied from 0.06 to 0.67, while the indices of genetic diversity of Nei (Ht) and (Hs) are respectively 0.27 and 0.21 indicating significant genetic variability between plum cultivars. Furthermore, the genetic differentiation between geographic groups of cultivars was wide ($G_{ST} = 0.23$). On the other hand, the genetic structuring of cultivars into four groups was operated regardless of geographic origin and denomination.

The results obtained in this study provide crucial information on the phenotypic, genetic characteristics and biochemical composition of plum in Morocco, which will be of great value for the conservation and improvement of this economically important species.

Key words: plum tree, morpho-pomological markers, biochemical composition, ISSR marker, genetic diversity.

ملخص

من أجل إرساء استراتيجية لتحسين و الحفاظ على شجرة البرقوق بالمغرب. قمنا في هذا العمل باستعمال اسماء مورفولوجية, بيوكيميائية وجزئية و ذلك بغاية تحديد التنوع الوراثي للأصناف المحلية والمستوردة بالمغرب.

أظهرت النتائج تنوع الصفات المورفولوجية المرتبطة بأوراق وثمار 30 صنفًا, اختلافًا جد مهمًا بين الأصناف لمعظم الصفات التي تم تحليلها. ومن أقوى الصفات التي تم تحليلها لتمييز الأصناف المدروسة نجد: الوزن والحجم والطول وقطر الثمرة وعرض النواة وطول الورقة.

فيما يتعلق بخصائص التركيب البيوكيميائي والمعدني والقدرة المؤكسدة للثمار, أبانت النتائج وجود تنوع جد مهم بين الأصناف المدروسة باستثناء البروتينات والبوتاسيوم. كما أظهرت هذه الدراسة أن ثمار البرقوق غنية بالمياه (83,33%)، السكر 62,97 mg/g، فيتامين C 146,19 mg/Kg، بوتاسيوم 229,77 mg/100g، الحديد 1,31mg/100g، كذلك تتوفر على قدرة مؤكسدة بدرجة مهمة (58,05 %). حيث أظهر الصنف Lmozari قيمًا عالية لفيتامين C (249.33 mg/Kg)، والبروتينات (0,88 %), بوليفينول (9,39 mgGAE/g)، الفلافونويد (2,87 mgCE/g)، النحاس (1,22 mg/100G) والحديد (1,87 mg/100g).

كذلك قمنا بتقدير التنوع الوراثي باستخدام الواسمات الجزئية ISSR. حيث أثبتت المعايير المحسوبة لـ Rp (3,03), PBP (84%) و PIC (0,45) فعالية هذه المؤشرات لدراسة التباين الوراثي بين هذه الأصناف. تباينت المسافات الوراثية لـ Nei التي تم إنشاؤها بين أزواج من الأصناف من 0.06 إلى 0.67. بينما كانت مؤشرات التنوع الوراثي لـ Nei (Ht) و (Hs) على التوالي 0.27 و 0.21 مما يشير إلى تباين وراثي كبير بين أصناف البرقوق. علاوة على ذلك، كان التمايز الوراثي بين المجموعات الجغرافية للأصناف واسعًا ($G_{ST} = 0,23$). من جهة أخرى أظهر التوزيع الوراثي استقلالية الأصناف عن الأصل الجغرافي و عن التسمية.

النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة زودتنا بمعطيات مهمة حول الخصائص المورفولوجية و الوراثية و التركيب البيوكيميائي لشجر البرقوق بالمغرب الذي له قيمة في الاقتصاد الوطني, و بذلك ستسهم هذه النتائج في الحفاظ على هذا النوع وتطويره.

الكلمات الرئيسية: شجرة البرقوق, اسماء مورفولوجية, المكونات البيوكيميائية, مؤشر جزئي ISSR, التنوع الوراثي.

Liste des abréviations

ACP : Analyse en Composantes Principals
ADN: Acide Désoxyribonucléique
AFLP: Amplified Fragment of Length Polymorphism
ANOVA : Analyse de la Variance
BET : Bromure d'éthidium
dNTP : 3' désoxyribonucléoside 5' triphosphate
DO : Densité Optique
DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique
FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
FAOSTAT: Food and Agriculture Organization Statistic
INRA : Institut National de la Recherche Agronomique
ISSR : Inter Simple Sequence Repeat
K : Nombre de population
Kb/ Pb : Kilobases/ paire de bases
ha/Km/m/cm/mm : Hectare /kilomètre/mètre/centimètre/millimètre
LSD : Différence Significative Minimale
M/mM/ μ M/N : Molaire/ milli molaire/ micromolaire/ normalité
ml/ μ l : Millilitre/microlitre
ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity
PCR : Polymerase Chain Reaction
PH : Potentiel d'hydrogène
RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP : Restriction Fragment of Length Polymorphism
SAS : Statistical Analysis System
SNPs : Single Nucleotide Polymorphisms
SSR : Single Sequence Repeat
Ta/ Tm : Annealing Temperature/ Melting Temperature
Taq : Thermophilus aquaticus
t/g/mg/ng : Tonne/ gramme/milligramme/nanogramme
TAE : Tampon Tris - Acétate- EDTA
U / V: Unité / Voltes
UPGMA : Unweighted pair group method with arithmetic mean
UPOV : Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales
UV-Vis : Ultraviolet Visible

Liste des figures

Figure 1: Arbres de <i>Prunus domestica</i> L. (a : variété : Stanley, b : Tabarkakacht).....	8
Figure 2: Formes des arbres du prunier (khanizadeh et cousineau, 2014).....	9
Figure 3: Fleur de prunier (https://www.visoflora.com/photos-nature/photo-fleur-de-prunier-reine-claude.html)	10
Figure 4 : Arbre de <i>Prunus salicina</i> Lindl (variété Golden Japan).....	12
Figure 5: Verger de <i>Prunus salicina</i> (variété fortune).....	13
Figure 6: Stades de développement des boutons floraux de prunier japonais selon Baggiolini (1952). (A) Stade A: bourgeon d'hiver, (B) Stade B: gonflement des bourgeons de fleurs, (C) Stade C: bourgeons de fleurs apparents, (D) Stade D: stade ballonnets (E) Stade: les étamines sont apparentes, (F) Stade F: pleine floraison. (Guerra et Rodrigo, 2015).	15
Figure 7: Quelques fruits de différentes variétés de pruniers.....	17
Figure 8: Schéma illustrant les différentes utilisations et voies de valorisation du prunier....	21
Figure 9: Evolution de la superficie et de la production du prunier au Maroc. (FAO, 2018)	23
Figure 10: Evolution de la production (en t) des principales plantations d'horticole au Maroc (MAPMDREF).....	23
Figure 11: Taches sur les fruits et les feuilles du prunier causé par la Sharka. (www.sharka.agroscope.ch)	26
Figure 12: Répartition géographique des sites de collection des cultivars étudiés.	42
Figure 13: Exemple de quelques feuilles des cultivars étudiés.	46
Figure 14: Exemple du fruit des cultivars étudiés (a ; Santa Rosa, b ; Stanley, c ; Lbayda, d ; Tabarkakacht).....	49
Figure 15: Présentation de 30 cultivars du prunier dans le plan 1-2 d'une ACP réalisée à partir de 30 variables morpho-pomologiques.....	57
Figure 16: Dendrogramme de 30 cultivars du prunier basé sur les caractères morpho-pomologiques.	57
Figure 17: Analyse en composantes principales des quinze cultivars de prunier selon les différents paramètres biochimiques.	87
Figure 18: Dendrogramme généré par les paramètres biochimiques étudiés chez les quinze cultivars marocains du prunier.	88

Figure 19 : Programme d'amplification pour les échantillons d'ADN du prunier.	96
Figure 20: Exemple de profils d'amplification des marqueurs ISSR obtenus par les amorces : UBC 825 (A) et UBC 855 (B) ; M : marqueur de poids moléculaire de 1 KB.	103
Figure 21: Corrélation entre les distances génétique et les distance géographiques.....	110
Figure 22: Dendrogramme UPGMA sur la base des distances génétiques de Nei calculées sur la base des 84 marqueurs ISSR montrant les liens phylogénétiques entre les 23 cultivars du prunier.	113
Figure 23: Méthode graphique permettant la détermination du nombre optimal K de clusters selon les paramètres d'Evanno et al. (2005). Le nombre optimal de clusters étant atteint pour K = 4.....	115
Figure 24: Les relations génétiques entre les 23 cultivars localisés au niveau des quatre provenances estimées à l'aide du programme STRUCTURE basé sur les données ISSR.....	116

Liste des tableaux

Tableau 1: Fertilité des cultivars de pruniers européens (Neumüller, 2011).....	11
Tableau 2: Cultivars de prunier japonais décrits comme auto-compatibles ou auto-incompatibles (Guerra et Rodrigo, 2015).....	16
Tableau 3: Cultivars pollinisateurs recommandés pour certains cultivars de pruniers japonais (Guerra et Rodrigo, 2015).....	16
Tableau 4: Principaux pays producteurs de la prune (FAOSTAT, 2018).....	22
Tableau 5: Composition chimique de prunes par 100g de matière fraîche. (USDA, 2018) ...	25
Tableau 6: Caractéristiques géographiques et écologiques des sites de collection des cultivars étudiés.....	43
Tableau 7: Traits morphologiques et pomologiques étudiés.....	44
Tableau 8: Caractères morphologiques des feuilles mesurés chez les 30 cultivars étudiés....	47
Tableau 9: Les résultats de l'analyse de la variance des caractères pomologiques mesurés chez les 30 cultivars du prunier.....	50
Tableau 10: Les résultats de l'analyse de la variance des paramètres liés aux noyaux chez les 30 cultivars étudiés.	52
Tableau 11: Matrice des coefficients de corrélation entre les paramètres morpho-pomologiques étudiés.....	54
Tableau 12: Les cultivars étudiés pour l'analyse biochimique.	65
Tableau 13: Valeurs moyennes des paramètres biochimiques de 15 cultivars de pruniers. ...	81
Tableau 14: Valeurs moyennes des éléments minéraux de 15 cultivars de pruniers.....	82
Tableau 15: Coefficient de corrélation de Pearson de l'ensemble des paramètres biochimiques analysés.....	85
Tableau 16: Appellation et origine géographique de 23 cultivars de pruniers marocains étudiés.....	93
Tableau 17: Séquences et température d'hybridation des amorces ISSRs utilisées dans les réactions PCR-ISSR.	96
Tableau 18: Caractéristiques des amorces ISSR étudiés et les paramètres statistiques.....	104
Tableau 19: Paramètres de diversité intra-groupe de prunier.	105
Tableau 20: Paramètres de diversité génétique des quatre groupes géographiques des cultivars de prunier basés sur les données ISSR.	108

Tableau 21: Paramètre de la diversité génétique entre les quatre groupes géographiques et entre les deux espèces.	109
Tableau 22: Matrice des distances génétiques entre les 23 cultivars étudiés selon la formule de Nei basées sur 84 marqueurs ISSRs.	111

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
I. Généralités sur le prunier	6
1. Botanique et taxonomie	6
2. Description de <i>Prunus domestica</i>	7
2.1. Arbre.....	7
2.2. Rameau.....	8
2.3. Feuilles	9
2.4. Fleur	9
2.5. Floraison.....	10
2.6. Pollinisation.....	11
2.7. Fruits.....	11
3. Description de <i>Prunus Salicina</i>	12
3.1. Arbre.....	12
3.2. Rameau.....	13
3.3. Feuilles	13
3.4. Fleur	13
3.5. Floraison.....	14
3.6. Pollinisation.....	15
3.7. Fruits.....	17
4. La multiplication des plantes de prunier.....	17
5. Origine géographique du prunier.....	18
5.1. <i>Prunus domestica</i>	18
5.2. <i>Prunus salicina</i>	19
6. Conditions edapho-climatique de culture du prunier	19
6.1. Température	19
6.2. Sol.....	19
6.3. Eau.....	20
7. Utilisation et voies de valorisation des prunes	20
8. Production du prunier dans le monde	21
9. Valeurs nutritionnelles.....	24

10. Etat phytosanitaire du prunier.....	26
II. Ressources et diversité génétique du prunier	28
1. Ressources génétiques du prunier.....	28
2. Diversité génétique du prunier	29
2.1. Caractérisation morphologique	29
2.2. Caractérisation biochimique.....	31
2.3. Caractérisation moléculaire.....	34
2.3.1. Marqueurs RFLP.....	34
2.3.2. Marqueur AFLP	34
2.3.3. Marqueurs RAPD.....	35
2.3.4. Marqueur SSR.....	35
2.3.5. Marqueurs ISSR.....	37
2.3.6. Marqueur SNP	38
CHAPITRE II:	39
ETUDE DE LA DIVERSITE PHENOTYPIQUE DU PRUNIER	39
I. Introduction	40
II. Matériel et méthodes.....	41
1. Matériel végétal	41
2. Caractères morphologiques et pomologiques	41
3. Analyses statistiques.....	44
III. Résultats	45
1. Analyse des caractères pris séparément.....	45
1.1. Traits morphologiques des feuilles.	45
1.2. Caractères relatifs aux fruits.....	48
1.3. Caractères relatifs aux noyaux.	51
2. Matrice des corrélations.....	53
3. Analyse en composantes principales (ACP) et classification hiérarchique ascendante. 55	
IV. Discussion et conclusion.....	58
CHAPITRE III : CARACTERISATION BIOCHIMIQUE ET EVALUATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT DE LA PRUNE.....	63
I. Introduction	64
II. Matériels et méthodes	65
1. Matériel végétal	65

2.	Analyses physico-chimiques	65
2.1.	Détermination du taux d'humidité et de la matière sèche	65
2.2.	Teneur en cendre	66
2.3.	pH	66
2.4.	Acidité titrable	66
2.5.	Fibres	67
2.6.	Teneur en solides solubles totaux	67
3.	Analyses biochimiques	68
3.1.	Acide ascorbique	68
3.2.	Dosage des protéines brutes.	69
3.3.	Préparation des extraits de fruits pour dosage des métabolites secondaires et activité antioxydante.	70
3.4.	Dosage des polyphénols totaux	70
3.5.	Détermination de pouvoir antioxydant	71
3.6.	Dosage des anthocyanes	71
3.7.	Dosage des flavonoïdes totaux	72
3.8.	Dosage des sucres	72
4.	Analyse minéralogique	72
5.	Analyses statistiques	73
III.	Résultat et discussion	73
1.	Description statistique des paramètres	73
1.1.	Matière sèche	73
1.2.	Teneur en cendres	74
1.3.	Fibres	74
1.4.	Le potentiel d'hydrogène de jus (pH)	74
1.5.	Acidité titrable	75
1.6.	Teneur en solides solubles totaux	75
1.7.	Acide ascorbique	75
1.8.	Protéines brutes	76
1.9.	Sucres totaux	76
1.10.	Polyphénols totaux	76
1.11.	Pouvoir antioxydant	77
1.12.	Anthocyanes	77
1.13.	Flavonoïdes totaux	77

1.14. Eléments minéraux	78
2. Corrélations entre les paramètres biochimiques.....	83
3. Analyse des composantes principales.....	86
4. Classification hiérarchique ascendante.....	86
IV. Conclusion.....	88
CHAPITRE IV : ANALYSE DE LA VARIABILITE GENETIQUE DES CULTIVARS DU PRUNIER PAR LES MARQUEURS MOLECULAIRES ISSRs.	90
I. Introduction	91
II. Matériel et méthodes	91
1. Matériel végétal	91
2. Extraction de l'ADN.....	92
3. Test d'intégrité d'ADN.....	94
4. Quantification de l'ADN extrait	94
5. Evaluation de la pureté d'ADN	94
6. Amplification de l'ADN par PCR	94
7. Méthodes d'analyse statistique des données moléculaires	97
7.1. Informativité des marqueurs génétiques.....	97
7.2. Analyse de la diversité génétique entre les cultivars.....	98
III. Résultats et discussion.....	101
1. Qualité d'ADN extrait et optimisation de milieu réactionnel.....	101
2. Polymorphisme d'ISSR	101
3. Diversité génétique	105
4. Distance génétique et regroupement des cultivars	110
IV. Conclusion.....	117
CONCLUSION GENERALE	119
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	123
ANNEXES.....	142

INTRODUCTION GENERALE

La conservation des ressources phytogénétiques est devenue une préoccupation technico-socio-économique et politique importante au cours des quarante dernières années. Avec les succès de la révolution verte dans les années soixante et les pertes concomitantes des ressources génétiques locales des principales cultures vivrières, en particulier dans les pays en développement, il est devenu évident que des efforts coordonnés pour collecter et conserver ces ressources menacées étaient nécessaires (Engels, 2003).

Ces ressources phytogénétiques jouent un rôle de plus en plus important dans la sécurité alimentaire et dans le développement économique au niveau mondial. Une estimation récente suggère que la population mondiale atteindra 9 milliards ou plus d'ici 2050 (UN, 2012), et pour répondre aux demandes de cette population mondiale, il faudrait une augmentation de 70% ou au moins un doublement de la production alimentaire (World Bank, 2008; Smith et Gregory, 2013). En outre, le groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat a récemment fourni des preuves sans équivoque du réchauffement climatique (IPCC, 2014), indiquant que le changement climatique est un facteur de risque qui pourrait entraîner des déficits dans la production agricole en raison d'une augmentation des conditions environnementales défavorables. En effet, les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture se composent d'une diversité de semences et de matériel de plantation de variétés traditionnelles et de cultivars modernes, de plantes apparentées sauvages et d'autres espèces de plantes sauvages. Ces ressources sont utilisées comme aliments, nourritures pour animaux domestiques, fibres, textiles et énergie. Leur conservation et leur utilisation durable sont nécessaires pour assurer la production agricole et répondre aux défis environnementaux croissants et au changement climatique. Pour cela, plusieurs programmes d'amélioration et de conservation des ressources phytogénétiques ont été entrepris dans de nombreuses régions du monde (Ferranti, 2016).

En raison de sa situation géographique, le Maroc est considéré comme un centre important de diversité génétique pour un grand nombre d'espèces cultivées et leurs formes sauvages apparentées. Il se considère parmi les pays méditerranéens ayant un grand nombre d'espèces vivantes sur son territoire. La flore vasculaire marocaine compte environ 4500 espèces réparties sur 930 genres et 130 familles (Fennane, 2004). Les connaissances actuellement disponibles permettent d'affirmer que 1641 taxa sont rares ou menacés dont plus des deux tiers sont très rares. Le nombre total d'espèces endémiques est de 1350 taxa dont environs deux tiers sont spécifiques au Maroc. Dans la flore marocaine, 407 taxa renferment

toutes les plantes à usage alimentaire, médicinal ou aromatique, pastoral, ornemental, industriel et les parents ou voisins sauvages de formes cultivées. Les collections réalisées portent essentiellement sur les céréales, les espèces fourragères et pastorales et les espèces arboricoles fruitières (Saidi, 2007). Toutefois, un grand nombre d'espèces se trouvent menacées de disparition et plusieurs écosystèmes subissent une dégradation préoccupante. La surexploitation des ressources naturelles, la perte et la fragmentation d'habitat, la déforestation, les incendies, le surpâturage, l'urbanisation et la pollution auxquels s'ajoutent les conditions climatiques sévères constituent les principales menaces qui pèsent sur la biodiversité au Maroc (FAO, 2016).

La préservation et la gestion rationnelles des ressources phylogénétiques revêtent un caractère important pour assurer une agriculture et un développement durables. Il est donc indispensable d'établir une stratégie de conservation de ces ressources. Pour atteindre les buts de cette stratégie, plusieurs actions sont nécessaires. Particulièrement, il faut élaborer un inventaire des accessions, puis évaluer la diversité génétique du matériel génétique, établir une conservation ex situ, soit sous forme de collections au champ, soit sous forme de graines (banques de semences), et une conservation in situ, qui est la préservation d'espèces vivantes à l'état naturel dans leur sites naturels.

Les rosacées fruitières constituent une partie de la flore marocaine. Ce secteur des rosacées est caractérisé par une gamme diversifiée d'espèces, et il est représenté par deux groupes : les rosacées à pépins (Pommier, Poirier, Cognassier) et les rosacées à noyau (Amandier, Abricotier, Prunier, Pêcher, Cerisier). Les rosacées fruitières occupent une superficie de plus de 253119 Ha, répartis entre rosacées à noyaux (80%) et rosacées à pépins (20%). Ce secteur intéresse plusieurs régions au niveau national, les zones de production les plus importantes sont localisées en zones de hautes et moyennes altitudes du haut et du moyen Atlas et le Rif (MAPMDREF, 2017).

Au Maroc l'arboriculture fruitière constitue un atout important pour le développement du potentiel agronomique, pédoclimatique et hydrique. Elle constitue ainsi une activité pour l'amélioration de la trésorerie des agriculteurs et la création de l'emploi durant une longue période de l'année. Elle occupe une place importante dans l'économie du pays. Parmi ces arbres on trouve le prunier (*Prunus domestica* L. et *Prunus salicina* Lindl). Les cultivars locaux de prunier marocain se caractérisent par de nombreux écotypes qui se distinguent

principalement par les caractéristiques du fruit. Cependant, une érosion génétique importante menace le matériel génétique tel que les maladies, l'utilisation de cultivars introduits aux dépens des cultivars locaux et la culture monovariétale.

A cet égard, l'étude de la diversité des ressources génétiques du prunier au Maroc se voit indispensable pour inventorier les cultivars, minimiser l'érosion génétique, établir des stratégies de conservation efficaces, résoudre le problème du mauvais étiquetage et déterminer le nombre exact de cultivars afin de constituer une collection nationale. En effet, notre travail est focalisé sur l'évaluation de la variabilité génétique de prunier via des marqueurs pomologiques et morphologiques, biochimiques et moléculaires. Cette étude permet de fournir des éléments nécessaires pour l'identification des cultivars représentatifs de la diversité locale dans le but d'assurer la conservation et la gestion des ressources génétiques de ces espèces.

Le présent manuscrit débute par une introduction générale, puis une synthèse bibliographique où sont dressées quelques notions de base sur le prunier, les travaux de recherche qui ont été effectués pour analyser la diversité génétique du prunier en utilisant des différents types de marqueurs : morphologiques, biochimiques et moléculaires.

Ensuite, le deuxième chapitre est consacré à la présentation du matériel végétal, des techniques utilisées et des résultats obtenus sur la diversité phénotypique des cultivars du prunier, basée sur 30 caractères qualitatifs et quantitatifs liés aux feuilles et aux fruits.

Nous avons présenté dans le troisième chapitre les méthodes utilisées dans la caractérisation biochimique des prunes de cultivars étudiés et les résultats obtenus.

Enfin, dans le dernier chapitre, nous avons décrit les moyens utilisés pour étudier la diversité génétique des cultivars du prunier à l'aide des marqueurs moléculaires ISSR ainsi que les résultats obtenus.

CHAPITRE I :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur le prunier

1. Botanique et taxonomie

Le prunier appartient à la famille des rosacées et au vaste genre *Prunus* avec un nombre de chromosome de base ($x=8$) comprenant plus de 430 espèces et composé de 5 sous-genres : *Prunophora*, *Amygdalus*, *Cerasus*, *Padus* et *Laurocerasus*. Le sous-genre *Prunophora* comprend les deux espèces : *Prunus domestica* L. et *Prunus salicina* Lindl. Ces deux espèces sont cultivées dans le monde (Bouhadida et al., 2007 ; Okie et Hancock, 2008; Ben Tamarzizt et al. 2015).

Le prunier européen (*P. domestica*) est une espèce hexaploïde comportant quarante-huit chromosomes ($2n = 6x = 48$) et probablement originaire d'Europe orientale ou d'Asie occidentale autour du Caucase et de la mer Caspienne (Athanasiadis et al., 2013). L'hybridation entre *Prunus cerasifera* principalement diploïde ($2n = 2x = 16$) (Prune myrobalan) et *Prunus spinosa* tétraploïde ($2n = 4x = 32$) a été suggéré comme l'origine de *Prunus domestica* (Hummer et Janick, 2009). Le prunier japonais (*P. salicina*) est une espèce diploïde comportant 16 Chromosomes ($2n=16$) originaire de Chine et domestiqué au Japon (Ramming et Cociu 1991). En plus, il existe également plusieurs espèces de prunier indigènes dans certains pays, comme en Amérique du Nord (*P. americana*, *P. hortulana*, *P. subcordata*) et au Royaume-Uni (*P. spinosa*, *P. institia*) (Hansmann et Combrink, 2003).

Sur le plan taxonomique, il existe deux classifications qui ont été proposées pour le prunier, la première pour *P. domestica* selon Linné en 1753, alors que pour *P. salicina* la première est selon John Lindley en 1830.

La deuxième classification est la plus adoptée actuellement et établie par un groupe de botanistes en 1998 (Angiosperm Phylogeny Group ou APG). Cette nouvelle classification est construite à la base de deux gènes chloroplastiques et un gène nucléaire de ribosome. Elle a été actualisée en 2009 par deux membres du même groupe de botanistes et qui ont créé une nouvelle version de classification phylogénétique APGIII et selon laquelle le prunier est classifié comme suit :

Clade : Angiospermes
Clade : Dicotylédones vraies
Clade : Rosidées
Clade : Fabidées
Ordre : Rosales
Famille : *Rosacées*
Sous famille : *Prunoïdées*
Genre : *Prunus*
Espèce : *Prunus domestica* ou *Prunus salicina*

D'après cette classification on note qu'il n'y a aucun changement ni au niveau du genre *Prunus* ni au niveau de la famille des *Rosacées* par rapport à la première classification.

2. Description de *Prunus domestica*.

2.1. Arbre

P. domestica est un arbre fruitier de taille moyenne entre 3 et 10 mètres de haut, parfois jusqu'à 15 mètres (Maire, 1980 ; Wu et al., 2003) (Figure 1), son port étalé et spacieux lui donne une allure vigoureuse et bien portante (Lespinase et Leterme, 2005). Il prend plusieurs formes (Figure 2).

Les prunes sont généralement évaluées sur le terrain lorsqu'elles produisent leurs premiers fruits 3–5 ans après la plantation. Pour la plupart des sélectionneurs, les notes d'évaluation détaillées sont prennent sur les plantules d'arbres qui répondent aux exigences minimales de vigueur et de résistance aux maladies et à la taille des fruits (Okie et Hancock, 2008).



Figure 1: Arbres de *Prunus domestica* L. (a : variété : Stanley, b : Tabarkakacht)

2.2. Rameau

Les branches de *P. domestica* sont brun rougeâtre, non armées ou à quelques épines, glabres. Les rameaux rouge pâle à vert grisâtre, peu pubescents et ne portant quelques poils que dans l'extrême jeunesse. Les bourgeons d'hiver brun rougeâtre, généralement glabres (Maire, 1980 ; Wu et al., 2003).

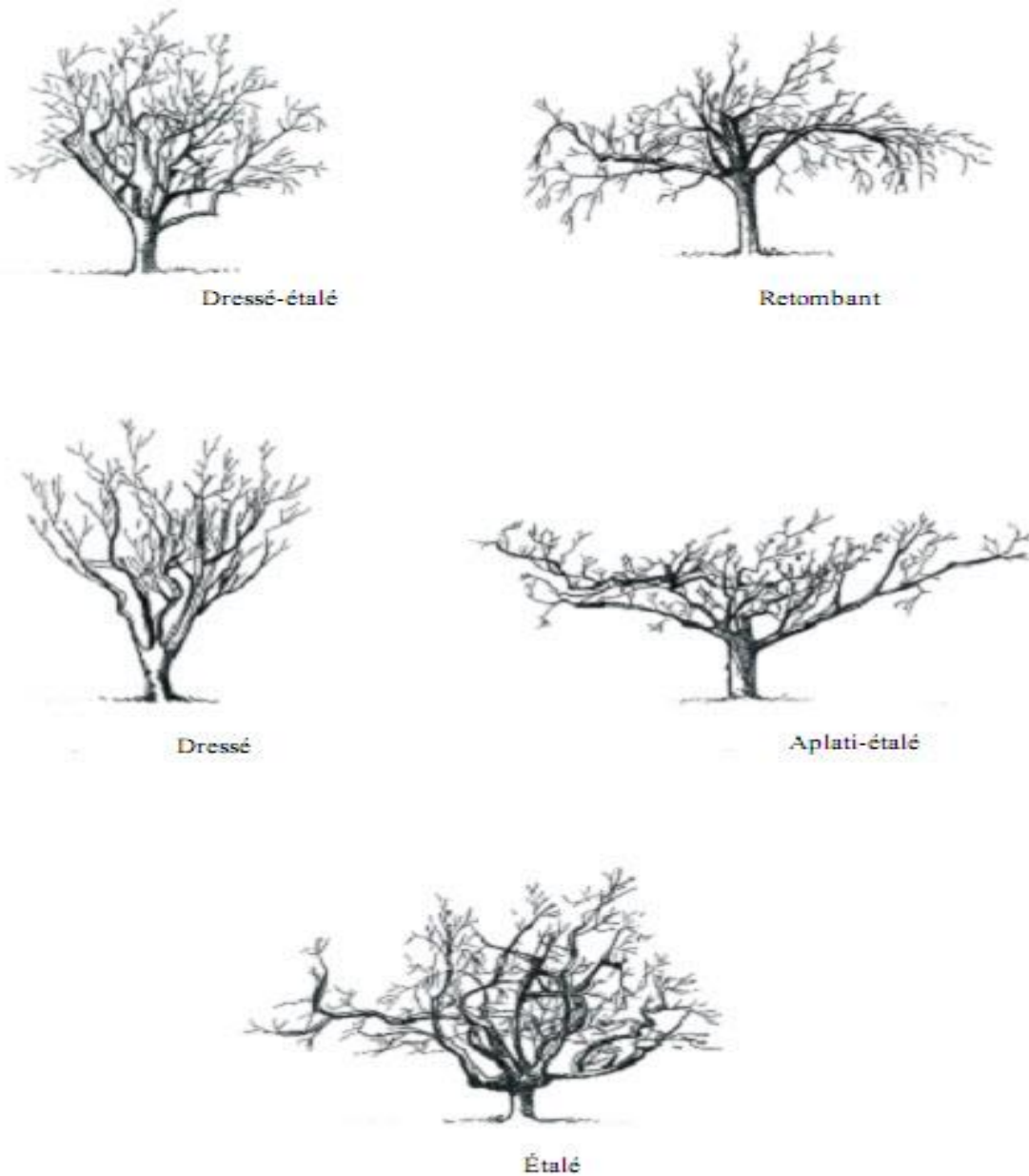


Figure 2: Formes des arbres du prunier (khanizadeh et cousineau, 2014)

2.3. Feuilles

P. domestica possède des feuilles caduques, simples et alternes, limbes vert foncé de formes elliptiques, obovales-oblongues ou arrondi, crénelées-dentées, apex aigu à obtus. les pétioles sont courts souvent glanduleux, avec des bords ondulés finement festonnés ou crantés (Maire, 1980 ; Wu et al., 2003).

2.4. Fleur

Les fleurs de prunier sont hermaphrodites, elles ont une forme et une structure similaires à celles des fleurs de pêche. Cependant, elles sont blanches, plus petites et ont des pédicelles plus longs (tiges de fleurs) que ceux des pêcheurs (Figure 3). Les fleurs sont principalement

portées en grappes en forme de parapluie. Ces grappes sont à leur tour portées sur des éperons courts (Pesson et Louveaux, 1984 ; Caillavet, 1991).



Figure 3: Fleur de prunier (<https://www.visoflora.com/photos-nature/photo-fleur-de-prunier-reine-claude.html>)

Pendant l'été, les bourgeons reproducteurs se développent à l'aisselle des feuilles. Les bourgeons contiennent soit un axe végétatif, soit une fleur primordiale (Kozłowski et Pallardy, 1997). Initialement, toutes les parties reproductives sont enfermées dans les cinq pétales. Les cinq sépales sont fusionnés pour former un calice à la base des 5 pétales. Les fleurs de prune auraient un diamètre entre de 5 à 30 mm, alors que la plupart des pruniers commerciales à un diamètre d'environ 2 à 3 cm, avec des pétales qui s'ouvrent à plat sur la corolle en forme de coupe. Les 20-30 anthères sont attachées avec des pétales au bord de la coupe du calice (Okie et Hancock, 2008). Pour les prunes européennes, il y a généralement 1 à 2 fleurs par bouton floral. L'ovaire de la fleur du prunier ne contient que deux ovules comme le pêcher. Les anthères sont jaune soufre. Elles deviennent déhiscentes après l'ouverture de la fleur. Une fleur de prunier peut sécréter 1 à 1,7 mg de nectar par jour (Pesson et Louveaux, 1984).

2.5. Floraison

La période de floraison de prunier est déterminée par la température pendant l'hiver et le printemps (Okie et Hancock, 2008). Les variétés commencent à fleurir dans l'hémisphère Nord entre Février et Mars (Maire, 1980), selon les conditions environnementales et le

cultivar (Tejero et Zuazo, 2018). Les rendements peuvent être réduits dans les régions chaudes si les heures de refroidissement sont insuffisantes pour briser la période de repos des boutons floraux et foliaires (Okie et Hancock, 2008).

2.6. Pollinisation

Les pruniers européens sont souvent auto-fertiles (Dragan et Dragan, 2010), ces plantes nécessitent généralement de nombreuses abeilles pour en polliniser les fleurs. En pratique, les abeilles sont également utiles pour augmenter la nouaison des pruniers européens, car le pistil s'étend souvent au-dessus des étamines et le pollen est peu déplacé par le vent (Pesson et Louveaux, 1984). Parmi les variétés auto-compatibles on trouve la variété Stanley (Dragan et Dragan, 2010) (Tableau 1).

Tableau 1: Fertilité des cultivars de pruniers européens (Neumüller, 2011)

Autofertile	Partiellement autofertile	Autosterile
Auerbacher, Bühler Frühzwetsche, Čačanska lepotica, Čačanska rodna, Elena, German Prune, Hanita, Harbella, Haroma, Herman, Jojo, Katinka, Nancy Mirabelle, Presenta, Stanley, Tegera, Top 2000, Topfit, Topfive.	Bluefre, Čačanska rana, Čačanska najbolja, Chrudimer, Ersinger, Italian Prune, Jubileum, Ortenauer, Tophit, Voyageur.	Avalon, Excalibur, Green Gage, Lützelsachser, Magna Glauca, Opal, Ruth Gerstetter, President, Valor, Zimmers Früh-zwetsche

2.7. Fruits

Les fruits des prunes européennes à maturation précoce ont tendance à ne pas bien se conserver, tandis que les fruits des cultivars à maturation ultérieure conviennent à un usage multiple. Les prunes sont considérées comme l'un des fruits tempérés les plus délicieux et sont très appréciées des consommateurs pour leur goût et leur arôme (Al-khayri et al., 2018). La proportion de fruits portés par les éperons et les pousses varie selon les variétés et l'âge des arbres (Tejero et Zuazo, 2018). De nombreux facteurs affectent la croissance et le développement des fruits depuis la nouaison jusqu'à leur maturation, principalement les cultivars et les conditions environnementales (température, lumière et nutriments du sol). Selon Diaz-Mula et al. (2008) la croissance et le développement des fruits sur l'arbre variaient selon les types de cultivars. De plus, la période de développement des fruits peut être affectée par la température au début du développement des fruits au printemps, où une température plus élevée pendant cette période a réduit cette période (Lopez et al., 2007; Lopez et De Jong, 2007).

Ces fruits sont ronds à ovales dans différentes tailles et couleurs. La chair est juteuse, molle et surtout collante. Habituellement, les fruits mûrissent plus tôt que ceux des pruneaux (Hartmann et Neumuller, 2009).

3. Description de *Prunus Salicina*

3.1. Arbre

Le prunier japonais présente un arbre de taille moyenne (pouvant atteindre 12 m de hauteur) (Wu et Al., 2003) (Figure 4 et 5). Il est très largement cultivée, tant dans le commerce que dans les jardins, pour ses fruits comestibles. Il prend aussi plusieurs formes (Figure 2).

La productivité des arbres, essentielle au succès des cultivars, est associée à la vigueur des arbres, à la résistance aux maladies, à la rusticité et à d'autres caractéristiques. Un arbre de type étalé est plus facile à gérer dans un verger conventionnel qu'un arbre à croissance verticale (Okie et Hancock, 2008).



Figure 4 : Arbre de *Prunus salicina* Lindl (variété Golden Japan)



Figure 5: Verger de *Prunus salicina* (variété fortune)

3.2. Rameau

Le *P. salicina* ayant branches brun violacé à brun rougeâtre et des rameaux glabres, devenant brun-rouge et luisants. Les bourgeons d'hiver rouge violacé, généralement glabres ou rarement poilus aux marges des écailles, brièvement ovoïdes, souvent fasciculés (Maire, 1980 ; Wu et al., 2003).

3.3. Feuilles

Les feuilles de *P. salicina* sont caduques, simples, alternes et pétiolées. Le pétiole est plus ou moins glanduleux. Le limbe de feuille est ordinairement obovale-oblong, étroitement elliptique, ou rarement oblong-ovale, avec une marge doublement crénelée et souvent mélangé à de simples dents à pointe de glande lorsque jeune, apex aigu à courtement caudé (Maire, 1980 ; Wu et al., 2003).

3.4. Fleur

L'inflorescence est une ombelle contenant généralement une à trois fleurs chacune sur un pédicelle séparé. Les fleurs sont plus petites que les autres *Prunus*, d'un diamètre allant de

5 à 25 mm, avec des pétales s'ouvrant à plat au sommet de la corolle en forme de coupe. Les fleurs sont hermaphrodites, avec un seul pistil et 20 à 30 étamines fermées en cinq pétales et cinq sépales. Le pistil unique dépasse de la corolle, mais la stigmatisation n'est positionnée que légèrement au-delà des anthères à pleine floraison. Les pétales sont généralement blancs et le sépale vert, mais la couleur des anthères est très variable selon les cultivars et peut être blanche, jaune, orange, rouge, brune ou violette (Guerra et Rodrigo, 2015). L'ovaire contient deux ovules crassinucellés et bitegmiques (Guerra et al., 2011).

Le prunier japonais présente 3 ou plus de fleurs par bouton floral (Okie et Hancock, 2008). Les différents stades de développement des boutons floraux pour le prunier sont montrés dans la Figure 6.

3.5. Floraison

En général, la floraison des pruniers japonais se fait entre Mars et Avril (Maire, 1980). La période de floraison est plus courte par rapport aux autres fruits à noyau. Cependant, dans les régions plus chaudes ou aux hivers doux, l'intervalle de temps entre la pleine floraison des cultivars à floraison précoce et tardive est plus prolongé que dans les climats plus froids (Hartmann et Neumuller, 2009).

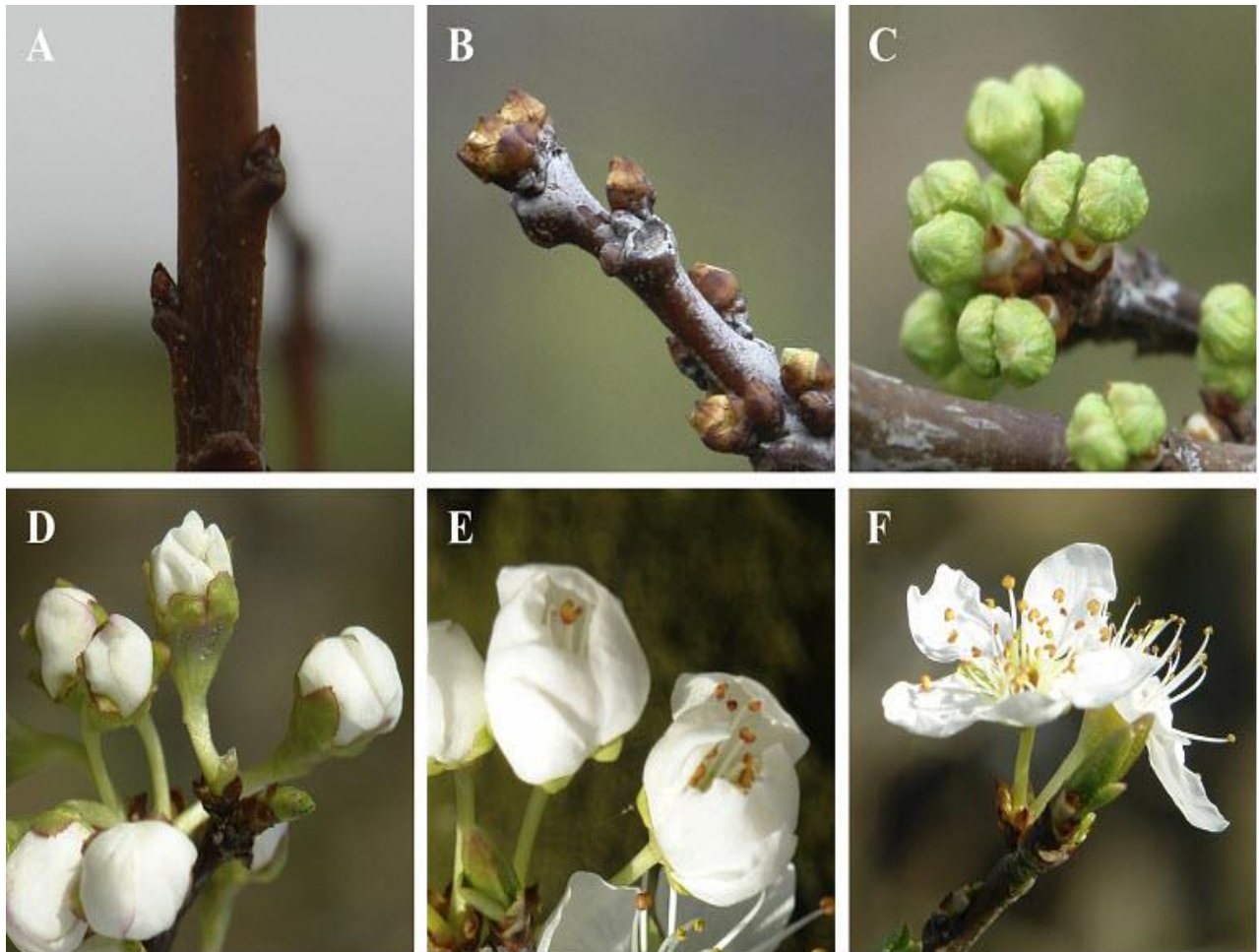


Figure 6: Stades de développement des boutons floraux de prunier japonais selon Baggiolini (1952). (A) Stade A: bourgeon d'hiver, (B) Stade B: gonflement des bourgeons de fleurs, (C) Stade C: bourgeons de fleurs apparents, (D) Stade D: stade ballonnet (E) Stade: les étamines sont apparentes, (F) Stade F: pleine floraison. (Guerra et Rodrigo, 2015).

3.6. Pollinisation

Les pruniers japonais sont la plupart auto-incompatibles (Guerra et Rodrigo, 2015). Différents cultivars des pruniers japonais fleurissant en même temps à proximité sont nécessaires pour une bonne nouaison (Okie et Hancock, 2008). Il y a des variétés auto-compatibles qui fructifient abondamment par autofécondation c'est-à-dire dans les conditions du verger monovariétal par exemple « Methley » (Walali and Skiredj, 2003 ; Guerra et Rodrigo, 2015) (Tableau 2).

Lorsque la variété cultivée est auto-incompatible ou faiblement auto-compatible on installe dans le verger des arbres appartenant à une variété pollinisatrice qui doit être compatible avec

la variété commerciale (Tableau 3). Il est souhaitable qu'il y ait au moins 1 arbre pollinisateur pour 6 à 8 de la variété commerciale (Pesson et Louveaux, 1984).

Tableau 2: Cultivars de prunier japonais décrits comme auto-compatibles ou auto-incompatibles (Guerra et Rodrigo, 2015).

Auto-compatible	Auto-incompatible
Kala Amritsar, Kataru Chak, Reubennel, Rosa Mineira, Karari, Kosyu, Rio, Honey Rosa Red Rosa (=Late Santa Rosa) Casselman, Laettitia, Nubiana, Simka, Zanzi Sun, Santa Rosa*, Rubirosa, Beauty, Climax, Methley, Friar*	América, Amarelinha, Pluma7, Santa Rosa*, Bakemonosumomo, Burmosa, Frontier, Gran Colle, Kasahara, Hatankyou, Laroda, Oishinakate, Sordum, Taiyo, Verna Delicious, Ambra, Angeleno, Black amber, Fortune, Freedom, Golden Globe, Golden Japan, Golden Plum, Green Sun, Howard Sun, Queen Ann, Queen Rosa, Songold, Friar*, Black Diamond, Earliqueen, Sweet August, Champion, Larry Ann, TC Sun, Black Gold, Abundance, Burbank, Combination, Kelsey, Satsuma, Sultan, Wickson, Apex, Duarte, Eldorado, Formosa, Gaviota, Prize, Upright, Kiyoun, Royal Zee

*; Cultivars décrits comme auto-compatibles et auto-incompatibles par différents auteurs.

Tableau 3: Cultivars pollinisateurs recommandés pour certains cultivars de pruniers japonais (Guerra et Rodrigo, 2015)

Cultivar à polliniser	Pollinisateurs
Angeleno	Santa Rosa, Wickson, Larry Ann.
Black Beaut	Ambra, Friar, Late Santa Rosa, Santa Rosa, Wickson.
Black Diamond	Black Gem, Royal Zee, Wickson, Fortune .
Black Gold	Fortune.
Black Star	Black Diamond, Larry Ann.
Black amber	Ambra, Autum Rosa, El Dorado, Friar, Late Santa Rosa, Queen Rosa, Santa Rosa, Simka, Wickson, Black Diamond.
Earliqueen	Ambra, Angeleno.
El Dorado	Black amber, Casselman, Friar.
Fortune	Ambra, Black Diamond.
Friar	Black amber, Roysum, Santa Rosa, Wickson, Burbank , Late Santa Rosa, Methley, Larry Ann, Shiro.
Golden Globe	Angeleno, Fortune.
Red Beaut	Ambra, Durado, Laroda, Late Santa Rosa, Queen Rosa, Santa Rosa, Wickson.
Royal Diamond	Simka/
Golden Japan	Burbank, Duarte, Santa Rosa, Ambra, Friar.
Wickson	Durado, Santa Rosa.

3.7. Fruits

Les fruits de la prune européenne et la prune japonaise sont différentes à plusieurs égards. Ils mûrissent à différents moments de la saison selon les variétés et présentent des formes, des couleurs et des textures différentes (Mohan Jain et Häggman, 2007) (Figure 7).

Les fruits des variétés actuelles sont pour la plupart gros et ronds ou en forme de cœur, mais jamais ovales ou allongés. Ils sont d'apparence attrayante et bien adaptés au transport (Hartmann et Neumuller, 2009).

Un certain nombre de facteurs jouent un rôle clé dans l'acceptation par les consommateurs des prunes, notamment l'aspect attrayant des fruits, leur grande taille, leur fermeté, leur couleur, leur bonne saveur et leur texture (Okie et Hancock, 2008 ; Kwon et al., 2018).



Figure 7: Quelques fruits de différentes variétés de pruniers

4. La multiplication des plantes de prunier

Les porte-greffes sont responsables de l'absorption d'eau et de nutriments, de la résistance aux agents pathogènes transmis par le sol, de la tolérance aux stress environnementaux, etc. (Cummins et Aldwinckle, 1983; Layne, 1987). Bon nombre des attributs agricoles les plus importants des arbres en tant qu'unité biotique, tels que la vigueur, l'initiation des fleurs, l'état nutritionnel, la nouaison, la taille des fruits et la saveur des fruits,

peuvent être considérablement influencés par le porte-greffe (Dozier et al., 1984; Zarrouk et al., 2005; Jiménez et al., 2007).

Il est possible de multiplier végétativement le prunier par semis, greffage, bouturage ou encore par récupération des drageons (Merioua, 2018). Cette dernière méthode de multiplication pose toutefois des problèmes. En effet, les arbres issus de drageons ont tendance à fortement drageonner à leur tour, ce qui entraîne un travail supplémentaire de taille en verger et un épuisement des plantes (Jaenicke et Beniest, 2003). De plus, ce type de multiplication peut favoriser l'expansion des maladies (dues à des virus par exemple), si elles sont présentes sur le pied-mère, et conduire à une variation génétique par accumulation de mutations.

En pépinière, la méthode de multiplication privilégiée est le greffage, afin d'éviter ces risques. Le porte-greffe le plus utilisé est le Myrobolan (*Prunus cerasifera*), car il a une bonne affinité avec toutes les variétés de prunes et ne drageonne pas ou peu. Il s'adapte également bien à tous les types de sol aussi il est vigoureux, ce qui en fait un bon porte-greffe. Les autres porte-greffes du prunier sont essentiellement le franc (semis de *Prunus domestica*), le prunier GF 43, le prunier Mariana GF 8-1, les pruniers Damas et St Julien et le pêcher x amandier GF 677 (Okie et Hancock, 2008 ; Oukabli et Mamouni, 2005 ; Walali et Skiredj, 2003, Wolfe et al., 2019, Jacob, 2010)

5. Origine géographique du prunier

5.1. *Prunus domestica*

La prune européenne ou domestique (*Prunus domestica* L.) est l'un des arbres fruitiers les plus importants sur le plan économique dans les régions tempérées et représente une culture majeure en Europe et en Asie du Sud-Ouest (Ramming et Cociu 1991; Watkins 1995; Zohary et al. 2012). *P. domestica* L. est supposé être une espèce relativement plus jeune et son état sauvage est inconnu (Hartmann et Neumüller 2009). Plus tôt, Luther Burbank a indiqué que les montagnes du Caucase près de la mer Caspienne étaient le lieu d'origine (centre génétique) de *P. domestica* ainsi que de ses ancêtres (Das et al. 2011). Les Romains ont apporté la prune dans la région au nord des montagnes de l'Alp. Selon Ramming et Cociu (1991) et Faust et Surányi (1999), de grands vergers de pruniers ont été établis sur les rives des rivières Drava et Sava entre le 2^{ème} et le 3^{ème} siècle. Depuis lors, la Bosnie est leader dans la production de prunes en Europe, en particulier pour le cultivar «De Bosnia», synonyme de la variété «Pozegaca», qui est actuellement la variété de pruneaux la plus

importante d'Europe. Cette variété a été introduite en Allemagne au 17^{ème} siècle et s'appelait «Zwetsche» ou «Pruneau allemand».

5.2. *Prunus salicina*

Le prunier japonais (*Prunus salicina* Lindl., Anciennement *P. triflora* Roxb.) est originaire du bassin du fleuve Yangtsé en chine (Yoshida, 1987) et s'est répandu dans l'est de la Chine, où il est cultivé depuis plusieurs milliers d'années (Hedrick, 1911). Il a été introduit de Chine au Japon, et domestiqué au Japon depuis 400 ans (Manganaris et al., 2008). Il existe un cultivar nommé «Zhui Li» datant de plus de 2 000 ans. Très tôt, *P. salicina* a été introduit au Japon. Des noyaux ont été découverts datant d'environ 200 ans avant J.-C et la culture des pruniers a été mentionnée vers 500 ans après J.-C (Yoshida 1987). À la fin du XIX^e siècle, le prunier japonais a été introduit aux États-Unis à partir du Japon et en Australie, et récemment dans d'autres régions aux conditions climatiques appropriées. (Das et al., 2011; Karp, 2015 ; Al-khayri et al., 2018).

6. Conditions edapho-climatique de culture du prunier

6.1. Température

Le prunier européen est cultivé dans des climats tempérés, car il nécessite un nombre d'heures de refroidissement relativement élevé (supérieur à 1000 heure), tandis que la plupart des pruniers japonais poussent mieux dans les régions tempérées plus chaudes, car ils nécessitent moins d'heures (entre 500 et 800 heures) de température en dessous de 7, 2 °C (Walali and Skiredj, 2003 ; Okie et Hancock, 2008 ; Fadón et al., 2020), ce qui signifie que les prunes japonaises fleurissent généralement avant les types européens (Torrecillas et al., 2018). Les besoins de refroidissement des pruniers semblent répondre de la même manière aux pêches (Okie et Hancock, 2008).

6.2. Sol

Les macro et micro nutriments du sol jouent un rôle important dans la productivité et la qualité de prunier (Sidhu et Kaundal, 2005 ; Milosevic et al., 2009). Pour assurer une production optimale il a besoin d'un sol dont la structure permet un enracinement efficace, ainsi qu'une bonne circulation de l'eau et de l'air. Il faut donc privilégier les sols assez profonds, aérés, drainants (Walali et Skiredj, 2003 ; Jacob, 2010). Il préfère des sols argilo-limoneux. Les pruniers européens se comportent mieux sur des sols argileux alors que les pruniers japonais s'accommodent sur des sols légers (Walali et Skiredj, 2003).

Pour ce qui est des besoins en éléments nutritifs, un verger a besoin de 20 unités d'azote (unités = kg/ha) dans sa première année, 40 unités dans sa deuxième année, 70 à 80 unités durant les années 3 et 4, pour arriver à 80 à 100 unités dans le cas d'un verger productif. Les besoins en phosphore sont de 30 à 40 unités de P_2O_5 , et ceux en potassium de 100 à 150 unités (Oukabli et Mamouni, 2005). Ces valeurs reflètent des besoins moyens et sont bien sûr à adapter en fonction des caractéristiques chimiques des sols des parcelles de chaque agriculteur, et des rendements visés. Le mode de fertilisation dépend par ailleurs du mode d'irrigation adopté.

6.3. Eau

Le prunier doit avoir un apport conséquent en eau de la floraison à la chute des feuilles, notamment de mai à octobre. Pendant cette période, un arbre a besoin de 25 à 40 L d'eau par jour. La quantité d'eau à apporter croît progressivement de mai (25 L) à juillet (40 L), puis elle diminue à l'approche de la maturité des fruits fin août au début septembre (30 L), pour permettre l'augmentation de leur concentration en sucre (Oukabli et Mamouni, 2005). Les déficits hydriques pendant les premiers stades de développement des arbres et des cultures, imposant un stress plus sévère au mi - et à la fin de saison (Tejero et Zuazo, 2018).

7. Utilisation et voies de valorisation des prunes

Les fruits de prunes et de pruneaux sont utilisés frais, séchés ou en conserve. Les fruits de *P. salicina* sont presque exclusivement utilisés pour la consommation fraîche, et les fruits de *P. domestica* en plus pour la transformation (Hartmann et Neumüller, 2009; Choudhary et Mehta, 2010). Les principaux aliments transformés à base de prunes (Figure 8) comprennent des confitures, des fruits confits, des fruits surgelés, des produits de gelée et des boissons alcoolisées (Milošević, 2010, Choudhary et Mehta, 2010). Concernant les graines de prune, elles contiennent des quantités importantes d'huile (environ 30%) (Anwar et al., 2014), contenant divers composés bioactifs (Savic et al., 2020). Grâce à cette composition chimique, l'huile de graines de prune peut être utilisée dans les produits alimentaires, mais elle est également considérée comme une excellente base pour les produits cosmétiques pour les peaux sèches et mures. Elle est facilement étalée sur la peau sans traces grasses et peut aider la peau endommagée par les brûlures (Kiralan et al., 2018 ; Savic et al., 2020). En plus, les feuilles du prunier peuvent être utilisées comme source de fourrage pour l'alimentation du bétail (Temel et Pehlivan, 2015).

8. Production du prunier dans le monde

Au cours des 30 dernières années, la production mondiale des prunes et la superficie récoltée ont considérablement augmenté de 6.319.982 tonnes sur 1.658.699 ha en 1994 à 12.608.678 tonnes sur 2.649.039 ha en 2018 (Al-Khayri et al., 2018, FAOSTAT 2018). Aussi bien la production des prunes que la superficie a presque doublées pour cette période.

Parmi les continents, le plus grand producteur est l'Asie (8.184.840 tonnes), suivie de l'Europe (3.013.138 tonnes), de l'Amérique (903.399 tonnes), de l'Afrique (487.769 tonnes) et de la région géographique de l'Océanie (19.532 tonnes) (FAOSTAT 2018). Concernant les pays, on note que les dix principaux pays producteurs des prunes, par ordre décroissant, sont la Chine, la Roumanie, la Serbie, les États-Unis, l'Iran, la Turquie, l'Inde, le Chili, le Maroc et l'Ukraine (Tableau 4). En 2018, seule la Chine a produit 6.801.187 tonnes, tandis que les neuf autres pays, la production totale était de 3.135.150 tonnes (FAOSTAT, 2018).

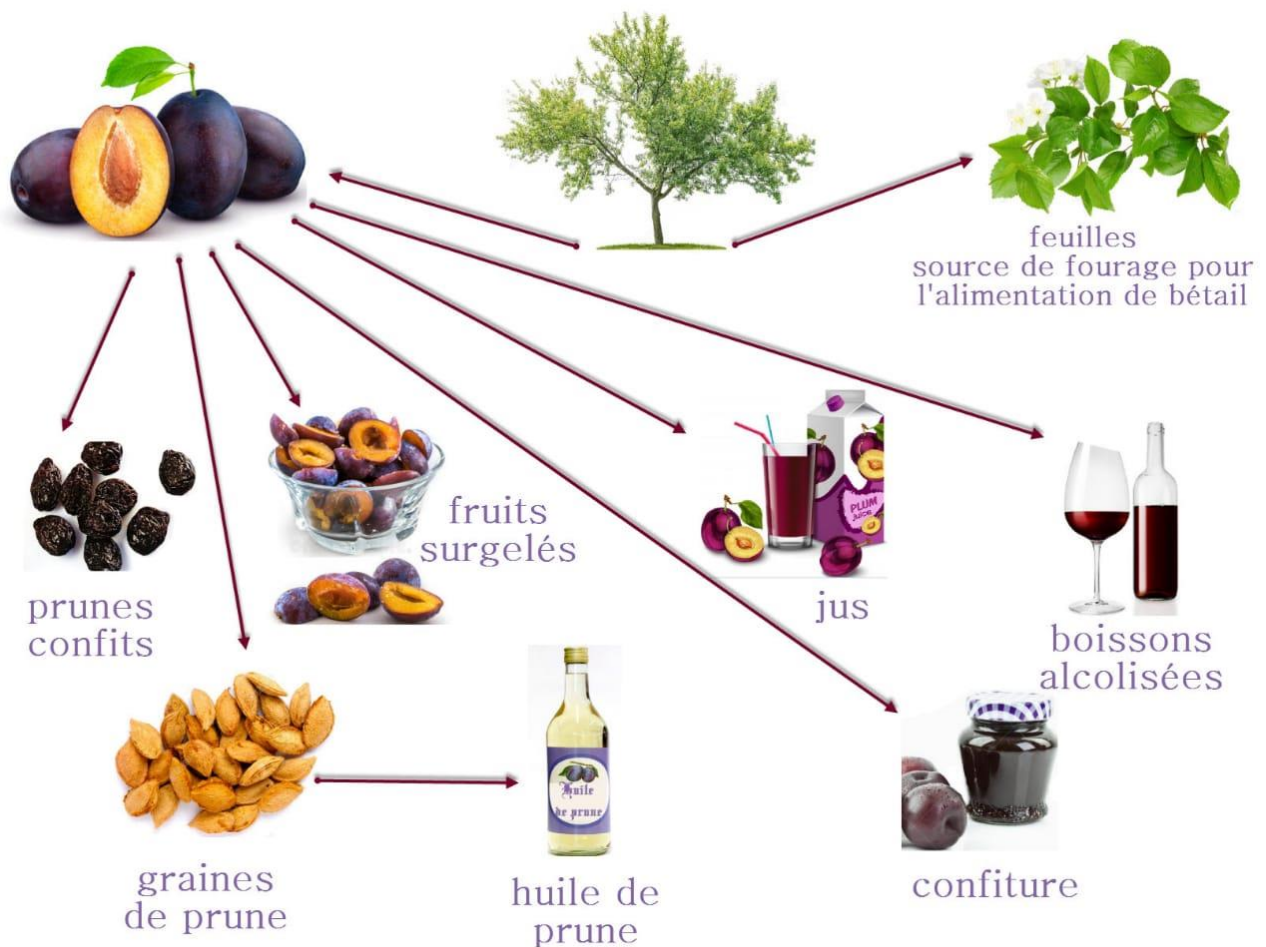


Figure 8: Schéma illustrant les différentes utilisations et voies de valorisation du prunier.

Tableau 4: Principaux pays producteurs de la prune (FAOSTAT, 2018)

Pays	Production (t)
Chine	6801187
Roumanie	842132
Serbie	430199
Etats-Unis d'Amérique	368206
Iran	313103
Turquie	296878
Inde	251389
Chili	229951
Maroc	205222
Ukraine	198070

Au Maroc, la culture du prunier a connu un développement rapide durant ces dernières années pour passer de 8491ha en 2012 à 15451 ha en 2018, soit un accroissement moyen annuel de 1160 ha (FAOSTAT, 2018) (Figure 9). Cette augmentation est due aux efforts effectués dans le cadre du Plan Maroc Vert mis en place par le Ministère de l’Agriculture et de la Pêche Maritime. En terme de production, le prunier vient en deuxième place dans le secteur des rosacées fruitières après le pommier (Figure 10) avec une production de 205.222 tonnes en 2018 (MAPM ; FAO, 2018). En plus, le prunier de type japonais est plus cultivé que le type européen (Walali et Skiredj, 2003).

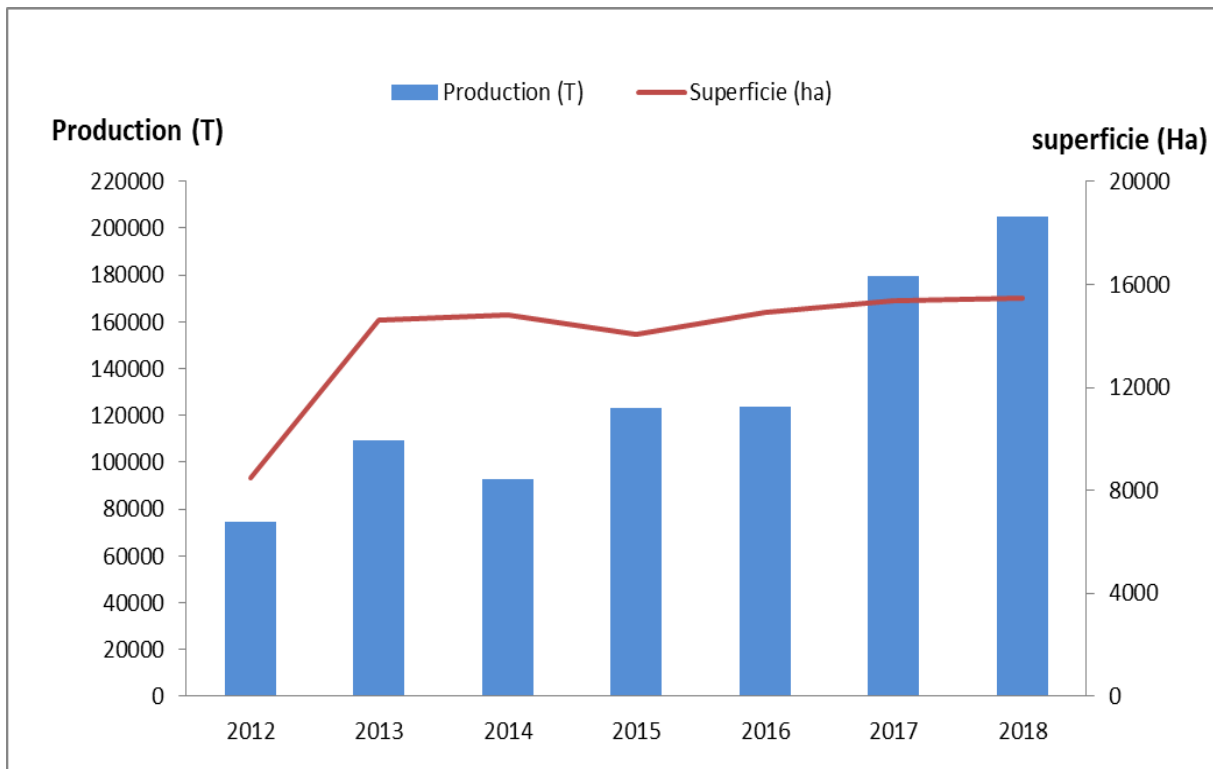


Figure 9: Evolution de la superficie et de la production du prunier au Maroc.
(FAO, 2018)

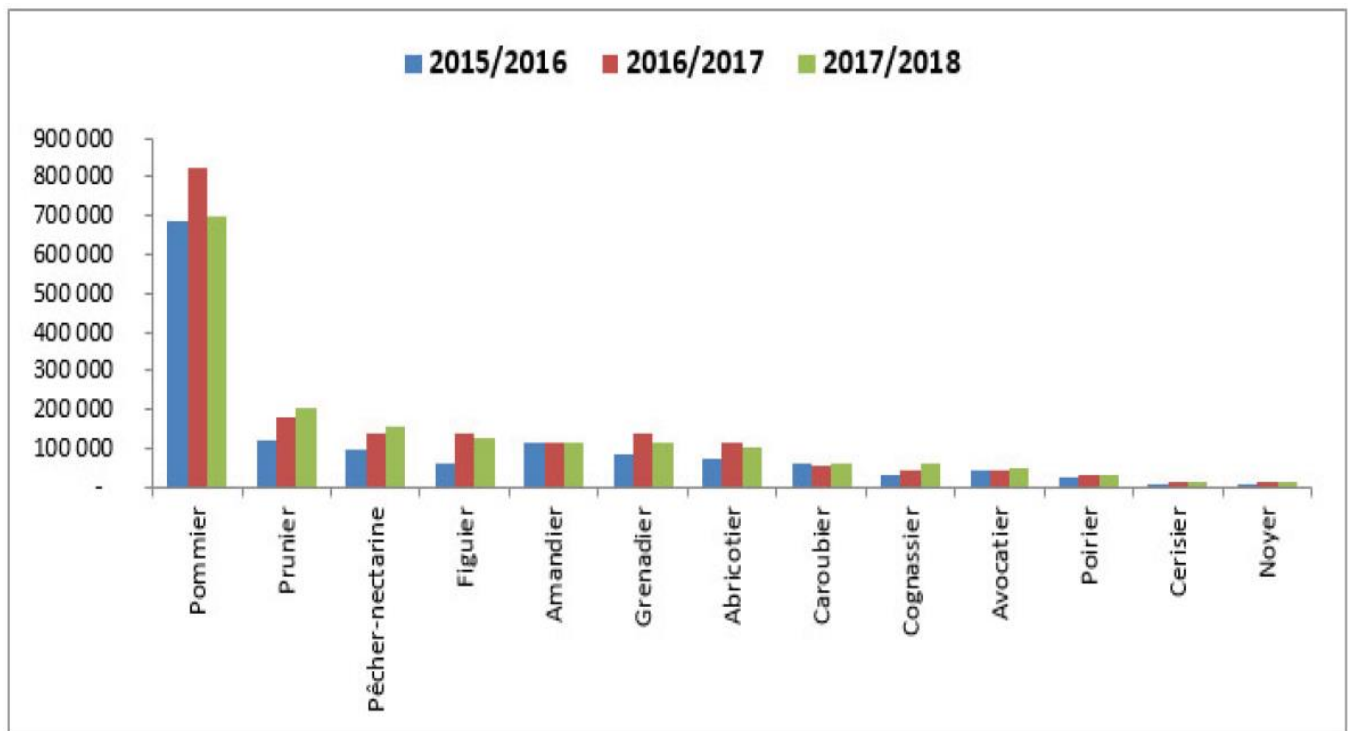


Figure 10: Evolution de la production (en t) des principales plantations d'horticole au Maroc
(MAPMDREF)

9. Valeurs nutritionnelles

Les fruits constituent une composante importante de l'alimentation humaine et jouent un rôle vital dans la nutrition humaine en fournissant les facteurs de croissance nécessaires et essentiels au maintien d'une santé normale (sucres élevés, acides organiques, minéraux et vitamines), ainsi que des composants fonctionnels tel que les fibres alimentaires et les métabolites secondaires avec des effets bénéfiques pour la santé tel que les composés phénoliques (Kader, 2011 ; Potter, 2012). Parmi ces aliments fonctionnels figurent les pruneaux et les prunes qui contiennent une quantité considérable de nutriments (Pennington, 2002) (Tableau 5). La prune est une source riche de minéraux, de riboflavine et de vitamines et contribue à la nutrition humaine en raison de sa richesse en fibres et en antioxydants (Kim et al. 2003a ; Kumar et al., 2018). Elle a une teneur élevée en acides organiques, tel que l'acide néochlorogénique et chlorogénique, qui contribuent à leurs propriétés antioxydantes (Heo et al. 2007). Ils sont reconnus par l'USDA (2017) comme le fruit le plus élevé en teneur en ORAC (capacité d'absorption radicale d'oxygène) (5770 et 949 unités ORAC pour 100 grammes pour les pruneaux et les prunes, respectivement), suivi des raisins secs et des myrtilles. De plus, les prunes peuvent contenir 2 à 15 fois plus de composés phénoliques et jusqu'à 26 fois l'activité antioxydante des pêches ou des nectarines. Il est également démontré que les prunes ont une capacité antioxydante totale 4,4 fois plus élevée que les pommes, bien que les pommes soient l'un des fruits les plus consommés dans l'alimentation humaine (Wang et al., 1996; Byrne et al., 2008).

D'autres part, les prunes ont des saccharides qui affectent positivement la santé humaine et comme source d'énergie pour le métabolisme (Stacewicz-Sapuntzakis et al. 2001). Les saccharides présents dans les prunes comprennent notamment les mono et disaccharides libres (glucose, fructose et saccharose) et de sucre polyol, pour la plupart le sorbitol, ainsi que des quantités importantes de solides solubles (Milošević, 2013; Milošević et Milošević, 2012; Rato et al., 2008).

De même, les prunes ont été décrites comme des aliments aux propriétés bénéfiques pour la santé (Igwe et Charlton, 2016). Les pruneaux se sont révélés pharmacologiquement actifs comme antioxydants, anticancéreux, anxiolytiques, laxatifs doux et antihyperlipédimiques (Jabeen et Aslam, 2011). En effet, les prunes ont des effets bénéfiques pour la santé sur les facteurs de risque de maladies cardiovasculaires (Noratto et al., 2015). Des études ont également été menées sur l'effet laxatif communément connu des prunes, qui a été attribué à sa teneur élevée en fibres (Attaluri et al., 2011). Concernant la propriété

antibactérienne des prunes, Yaqeen et al. (2013) ont observé que lorsqu'ils ont été testées sur cinq bactéries gram-positives différentes, les extraits à l'éthanol de pruneaux présentaient une propriété antibactérienne. En plus, la capacité anti-allergique de la prune a été démontrée par Karasawa et al. (2012), qui ont mené une étude avec des compléments alimentaires à base d'extrait de pruneau et une injection d'allergène d'acariens pendant 3 semaines. Avec la supplémentation en extrait de pruneau, le nombre d'événements d'éternuements, les taux d'immunoglobulines E totaux et spécifiques aux allergènes étaient significativement plus bas.

Tableau 5: Composition chimique de prunes par 100g de matière fraîche. (USDA, 2018)

Éléments nutritifs	Valeur nutritive pour 100g
Eau	87,23 g
Valeur énergétique	46 Kcal
Carbohydrates	11,42 g
Protéines	0,7 g
Matière grasse totale	0,28 g
Fibre	1,4 g
Vitamine C	9,5 mg
Vitamine B-6	0,029 mg
Vitamine A	17 µg
Vitamine E	0,26 mg
Vitamine K	6,4 µg
Riboflavine	0,026 mg
Beta-carotène	190 µg
Calcium	6 mg
Fer	0,17 mg
Magnesium	7 mg
Phosphore	16 mg
Potassium	157 mg
Zinc	0,1 mg
Cuivre	0,057 mg
Manganèse	0,052 mg

10. Etat phytosanitaire du prunier

Le prunier et la prune sont attaqués par plusieurs ennemis, tel que les virus, les insectes, les champignons et les bactéries (Walali and Skiredj, 2003 ; Oukabli et Mamouni, 2005). Parmi ces ennemis on cite les plus nocifs ;



Figure 11: Taches sur les fruits et les feuilles du prunier causé par la Sharka.
(www.sharka.agroscope.ch)

- La sharka (Plum pox virus (PPV) en anglais) est la plus dangereuse virose des pruniers. Elle engendre des taches sur les feuilles et les fruits (Figure 11), parfois aussi sur les noyaux, et rend les fruits immangeables (Hartmann et Neumüller, 2009 ; Šafářová et al., 2013). Il s'agit d'un parasite qui induit une maladie incurable aux arbres du genre *Prunus* qui constitue une grave menace pour la production de fruits à noyaux. Cependant, la sharka ne provoque pas la mort des arbres et n'affecte pas la santé humaine. Ce virus est transmis par différents pucerons, qui piquent des arbres sains après avoir piqué des arbres contaminés ou par greffage de végétaux contaminés.

En cas de présence du virus, la lutte directe et curative n'est pas possible contre la sharka. Les plantes atteintes doivent être détruites (y compris le système racinaire) pour éviter l'expansion de la maladie. Dans les vergers à risque (par exemple les vergers constitués à partir de plants importés ou ceux où la sharka a été détectée les années précédentes), il est donc nécessaire d'effectuer chaque année un contrôle rigoureux des symptômes foliaires du

début de l'été jusqu'à la chute des feuilles. L'observation des symptômes est plus facile de juin à août et de préférence par temps couvert.

- La moniliose est une maladie fongique des arbres fruitiers provoquée par différentes espèces de champignons du genre *Monilinia*, elle est fréquente et redoutable chez les Prunus. En plus des dégâts qu'elle cause sur la production (pourriture sur fruits) elle endommage les bouquets floraux et crée des chancres sur bois (dessèchement de branches) (Ogawa, 1995; Petróczy, 2009). Les bouquets floraux et les rameaux infectés sèchent. Les fruits brunis et momifiés se couvrent de sporulations brunâtres (*M. fructigena*) ou grises (*M. laxa*, *M. fructicola*). Pour lutter contre la moniliose des fruits, il est recommandé de faire un traitement dès l'hiver, à base de cuivre. Un traitement fongicide à base du Ziram ou de Thirame en préventif est aussi nécessaire (Oukabli et Mamouni, 2005).

- La rouille du prunier est provoquée par le champignon *Tranzschelia pruni spinosa*. Elle peut causer des dégâts importants sur la production des fruits. En juillet et août, de petites taches jaunâtres apparaissent sur la face supérieure. Son cycle s'étend généralement de fin avril à mi-juillet environ. des feuilles, qui jaunissent et chutent prématurément. Il hiverne sous forme mycélienne dans les rhizomes de l'anémone de Caen (*Anemone coronaria*) et de l'anémone des bois à fleurs jaunes (*A. ranunculoides*). Sur les variétés de prunier sensibles un premier traitement entre mi- et fin juin et un deuxième entre mi- et fin juillet, doivent être entrepris à l'aide de dithianon, de trifloxystrobine ou de difénoconazol (Linder et al., 2018) .

- Le pou de San José est un insecte (*Quadraspidiotus perniciosus*) perçant et suceur sur l'écorce des arbres qui peut être dévastateur si les populations établissent une colonie. Après l'éclosion, la femelle sonde l'écorce et aspire l'eau et les glucides de l'arbre. Environ une semaine après la fixation à l'écorce, un revêtement cireux se développe et la calamine devient difficile à tuer avec des insecticides (Sarkhosh et al., 2018). Le pou de San José apparaît comme des taches cireuses grisâtres surélevées sur l'écorce des arbres. La méthode de contrôle la plus efficace consiste à appliquer un traitement d'huile horticoles lorsque les arbres sont en dormance (Oukabli et Mamouni, 2005 ; Sarkhosh et al., 2018).

Il existe d'autres ravageurs qui provoquent des dégâts comme les pucerons, la cécidie, le capnode, les scolytes et les acraniens (Oukabli et Mamouni, 2005).

II. Ressources et diversité génétique du prunier

1. Ressources génétiques du prunier

Il y a un désaccord sur le nombre de cultivars de prunier ; Mišić (2006) a déclaré qu'environ 2500 cultivars sont connus, tandis que Blazek (2007) a indiqué qu'il existe plus de 6 000 cultivars. Cependant, le nombre de pruniers commerciaux cultivés est assez limité (Al-Khayri et al., 2018). Les premiers efforts de sélection des cultivars de *P. salicina* ont été concentrés en Californie et dans le sud des États-Unis. Par ailleurs, en Californie, environ 200 cultivars de prunier japonais sont en production commerciale (Okie et Ramming 1999). Concernant le prunier européen, Czar est le premier cultivar de prune de *P. domestica* obtenu par hybridation contrôlée, développé par Thomas Rivers en Angleterre à l'aide de cultivars Prince Engelbert et Rivers Early Pacific, en tant que composantes parentales en 1843 (Al-khayri et al., 2018).

L'objectif principal des sélectionneurs de prunes européennes est la résistance au froid, la taille modeste des arbres, l'auto-fertilité, la productivité régulière, l'excellente qualité interne et externe des fruits, la capacité de stockage, la résistance au virus Plum pox (PPV) et, récemment, la tolérance aux changements climatiques et sols pauvres (Butac et al., 2013 ; Milošević et al. 2016 ; Glišić et al., 2017 ; Kwon et al., 2018). Les problèmes qui compromettent la production de prunes japonaises sont la sensibilité aux gelées printanières, la rusticité hivernale insuffisante et les adaptations limitées du sol. En général, les critères de sélection sont compatibles dans la sélection de prunes japonaise et européennes. L'hybridation est toujours très populaire dans les programmes de sélection de pruniers (Al-Khayri et al., 2018). En plus, L'hybridation entre *Prunus domestica* et *Prunus salicina* donne souvent de mauvais résultats (okie et hancock, 2008). Des programmes d'hybridation du prunier pour donner naissance à de nouvelles variétés ont été réalisés par plusieurs instituts, parmi lesquels il y a l'Institut de Recherche sur les Fruits en Serbie, l'Institut de Recherche pour la Culture des Fruits en Roumanie, l'Université de Hohenheim en Allemagne, l'Institut National de Recherche Agronomique de bordeaux en France, l'Université de Bologne en Italie, l'Institut de recherche sur l'horticulture et la viticulture dans le nord du Caucase en Russie, l'Institut national des sciences des arbres fruitiers (NIFTS) au Japon, l'Université d'agriculture et de foresterie du Fujian en chine, la Station d'expérimentation agricole de New York, l'université de Californie.....(Okie et Hancock, 2008 ; Al-Khayri et al., 2018).

Au Maroc *P. domestica* et *P. salicina* sont les espèces les plus cultivées. Pour élargir la gamme variétale de prunier, des études ont été débutées en 1938 dans le domaine expérimental d'Ain Taoujdate par des expérimentations de 6 porte-greffes et les performances de quelques variétés de table (Santa Rosa, Giant, Golden Japan et Agen) et sur d'autres variétés à double fin en 1963 (Stanley, Burton, French Improved, Impériale, Epineuse et Prune d'Ente 707) (Oukabli et Mamouni, 2005). La production est basée principalement sur des variétés japonaises telles que Golden Japan, Santa Rosa et Methley, sont dite variétés de table précoces, qui ont de faibles besoins en froid (Walali et Skiredj 2003; Oukabli et Mamouni 2005). Cependant, il existe également d'autres variétés de table de prune japonaise tardive dérivées du programme de recherche californien (USA) comme Black Amber, Angeleno et Friar, pouvant supporter une longue période de conservation entre 2 à 4 mois (Oukabli et Mamouni, 2005; Laabassi et Laroussi, 2010). La variété de séchage Stanley est la plus demandée sur le marché national, qu'est de type européen, elle a donné de très bons résultats et a servi de variété de base pour le séchage, ceci après des expérimentations conduites par l'INRA en 1963 (Oukabli et Mamouni, 2005). De plus, Il existe de nombreux cultivars de pruniers locaux comme ; Ch'himi, Zouitni, Meknassi, Fassi, Meless et Zerhouni (Walali et Skiredj, 2003; Oukabli et Mamouni, 2005). Ces cultivars locaux appartenant à *P. domestica*, y compris de très vieux cultivars d'origine inconnue (Mahhou et Raquib, 2006). Malgré l'importance du prunier sur le plan génétique, agronomique et économique au Maroc, Le matériel végétal reste relativement peu étudié.

2. Diversité génétique du prunier

Le prunier a fait l'objet de plusieurs études qui concernent la compréhension de la diversité génétique. Au cours de ces dernières années, divers travaux ont été menés sur les deux espèces pour étudier leur diversité génétique, leur structure et leurs relations génétiques grâce à l'utilisation de marqueurs morphologiques, biochimiques et moléculaires.

2.1. Caractérisation morphologique

La caractérisation morphologique consiste à décrire les variétés sur la base des paramètres morphologiques des différents organes qui sont souvent à déterminisme génétique complexe et résultent de l'action de plusieurs traits (Iezzoni et Pritt, 1991). Plusieurs travaux se sont intéressés à la caractérisation morphologique des cultivars de prunier. Les résultats obtenus ont permis d'obtenir une grande diversité au sein du prunier.

En Tunisie, l'étude des paramètres morphologiques des fruits, des feuilles et des graines ainsi que la croissance de l'arbre de 13 cultivars locaux a montré une grande diversité phénotypique des cultivars locaux qui est indépendante de leur origine géographique (Ben Tamarzizt et al., 2012). De même, une autre étude des traits morpho-pomologiques de cultivars locaux et introduits a révélé une diversité génétique considérable indépendamment de leur origine géographique (Ben Tamarzizt et al., 2009).

En Iran, une étude de 31 traits morpho-pomologique réalisée chez 18 cultivars de prunier japonais a révélé des différences significatives entre les cultivars étudiés. En plus, ces résultats ont montré que ce sont les cultivars 'Black Star', 'Morittini', 'Shiro', 'Simka', 'No.16', 'Friar' et 'Angeleno', qui sont les plus appropriés et recommandés pour la culture en Iran (Pirkhezri et al., 2014). De même, une autre étude réalisée sur 100 génotypes locaux en Iran à l'aide de 32 caractères agro-morphologiques, a montré que les variables liés aux dimensions des feuilles, la forme des fruits, la densité des fruits, la couleur des fruits et la fermeté de la chair des fruits sont les paramètres les plus discriminants (Khadivi-Khub et Barazandeh, 2015).

De même, en Espagne la caractérisation morphologique réalisée à l'aide de 33 caractères qualitatifs des feuilles et des fruits chez 24 accessions de prunier européen collectées dans différentes régions d'Espagne, a permis de différencier les accessions par leur profil phénotypique (Gharbi et al., 2014).

En Inde, l'étude de la diversité morphologique et pomologique de 15 variétés de prunier greffées sur des porte-greffes de semis a révélé des variations dans les caractères morphologiques et pomologiques étudiés (Kumar et al., 2018).

En chine, sur la base de l'évaluation de 32 traits morphologiques et agronomiques de 405 accessions des ressources de prunier chinois et d'hybrides (*Prunus salicina* Lindl.). Les résultats ont montré une diversité phénotypique importante des pruniers chinois. La diversité de la forme des feuilles et des fruits, la couleur de la peau et de la chair des fruits se sont comportées de manière plus variée en fonction des données de type de caractère des traits morphologiques et agronomiques (Xiang-he et al., 2011).

Au Pakistan, les résultats de la caractérisation morpho-physiologique de seize génotypes de *P. domestica* ont montré que les génotypes de prunier diffèrent dans leurs caractéristiques morpho-physiologiques (Nisar et al., 2015a).

En République de Corée, les caractéristiques phénotypiques de 63 variétés de *P. salicina* ont été étudiées pendant trois ans. Les résultats atteints ont montré une diversité importante entre les variétés étudiées, ainsi des coefficients de corrélation les plus significatifs entre les paramètres de temps de maturation et de taille des fruits (Kwon et al., 2018).

En Serbie, la croissance des arbres, le poids des fruits et le statut minéral des feuilles de dix cultivars de *P. domestica* greffés sur des porte-greffes de prunier autochtone «Belošljiva» ont été étudiés dans la cinquième et sixième année. Les cultivars de prunier analysés présentent des différences significatives dans la croissance des arbres, le poids des fruits, la productivité et la teneur en feuilles des principaux nutriments. Les résultats ont indiqué que la croissance des arbres, le poids des fruits et la productivité dépendent considérablement du cultivar (Milošević et al., 2013).

En Italie, des techniques d'analyse d'images ont été appliquées pour étudier la variabilité des endocarpes de 23 cultivars de *Prunus domestica*. Les images numériques ont été acquises et analysées pour mesurer les caractéristiques des endocarpes morpho-colorimétriques. Les résultats obtenus à partir de l'analyse confirment la diversité phénotypique extrême et plus largement biologique de *P. domestica* (Sarigu et al., 2017). Toujours en Italie, l'étude de la diversité morphologique présente dans une collection de 29 variétés traditionnelles de *P. domestica* au sud de l'Italie ont montré une diversité phénotypique très importante (Manco et al., 2019).

2.2. Caractérisation biochimique

Dans la littérature, plusieurs chercheurs ont rapporté la diversité de plusieurs paramètres biochimiques du prunier.

En Allemagne, l'étude de 49 composés phénoliques extraits de l'écorce des fruits de 28 variétés du *P. domestica* et des espèces apparentées a révélé que le contenu phénolique total des cultivars varie entre 0,4 et 29,9 mg / g de poids frais en fonction des cultivars et que se sont les anthocyanes et les acides hydroxycinnamiques qui contribuaient le plus à la séparation des variétés (Treutter et al., 2012). Toujours en Allemagne, une autre étude des composés phénoliques des fruits de 33 cultivars de *P. salicina* et *P. domestica* par HPLC-MS a montré la présence de 41 composés phénoliques avec comme principaux composés : les acides chlorogéniques et les proanthocyanidines. De même, la composition de ces paramètres phénoliques a montré une grande diversité entre les cultivars (Jaiswal et al., 2013).

De même, en République tchèque Rop et al. (2009) ont montré une grande variabilité des valeurs nutritionnelles et de l'activité antioxydante entre les cultivars locaux et étrangers de *P. domestica*. Ainsi, les cultivars locaux présentent une activité antioxydante plus élevée et des teneurs plus élevées en substances phénoliques, pectines et minéraux.

Au Pakistan, l'étude de la diversité de composition nutritionnelle des fruits, des anthocyanines, des phénoliques et de la capacité antioxydante de seize génotypes de *P. domestica* a été faite. Les résultats ont montré des différences significatives entre les génotypes pour leur composition nutritionnelle, leurs anthocyanes, leurs phénoliques et leur activité antioxydante des fruits. La diversité présente dans la qualité des fruits peut être exploitée pour l'amélioration des cultivars existants (Nisar et al., 2015b).

Dans le même but, Au Canada la détermination de la variation des composés phénoliques et de la capacité antioxydante totale de dix-neuf génotypes de prunier européen et un prunier japonais a montré que la capacité antioxydante totale varie de 105 à 424 mg d'équivalents d'acide ascorbique (AAE) / 100 g de poids frais tandis que la teneur totale en phénols varie de 86 à 413 mg d'équivalents d'acide gallique (GAE) / 100 g de poids frais, avec une forte corrélation entre les deux paramètres (Rupasinghe et al., 2006).

En Pologne, les analyses des propriétés physico-chimiques et activité antioxydante ont été effectuées sur trois cultivars de *P. domestica*: «Węgierka Zwykła», «Bluefre» et «Elena». Le cultivar «Bluefre» a été présenté une activité antioxydante beaucoup plus élevée que les cultivars «Węgierka Zwykła» et «Elena», tandis que la valeur la plus élevée de matières sèches et du total des solides solubles a été trouvée pour «Węgierka Zwykła» (Walkowiak-Tomczak et al., 2008). Une étude a été faite par Konarska (2015) sur la détermination des teneurs en phénols et en flavonoïdes de trois cultivars de *P. domestica*. Le résultat a indiqué que la plus grande valeur de composés phénoliques et de flavonoïdes a été trouvée dans les fruits «President», tandis que le «Sweet Common Prune» est caractérisé par la valeur la plus faible.

En Espagne, la caractérisation qualitative de six cultivars de *P. salicina*, à savoir 'Black Amber', 'Suplumeleven', 'Fortune', 'Larry Ann', 'Suplumsix' et 'Songold » a montré que les fruits des pruniers étudiés ont une teneur moyenne en sucre de 15% (entre 12,3 et 17,8%), des fibres alimentaires 1,2% (de 0,84 à 1,50%) et une valeur énergétique moyenne de 255 kJ 100 g⁻¹ de matière fraîche (de 183 à 331 kJ 100 g⁻¹), tandis que «Black Amber» présente la plus forte teneur en phénols et en anthocyanes et la plus grande activité antioxydante totale. Par

contre les cultivars de *P. salicina* sont relativement pauvres en matière de composés volatiles (Lozano et al., 2009).

Aux Etats-Unis, l'analyse de total phénolique, des flavonoïdes et de l'activité antioxydante de six cultivars de *P. domestica* a montré que le contenu phénolique total de divers cultivars est compris entre de 174 à 375(GAE) mg / 100 g de poids frais. Les concentrations totales de flavonoïdes varient de 118 à 237 mg d'équivalents catéchines (CE) / 100 g de poids frais. Les capacités antioxydantes totales exprimées en capacité antioxydante équivalente en vitamine C (VCEAC) varient de 266 à 559 mg / 100 g (Kim et al., 2003a).

En Bulgarie, la composition chimique des fruits frais de 8 cultivars de *P. domestica* a été étudiée au cours de la période 2015-2016. Le résultat obtenu a montré que le cultivar «Stanley» présente les meilleurs indicateurs chimiques et technologiques des fruits frais dans les conditions de la région de Dryanovo, suivi de cultivars «Tegera» (Dimkova et al., 2018). Dans un autre travail qu'a été faite par Bozhkova (2014), la détermination de la composition chimique et les caractéristiques sensorielles des fruits de 12 cultivars de *P. domestica* ont montré que les fruits de «Jojo», «Topking», «Topfive» et «Mirabelle de Nancy» ont un solide soluble total supérieur à 20 °Brix. La teneur en sucre la plus élevée a été trouvée chez les fruits de «Jojo». Les fruits de «Pacifique» ont la plus forte teneur en acides titrables (1,28%) par rapport aux autres cultivars. La teneur en vitamine C la plus élevée (11,92 mg / 100 g) a été trouvée chez les fruits de cultivar «Stanley».

Pour le Russie, l'étude de la composition biochimique des fruits de 260 cultivars de *P. domestica* cultivés dans la station expérimentale de Volgograd de la région de Volgograd. Les analyses descriptives ont révélé une variabilité des paramètres étudiés entre les cultivars (Grushin et Sidnin, 2017).

Dans une autre étude en Serbie, l'étude des composés volatiles des fruits, des feuilles, des noyaux de la variété Stanley de *P. domestica*, ainsi que les huiles extraites des noyaux ont été déterminées. Les composés volatils de prune sont caractérisés par le benzaldéhyde. L'huile de noyau de la prune est riche en acide oléique. L'activité antioxydante d'huile de noyau de la prune est (30,7% RSA) (Veličković et al., 2016).

En Norvège, l'étude de la composition phénolique de six cultivars de *P. domestica*, a révélé que l'acide phénolique le plus important dans les cultivars est l'acide néochlorogénique, ce composé varie considérablement en quantité entre les cultivars (Slimestad et al., 2009).

En Slovénie, l'analyse des anthocyanes et l'évolution de la couleur des fruits ont été étudiées pendant le mûrissement des fruits de *P. domestica* des quatre cultivars ; 'Jojo', 'Valor', 'Cacanska rodna' et 'Cacanska najbolja'. Les résultats obtenus ont montré que Les anthocyanes totaux sont faiblement corrélés avec les paramètres de couleur. Les coefficients de corrélation entre les anthocyanes individuelles et les paramètres de couleur sont dépendants des cultivars (Usenik et al., 2009).

2.3. Caractérisation moléculaire

De même, plusieurs travaux ont été réalisés pour étudier la diversité génétique du prunier sur la base des marqueurs moléculaires. En effet, ces marqueurs moléculaires se sont révélés être des outils précieux pour évaluer les ressources génétiques des espèces végétales. Les marqueurs les plus utilisées dans ces études sont : RFLP, RAPD, SSR, AFLP, SCAR, ISSR, SNP... (Çalışkan, 2012 ; Kishor et al., 2020).

2.3.1. Marqueurs RFLP

L'étude des relations génétiques entre les cultivars de prunier tunisiens (22 cultivars locaux (*P. salicina*), 7 cultivars introduits (*P. salicina*) et 8 accessions spontanées (*P. insititia*)) par l'analyse de l'ADN mitochondrial et l'ADN chloroplastique a été effectuée en utilisant des marqueurs RFLP. Deux régions d'ADNmt (nad 1 b / c et nad 4 1/2) et une région d'ADNcp (trnL-trnF) ont été amplifiées et digérées en utilisant des enzymes de restriction. Les résultats ont montré que les accessions sont distribuées indépendamment de leur origine géographique, et que les cultivars introduits et locaux semblaient être étroitement liés. D'après cette étude l'analyse PCR-RFLP semble être une approche utile pour détecter et identifier la variation cytoplasmique des pruniers. Ces résultats fournissent également des informations utiles pour la gestion des ressources génétiques et pour établir un programme d'amélioration des ressources génétiques disponibles pour les pruniers (Ben Mustapha et al., 2015).

2.3.2. Marqueur AFLP

L'analyse de 7 génotypes irakiens de *P. domestica* a été effectuée par Ali et al. (2015), à l'aide de marqueurs AFLP. Trois combinaisons d'amorces ont généré un total de 106 bandes et parmi elles 86 sont polymorphes (81,1%). Une diversité génétique relativement faible a été observée en utilisant ces marqueurs. Les valeurs de similitude génétique allant de 0,2464 à 0,5415. En plus, l'utilisation de la méthode d'analyse de regroupement UPGMA basée sur le coefficient de similitude a séparé les cultivars en deux grands groupes génétiques.

Ces résultats suggèrent que les marqueurs AFLP présentent une bonne méthode pour déterminer la parenté génétique entre les génotypes de prune dans la région Duhok de l'Irak.

La caractérisation moléculaire de 14 cultivars de prunier (1 cultivar européen et 13 cultivars japonais) ont été échantillonnés dans la province de Kahramanmaras située dans la région méditerranéenne de la Turquie et ont été étudiés à l'aide de quatre paires de marqueurs AFLP. Les résultats obtenus ont montré un total de 145 bandes et parmi elles 89 (60,85%) sont polymorphes. Les 14 cultivars sont classés en sept groupes principaux par analyse UPGMA et le cultivar européen a été trouvé le plus distinct par rapport aux autres. Ces résultats suggèrent que les marqueurs AFLP présentent une bonne méthode pour déterminer la parenté génétique entre les cultivars de prunier (Ilgin et al., 2009).

2.3.3. Marqueurs RAPD

Ces marqueurs ont été utilisés pour la caractérisation génétique et moléculaire de 17 cultivars (13 cultivars de *P. salicina*, 3 de *P. domestica* et un de *P. cerasifera*) cultivés en Brésil en exploitant 12 amorces. Ces dernières ont produit 187 bandes polymorphes avec un pourcentage de polymorphisme de 93,97%. Le marqueur OPA20 est le plus polymorphe, produisant 26 bandes polymorphes. Le haut degré de polymorphisme détecté par les marqueurs RAPD dans le prunier confirme l'utilité de ces marqueurs dans l'estimation de la variabilité génétique entre les cultivars de prunier (Bianchi et al., 2003).

En Tunisie, Ben Tamarzizt et al. (2009) ont étudié les relations génétiques entre 27 cultivars de prunier locaux et introduits récoltés dans quatre régions du nord de la Tunisie, à l'aide de dix marqueurs RAPD. Les résultats obtenus ont montré 143 marqueurs RAPD avec un pourcentage de bandes polymorphes de 97,28 %. Les marqueurs RAPD révélés permettent de distinguer tous les cultivars considérés et de résoudre le problème d'homonymie. L'analyse hiérarchique et en composantes principales ont montré une diversité génétique non structurée entre les cultivars. En fait, la distribution des cultivars se produit indépendamment de leur origine géographique. La distribution globale de la variation moléculaire suggère qu'environ 94,7 9% de la variance totale sont attribuables à la composante de variance intra-groupe. Les 5,21% restants de la variation sont structurés hiérarchiquement entre les composants en raison de la différenciation entre les groupes.

2.3.4. Marqueur SSR

L'étude de la diversité génétique de 120 accessions de *P. domestica* collectées dans les régions du Nord-est de l'Espagne en plus de 46 cultivars utilisés comme référence réalisée par

Urrestarazu et al. (2018) à l'aide de 11 amorces SSR a montré que le nombre d'allèles par locus détectés avec ces marqueurs varie de 8 à 39, avec une moyenne de 23,4 allèles. Les résultats obtenus ont montré que la structure génétique des pruniers européens du nord-est de l'Espagne s'est révélée complexe et conditionnée par un facteur de proximité géographique.

Au Brésil, Klabunde et al. (2014) ont réalisé une étude sur 47 cultivars de prunier japonais à l'aide de huit amorces microsatellites (SSR). Ces amorces SSR ont amplifié 104 allèles (8 à 21 allèles par locus avec une moyenne de 13). Le contenu informatif de polymorphisme (PIC) varie de 0,680 à 0,886 (moyenne de 0,803) et l'hétérozigosité (H_o) observée varie de 0,529 à 0,915 (moyenne 0,770). La probabilité d'identité (I) de chaque locus variait de 0,019 à 0,113 (moyenne 0,054). La probabilité d'identité combinée est de $2,66 \times 10^{11}$ et le pouvoir d'exclusion des huit locus sont de 99,99%. 57 des 104 allèles ont montré une fréquence inférieure à 0,05. Ces basses fréquences alléliques ont contribué à la distinction des cultivars de prunier.

Dans une autre étude, la diversité génétique dans une collection ex situ de 29 variétés traditionnelles de *P. domestica* de la région de Campanie (sud de l'Italie) a été réalisée par l'utilisation des caractères morphologiques et de 10 amorces SSR. Le résultat a indiqué que les variétés traditionnelles de prunes du sud de l'Italie comportent un niveau considérable de diversité à la fois au niveau morphologique et moléculaire, un résultat qui doit être pris en compte lors de la planification des stratégies de conservation ou de l'utilisation de la biodiversité (Manco et al., 2019).

Neuf amorces SSR ont été utilisées par Sehic et al. (2015) pour comparer la diversité génétique et la structure génétique des 68 accessions de pruniers nordiques traditionnelles (*P. domestica*) et huit cultivars de référence internationaux. Les résultats obtenus ont montré un nombre élevé d'allèles amplifié entre les accessions, ainsi que la dispersion substantielle de ces échantillons indiquent un niveau élevé de diversité. Une évaluation approfondie des génotypes de pruniers uniques identifiés dans cette étude révélera leur future valeur de reproduction.

En Tunisie, la caractérisation phénotypique et génétique de 23 accessions tunisiennes de prunier (*Prunus* spp.) a été effectuée à l'aide de 8 marqueurs SSR, trois marqueurs S-allèle et 12 caractères phénotypiques. Les résultats obtenus ont indiqué que les traits moléculaires et phénotypiques sont significativement corrélés et ont révélé un outil puissant pour dessiner des

clés taxonomiques et génotypiques. Ces résultats dans ce travail sont d'une grande importance pour la gestion locale du matériel génétique du prunier tunisien (Baraket et al, 2019).

2.3.5. Marqueurs ISSR

Cet outil moléculaire a été exploité dans l'analyse de la diversité génétique chez le prunier dans plusieurs pays. En chine, Wu et al. (2018) ont utilisé 14 amorces ISSR pour analyser 33 variétés de pruniers (*P. salicina* Lindl) cultivées dans deux régions (Gutian et Yongtai) de la province du Fujian afin de déterminer leur diversité génétique et leur structure. Au total, 146 bandes ont été générées, dont 130 polymorphes. Le pourcentage moyen de bandes polymorphes est de 89,04%, la valeur de l'indice de Shannon est de 0,38 et la valeur de l'indice de la diversité génétique de Nei est de 0,24, ce qui suggère que les 33 variétés sont génétiquement diverses. Les 33 variétés ont été classées en quatre groupes selon la méthode de Neighbor-Joining. L'analyse de la structure de la population (population Gutian et population Yongtai) a révélé qu'ils ont des échanges génétiques fréquents entre les sous-populations fermées ; ainsi, la variation génétique se produit principalement au sein de la population.

En Tunisie, l'étude de la diversité génétique et les relations entre 54 accessions appartenant à *P. salicina* et *P. domestica* et les types sauvages (*P. insititia* et *P. spinosa*) a été réalisée à l'aide de 15 combinaisons entre cinq amorces RAPD et trois amorces ISSR. Ces combinaisons d'amorces ont produit 226 bandes, dont 234 polymorphes (96,58%). La moyenne de pouvoir résolutif des valeurs des amorces (9,04) et de contenu informatif de polymorphisme (0,82), ont démontré l'efficacité des amorces utilisées dans cette étude. D'autre part, les distances génétiques entre les accessions variaient de 0,18 à 0,79 avec une moyenne de 0,24, suggérant un niveau élevé de diversité génétique aux niveaux intra et interspécifique. L'analyse hiérarchique et l'analyse en composante principale ont permis de discriminer efficacement les cultivars et d'illustrer les relations et la divergence entre les types de prunes spontanées, cultivées localement et introduites. Ces résultats ont montré une variation continue qui se produit indépendamment du statut de l'espèce et de l'origine géographique des prunes. Ils sont utiles pour planifier des programmes de sélection impliquant l'analyse de la diversité, l'identification des cultivars ou la sélection assistée par marqueurs (Ben Tamarzizt et al., 2015).

2.3.6. Marqueur SNP

L'étude des relations génétiques entre 405 accessions de pruniers cultivées (*P. domestica*, *P. spinosa*, *P. cerasifera*, *P. brigantina*, *P. insititia*) dans différentes régions géographiques au monde a été effectuée à l'aide des marqueurs SNP par Zhebentyayeva et al. (2019). Les résultats obtenus ont montré une diversité génétique relativement faible dans tous les pruniers cultivés, ce qui suggère qu'ils ont été largement consanguines et / ou dérivées d'un nombre limité de fondateurs. Les résultats s'accordent avec *P. domestica*, qui est originaire d'un hybride interspécifique d'un *P. cerasifera* diploïde et d'un *P. spinosa* tétraploïde qui lui-même peut avoir été un hybride interspécifique de *P. cerasifera* et d'une espèce de prune eurasiennne inconnue.

D'autre part, l'étude des variations dans le mode de maturation au niveau génomique chez six cultivars de prunier japonais («Santa Rosa», «July Santa Rosa», «Late Santa Rosa», «Sweet Miriam», «Roysum» et «Casselman») a été réalisée à l'aide des variations génomiques (SNP, INDELS et CNV). Les résultats ont déterminé 12 gènes candidats potentiels avec une variation significative du nombre de copies (CNV), associés à des composants de perception de l'éthylène et de transduction du signal. De plus, l'arbre phylogénétique du maximum de vraisemblance (ML) a montré que deux gènes du sorbitol déshydrogénase se regroupent en un clade distinct, indiquant que ce groupe naturel est bien défini et présente une identité de séquence élevée parmi ses membres. En revanche, le groupe éthylène, qui comprend ACO1, ACS1, ACS4, ACS5, CTR1, ERF1, ERF3 et les gènes des récepteurs d'éthylène, a été largement distribué et regroupé en 10 groupes différents. Ainsi, les protéines ACS, ERF et sorbitol déshydrogénase partagent potentiellement un ancêtre commun pour différents génomes végétaux, tandis que le taux d'expansion peut être lié à l'expansion ancestrale plutôt qu'aux événements spécifiques à l'espèce. Sur la base de la distribution des clades, nous suggérons que la diversification de la fonction des gènes pour la voie de maturation s'est produite avant l'extension de la famille (Marti et al. 2018).

CHAPITRE II:

**ETUDE DE LA DIVERSITE
PHENOTYPIQUE DU PRUNIER**

I. Introduction

Le prunier occupe une place importante dans l'économie du pays. Parmi les espèces cultivées du prunier dans le royaume on trouve *Prunus domestica* L. et *Prunus salicina* Lindl. Les cultivars locaux de prunier marocain se caractérisent par de nombreux écotypes qui se distinguent principalement par les caractéristiques du fruit (couleur de l'épiderme, taille, saveur...). En effet, la dimension, le poids des fruits, la couleur et la fermeté sont les principaux critères déterminant la qualité des fruits et l'acceptabilité des consommateurs (Kwon et al., 2018 ; Hartmann et Neumüller, 2009).

La diversité génétique fournit des assurances contre les futures conditions défavorables : d'une part, les besoins changent constamment et, d'autre part, les ressources génétiques peuvent fournir des caractéristiques utiles, comme des adaptations à des conditions climatiques aléatoires ou des résistances à de nouvelles maladies.

A cet égard, La caractérisation phénotypique des différentes ressources génétiques constituent une étape préliminaire et indispensable pour l'évaluation de l'état de la diversité génétique dans le temps (Karimi et al., 2008). Ces marqueurs ont déjà été appliqués avec succès dans l'étude de la diversité morphologique du prunier (Khadivi-Khub et Barazandeh, 2015 ; Kwon et al., 2018 ; Manco et al., 2019). Pour étudier la variabilité morpho-pomologique, nous avons analysé la variabilité de trente cultivars du prunier prospectés dans plusieurs régions du Maroc. Trente caractères relatifs à la feuille (morphologique) et au fruit (pomologique), figurant dans le descripteur du prunier, ont été considérés pour évaluer la variabilité de ces trente cultivars.

Dans le présent chapitre, nous avons jugé utile d'analyser des caractères morphologiques pour la caractérisation phénotypique des différents cultivars du prunier au Maroc, et d'autre part, d'identifier les caractères les plus discriminants et fournir des informations qui peuvent être utiles pour déterminer le nombre exact de cultivars de prunier au Maroc. De plus, identifier les cultivars qui sont très intéressants de point de vue économique afin de développer la culture de prunier et augmenter la production nationale.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de 30 cultivars de prunier collectés dans différentes régions du Maroc (Figure 12). Il s'agit de 16 cultivars locaux et 14 variétés introduites. La localisation géographique et les caractéristiques écologiques de sites prospectés sont rapportées dans le tableau 6. La collecte du matériel a été effectuée entre juin et septembre 2016. 10 arbres adultes bien entretenus ont été choisis au hasard pour chaque site et pour chaque arbre, 10 feuilles fraîches et 10 prunes mûres sont prélevés au hasard de différent coté.

2. Caractères morphologiques et pomologiques

Pour l'étude de la diversité phénotypique du prunier au Maroc, deux catégories de caractères morpho-pomologiques ont été étudiées. Il s'agit de caractères quantitatifs et de caractères qualitatifs. Pour cette raison, nous nous sommes intéressés à 30 caractères morphologiques choisis selon les descripteurs du prunier à savoir les caractères liées aux feuilles (la longueur et la largeur des feuilles, la longueur du pétiole...), ceux des fruits (le poids, la taille, la longueur, la largeur, la couleur...) et ceux des noyaux (le poids, longueur, largeur, épaisseur, texture des surfaces latérales...) (IPGRI-CEC 1984; UPOV 2002 ; 2010) (Tableau 7) . Les mesures effectuées sur 10 feuilles et 10 fruits par arbre, sont réalisées par l'utilisation de pied à coulisse numérique ou par balance de précision. En plus, la description est faite par l'œil nu.

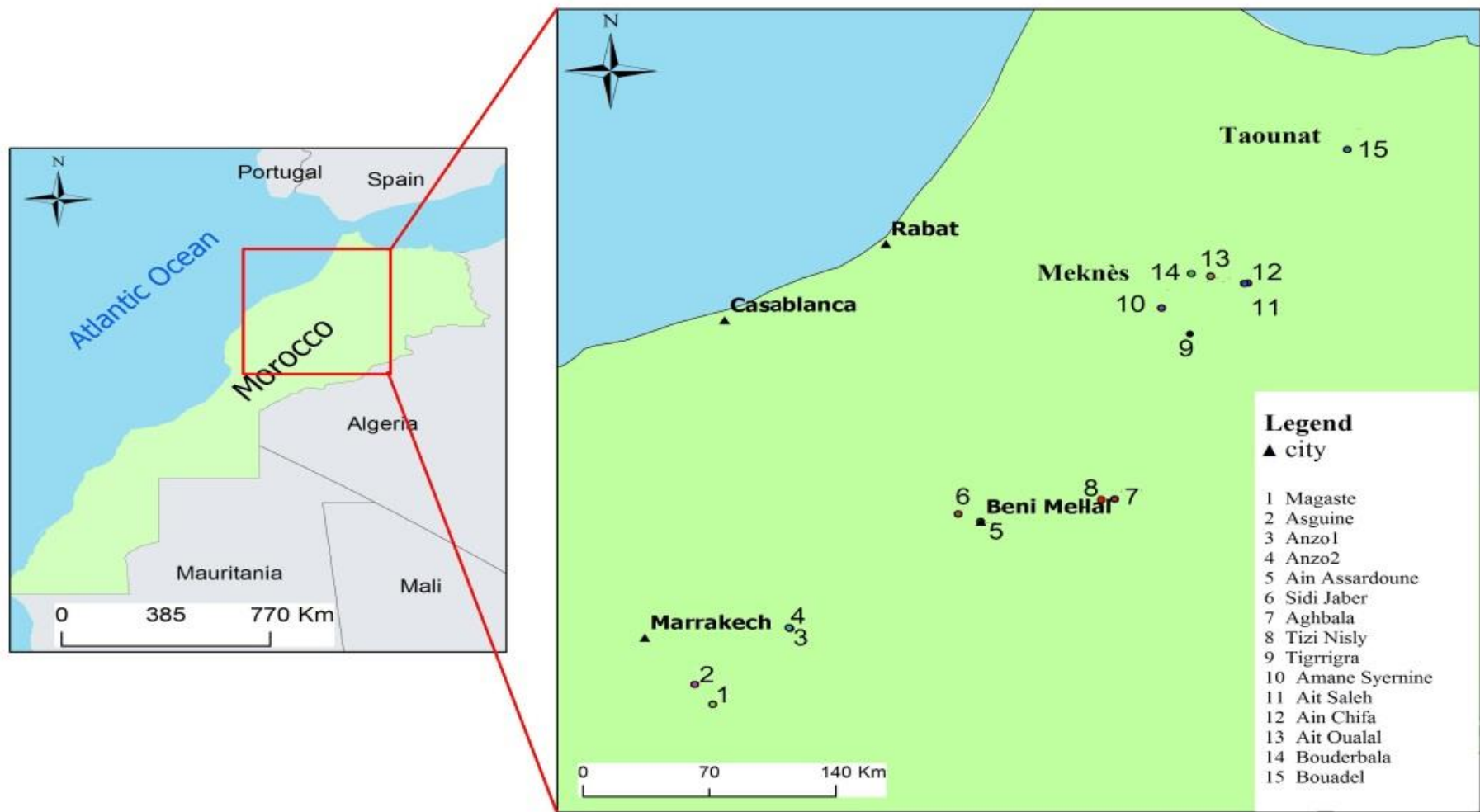


Figure 12: Répartition géographique des sites de collection des cultivars étudiés.

Tableau 6: Caractéristiques géographiques et écologiques des sites de collection des cultivars étudiés.

Cultivar	Code	Origine de cultivar	Localité	Altitude (m)	Latitude Nord	Longitude Ouest	Pluviométrie (mm/an)
Santa Rosa1	SAR1	Variété introduite	Ait Ouallal (40 Km E de Meknes)	742	33°48	5°11	546
Santa Rosa2	SAR2	Variété introduite	Bouadel (15 Km E de Taounate)	593	34°34	4°30	612
Santa Rosa3	SAR3	Variété introduite	Ain Assardoun (2 km S de BeniMellal)	582	32°19	6°19	493
Santa Rosa4	SAR4	Variété introduite	Magaste (46 Km S de Marrakech)	1384	31°14	7°40	474
Santa Rosa5	SAR5	Variété introduite	Asguine (40 km S de Marrakech)	1011	31°21	7°45	361
Black Amber1	BLA1	Variété introduite	Sidi Jaber (10 Km O de BeniMellal)	452	32°22	6°26	483
Black Amber2	BLA2	Variété introduite	Bouderbala (24 Km E de Meknes)	729	33°49	5°17	583
Black Amber3	BLA3	Variété introduite	Tigrigra (8 Km O de Azrou)	1111	33°24	5°17	779
Fortune1	FOR1	Variété introduite	Sidi Jaber (10 Km O de BeniMellal)	452	32°22	6°26	483
Fortune2	FOR2	Variété introduite	Bouderbala (24 Km E de Meknes)	729	33°49	5°17	583
Stanley 1	STA1	Variété introduite	Tizi Nisly (96 Km E de BeniMellal)	1414	32°26	5°44	591
Stanley2	STA2	Variété introduite	Aghbala (111 Km E de BeniMellal)	1555	32°28	5°39	563
Royal Diamond	ROD	Variété introduite	Ain Chifa (7 Km N de Imouzzar-kandar)	1120	33°46	5°1	564
Angeleno	ANG	Variété introduite	Ain Chifa (7 Km N de Imouzzar-kandar)	1120	33°46	5°1	564
Hamra 1	HAM1	Cultivar local	Anzo1 (19 km S of de Attaouia)	746	30°41	7°16'	434
Hamra 2	HAM2	Cultivar local	Anzo2(17 km S of de Attaouia)	739	31°41'	7°17	434
Hamra 3	HAM3	Cultivar local	AitSaleh (5 km N de Imouzzar-kandar)	1095	33°46'	5°0	575
Dlahi	DLH	Cultivar local	Bouadel (15 Km E de Taounate)	593	34°34	4°30	612
Tabarkakacht	TAB	Cultivar local	AinAssardoun (2 km S de BeniMellal)	582	32°19	6°19	493
Lbyade 1	LBY1	Cultivar local	Bouadel (15 Km E de Taounate)	593	34°34	4°30	612
Lbyade 2	LBY2	Cultivar local	Asguine (40 km S de Marrakech)	1011	31°21	7°45	361
Lbide	LBI	Cultivar local	Magaste (46 Km S de Marrakech)	1384	31°14	7°40	474
Lbayda	LBA	Cultivar local	Ainassardoun (2 km S de benimellal)	582	32°19	6°19	493
Safra1	SAF1	Cultivar local	Sidi Jaber (10 Km O de Benimellal)	452	32°22	6°26	483
Safra2	SAF2	Cultivar local	Ain Chifa (7 Km N de Imouzzar-kandar)	1120	33°46	5°1	564
Safra3	SAF3	Cultivar local	Ait Saleh (5 km N de Imouzzar-kandar)	1095	33°46'	5°0	575
Safra4	SAF4	Cultivar local	Amane Syernine (30 Km S de El-Hajab)	967	33°37	5°25	723
Safrankika	SARK	Cultivar local	Amane Syernine (30 Km S de El-Hajab)	967	33°37	5°25	723
Lmozari	LMO	Cultivar local	Ait Ouallal (40 Km E de Meknes)	742	33°48	5°11	546
Frijo	FRI	Cultivar local	Ait Saleh (5 km N de Imouzzar-kandar)	1095	33°46'	5°0	575

Tableau 7: Traits morphologiques et pomologiques étudiés.

Caractères des feuilles	Label	Caractères des fruits	Label	Caractères des noyaux	Label
Longueur des feuilles (cm)	LF	Poids de prune (g)	PP	Forme générale en vue latérale de noyau	FGLN
Largeur des feuilles (cm)	LAF	Taille de prune	TP	Forme en vue de face de noyau	FFN
Rapport longueur/largeur	RL/LA	Longueur de la prune (cm)	LP	Développement de la carène de noyau	DCN
Longueur du pétiole (cm)	LPE	Largeur de la prune (cm)	LAP	Texture des surfaces latérales de noyau	TSLN
Forme du limbe	FL	Forme en vue latérale de prune	FLP	Troncature à la base de noyau	TBN
Forme de la base du limbe	FBL	Symétrie en vue de face	SF	Forme du pôle de noyau	FPN
Angle du sommet de limbe	ASL	Profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire de prune	PSEP	Poids de noyau (g)	PN
Incisions de bord du limbe	IBL	Profondeur de la cavité pédonculaire de prune	PCP	longueur de noyau (cm)	LN
		Couleur de fond de l'épiderme (sans la prune)	CFE	Largeur de noyau (cm)	LAN
		Couleur de la chair	CC	Epaisseur de noyau (cm)	EN
		Fermeté de la chair	FC		
		Degré d'adhérence du noyau à la chair	DAN C		

3. Analyses statistiques

Les valeurs numériques obtenues à partir de différents caractères mesurés ont fait l'objet de plusieurs analyses statistiques. Dans une première phase une analyse descriptive a été soumise. Les moyennes et les coefficients de variation ont été déterminés pour l'ensemble des traits par le logiciel Excel. Par la suite la variation des caractères a été étudiée par une analyse de variance (ANOVA) qui consiste à comparer les moyennes observées sur les échantillons afin de conclure à des différences significatives. De même, le test de corrélation de Pearson a été effectué pour mesurer l'association entre deux variables continues. Ces analyses ont été réalisées par le programme SAS Microsoft Windows 8.0 (SAS, 1999).

Par la suite, la relation entre les différents cultivars étudiés a été décrite par l'analyse en composantes principales (ACP) qui permet de convertir les variables de départ correspondant aux données phénotypiques en variables synthétiques ou en axes. Ces paramètres qui

contribuent le mieux à la description de la variabilité et d'obtenir une représentation graphique de la répartition des individus selon leurs ressemblances. Cette analyse a été réalisée par le logiciel XLSTAT version 2017. En plus, une classification hiérarchique ascendante, selon la méthode d'agrégation d'UPGMA a été également réalisée sur la matrice des valeurs moyennes des caractères mesurés à l'aide du logiciel statistique Statistica StatSoft (1997).

III. Résultats

1. Analyse des caractères pris séparément.

Cette analyse nous permet de déterminer les paramètres qui discriminent le mieux les cultivars du prunier considérés. L'analyse de la variance, les valeurs moyennes globales et le coefficient de variation pour tous les paramètres mesurés sont présentés dans les tableaux 8, 9 et 10, respectivement. Des niveaux de variation élevés ont été trouvés entre les 30 accessions étudiées. L'analyse de la variance à un seul facteur de classification (effet cultivar) a révélée des différences significatives pour la plupart des caractères étudiés. Cela indique l'existence d'une variabilité phénotypique très importante entre les différents cultivars étudiés de ces deux espèces.

1.1. Traits morphologiques des feuilles.

Concernant les paramètres relatifs aux feuilles, les résultats de l'analyse de la variance ont révélé des différences très hautement significatives pour l'ensemble des caractères étudiés (Figure 13, Tableau 8). On note que la longueur et la largeur des feuilles, le rapport longueur sur largeur des feuilles, la longueur du pétiole, l'angle du sommet et les incisions du bord de limbe montre une variation supérieure à 10%. Alors que la forme du limbe et de sa base indique une variation inférieure à 10%. En effet, la longueur des feuilles varie de 4,93 cm pour le cultivar Safra rkika à 9,34 cm pour le cultivar Black amber2, avec une moyenne générale de 7,12 cm. En général, ce sont les variétés introduites Black amber2, Santa rosa1, Santa rosa2, Santa rosa3, Santa rosa5, Fortune2 et Royal diamond qui se caractérisent par les valeurs les plus élevées. La largeur de feuille oscille entre 2,32 cm (Black amber1) et 3,73 cm (Lbide) avec une moyenne générale de 3,09 cm. La longueur du pétiole des feuilles varie de 1,01 cm (Safra1) à 2,29 (Royal diamond), avec une valeur moyenne de 1,4 cm. On note également que la plupart des limbes de feuilles sont elliptiques (94,5%) avec des bases

pointues (98,2%) et des sommets aigus (91,5%). Ils ont aussi montré une variation des incisions du bord entre crénelées (61,8%) et en dents de scie (38,2%).



Figure 13: Exemple de quelques feuilles des cultivars étudiés.

Tableau 8: Caractères morphologiques des feuilles mesurés chez les 30 cultivars étudiés.

	LF(cm)	LAF(cm)	RL/LA	LPE(cm)	FL	FBL	ASL	IBL
HAM1	6,37±0,78	3,24±0,47	1,98±0,23	1,42±0,24	1,97±0,17	1,10±0,30	1,05±0,22	1,20±0,40
HAM2	6,73±0,58	3,39±0,31	2,00±0,16	1,46±0,26	2,02±0,14	1,01±0,10	1,00±0,00	1,21±0,41
HAM3	6,22±0,90	3,12±0,56	2,02±0,24	1,37±0,26	1,98±0,28	1,23±0,42	1,28±0,60	1,58±0,50
DLH	6,15±0,82	2,92±0,46	2,12±0,22	1,27±0,23	1,99±0,10	1,08±0,27	1,10±0,33	1,90±0,30
TAB	6,43±0,67	3,10±0,38	2,09±0,23	1,41±0,32	1,98±0,14	1,02±0,14	1,02±0,14	1,48±0,50
LBY1	6,51±1,19	2,93±0,54	2,23±0,22	1,05±0,23	2,01±0,17	1,00±0,00	1,04±0,20	1,93±0,26
LBY2	7,71±0,98	3,49±0,51	2,23±0,23	1,28±0,24	2,02±0,13	1,00±0,00	1,15±0,44	1,08±0,28
LBI	7,93±0,75	3,73±0,42	2,14±0,21	1,27±0,20	2,22±0,44	1,03±0,17	1,02±0,14	1,56±0,50
LBA	6,76±0,68	3,05±0,35	2,23±0,21	1,17±0,20	2,00±0,00	1,00±0,00	1,10±0,30	1,53±0,50
SAF1	6,32±0,60	2,78±0,33	2,29±0,25	1,01±0,17	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,70±0,47
SAF2	6,21±0,58	2,95±0,38	2,12±0,20	1,15±0,18	2,14±0,40	1,02±0,14	1,16±0,37	1,18±0,39
SAF3	7,17±0,78	3,21±1,18	2,35±0,37	1,57±0,25	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,98±0,16
SAF4	6,23±0,70	2,76±0,43	2,29±0,38	1,19±0,20	2,00±0,00	1,01±0,10	1,02±0,14	1,52±0,50
SARK	4,93±0,52	2,71±0,34	1,84±0,22	1,17±0,27	1,87±0,35	1,00±0,00	1,03±0,18	1,73±0,45
SAR1	8,03±1,50	3,56±1,11	2,36±0,41	1,80±0,97	2,00±0,00	1,02±0,14	1,01±0,10	1,65±0,48
SAR2	8,32±1,03	3,12±0,49	2,70±0,27	1,54±0,24	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,04±0,20
SAR3	7,96±0,80	2,91±0,29	2,74±0,17	1,38±0,24	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,07±0,25
SAR4	7,12±1,08	2,55±0,49	2,84±0,44	1,33±0,24	2,08±0,33	1,00±0,00	1,00±0,00	1,03±0,18
SAR5	8,11±0,81	2,94±0,40	2,79±0,31	1,36±0,21	2,02±0,14	1,00±0,00	1,04±0,20	1,44±0,50
BLA1	6,36±0,98	2,32±0,33	2,75±0,28	1,28±0,33	2,00±0,00	1,00±0,00	1,08±0,27	1,11±0,31
BLA2	9,34±1,01	3,22±0,30	2,90±0,24	1,31±0,20	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00
BLA3	7,74±0,88	2,64±0,36	2,96±0,36	1,42±0,29	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00
FOR1	7,06±1,20	3,05±0,47	2,33±0,29	1,23±0,38	2,00±0,00	1,05±0,22	1,17±0,49	1,69±0,46
FOR2	8,05±1,16	3,33±0,51	2,44±0,26	1,29±0,34	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,28±0,45
STA1	6,58±0,70	3,59±0,45	1,84±0,13	1,68±0,24	1,49±0,50	1,00±0,00	1,64±0,48	1,00±0,00
STA2	6,71±0,72	3,50±0,38	1,92±0,13	2,14±0,34	1,82±0,39	1,04±0,20	1,60±0,49	1,16±0,37
LMO	7,38±1,18	3,28±0,58	2,28±0,31	1,43±0,33	2,07±0,29	1,00±0,0	1,08±0,27	1,83±0,38
RD	8,57±1,66	3,43±1,20	2,69±0,61	2,29±1,04	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,20±0,40
ANG	7,27±0,79	3,10±0,43	2,34±0,26	1,44±0,25	2,00±0,00	1,00±0,00	1,18±0,44	1,10±0,30
FRI	7,37±1,02	2,80±0,81	2,77±0,58	1,18±0,26	2,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,53±0,50
M	7,12	3,09	2,35	1,4	1,99	1,02	1,09	1,39
CV	13	10,75	14,08	20,1	5,83	4,5	14,63	22,62
F value	12.94***	27.37***	19.60***	16.77***	16.65***	4.62***	22.65***	19.30***

M : moyenne ; CV ; coefficient de variation ; Les valeurs en gras représentent le minimum et le maximum, niveau de signification : ***P <0,001, **P <0,01.

1.2. Caractères relatifs aux fruits.

Les résultats obtenus pour les traits pomologiques ont montré que la plus part des paramètres étudiés présentent des différences hautement significatives entre les cultivars à l'exception de la forme en vue latérale et symétrie en vue de face du fruit témoignant d'une hétérogénéité importante entre les cultivars étudiés (figure 14, Tableau 9).

Le poids de la prune montre une variation entre les cultivars étudiés plus élevée (CV=60,10%). Il varie de 8,17 g pour le cultivar Safra rkika à 102,28 g pour le cultivar Angeleno, avec une moyenne générale de 39,33 g. La taille de la prune montre également une forte variabilité : 2,4% des cultivars étudiés présentent des fruits de très petite taille, 16,4 % avec des petits fruits, 51,2% moyenne, 8,9% grosse et 21,1% très grosse. De même, les résultats obtenus montrent que les cultivars présentent des valeurs de la longueur des fruits qui varie de 2,40 cm (Safra rkika) à 5,33 cm (Fortune2) et de la largeur qui varie de 2,28 cm pour le cultivar Safra rkika à 5,71 cm pour le cultivar Angeleno. D'autre part, on note que la plupart des cultivars ont des fruits de forme arrondie avec un pourcentage de 79,2%, 11,4% de forme elliptique, 5,8% de forme aplatie et 3,6% de forme ovale. Pour la symétrie 95,1% des fruits sont asymétrique (vue de face). On note également que les prunes des différents cultivars présentent une profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire faible pour 53,8% des cultivars, moyenne pour 42,2% des cultivars et forte pour 4%, alors que la profondeur de la cavité pédonculaire de prune est étalée entre faible (16,8%), moyenne (47,1%) et forte (36,1%).

Parmi les critères les plus importants qui attirent l'attention des consommateurs pour accepter les fruits de prunier sont ; la couleur de fond de l'épiderme, la couleur de la chair, le degré d'adhérence du noyau à la chair et la fermeté de la chair des prunes. Ces paramètres montrent une variation supérieure à 18 %. Pour la couleur de fond de l'épiderme, on note que 27,8% des cultivars se sont révélées avec une couleur jaune, 39,7% avec une couleur jaune orangée, 4,5 % avec une couleur violet pourpre et 28% avec une couleur violet foncé. Concernant la couleur de la chair, elle varie entre le jaune (70,8%), le vert jaunâtre (6,8%) et le rouge (22,4%). Pour le degré d'adhérence du noyau à la chair des prunes, 59,6 % des prunes de cultivars étudiés présentent des noyaux adhérents, alors que 28,3% des cultivars ont des noyaux semi-adhérents et 12,1% des noyaux non adhérents. En outre, la fermeté de la chair est un paramètre très important dans les conditions de transport des fruits, il s'étale entre une fermeté moyenne (60,9%), ferme (38,2%) et molle (0,9%).



Figure 14: Exemple du fruit des cultivars étudiés (a ; Santa Rosa, b ; Stanley, c ; Lbayda, d ; Tabarkakacht).

Tableau 9: Les résultats de l'analyse de la variance des caractères pomologiques mesurés chez les 30 cultivars du prunier.

	PP (g)	TP	LP(cm)	LAP(cm)	FLP	SF	PSEP	PCP	CFE	CC	FC	DANC
HAM1	20,83±3,20	4,26±0,97	3,39±0,21	3,25±0,19	3,00±0,00	2,00±0,00	3,00±0,00	5,00±0,00	6,00±0,00	6,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
HAM2	18,40±4,27	3,62±1,01	3,20±0,27	3,12±0,26	3,00±0,00	2,00±0,00	3,00±0,00	5,00±0,00	6,00±0,00	6,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
HAM3	16,29±4,81	3,55±1,11	2,97±0,31	2,97±0,30	3,00±0,00	1,85±0,36	3,00±0,00	3,95±1,01	6,00±0,00	6,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
DLH	15,58±6,00	3,12±1,39	2,96±0,37	2,88±0,42	2,97±0,39	1,85±0,36	3,00±0,00	4,50±0,87	6,00±0,00	6,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
TAB	16,41±5,91	3,46±1,07	2,97±0,35	2,91±0,37	3,15±0,54	2,00±0,00	3,00±0,00	5,00±1,12	6,00±0,00	6,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
LBY1	29,88±10,04	4,82±0,95	3,53±0,34	3,71±0,59	3,00±0,00	1,90±0,30	3,00±0,00	4,94±0,96	4,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
LBY2	32,93±7,53	5,03±0,26	3,63±0,26	3,79±0,31	3,00±0,00	1,95±0,22	3,03±0,26	4,93±0,82	4,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
LBI	55,31±9,98	6,88±1,63	4,52±0,29	4,46±0,29	3,00±0,00	1,95±0,22	3,08±0,39	4,86±0,77	4,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
LBA	33,17±7,51	4,90±0,44	3,59±0,28	3,80±0,30	3,00±0,00	2,00±0,00	3,00±0,00	5,28±0,70	4,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
SAF1	17,38±4,06	3,27±0,87	3,25±1,29	3,02±0,26	3,00±0,00	1,97±0,18	3,00±0,00	4,80±0,61	4,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
SAF2	19,09±8,80	3,64±1,10	3,17±0,47	3,05±0,44	3,00±0,00	1,90±0,30	3,00±0,00	3,60±0,93	4,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
SAF3	41,80±7,34	5,20±0,61	3,99±0,24	4,00±0,33	3,00±0,00	1,95±0,22	3,00±0,00	4,95±0,71	4,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
SAF4	25,65±5,82	4,72±0,70	3,35±0,25	3,45±0,26	3,00±0,00	1,95±0,22	3,00±0,00	4,40±0,92	4,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
SARK	8,17±1,97	1,53±0,90	2,40±0,25	2,28±0,20	2,67±0,48	1,97±0,18	3,00±0,00	3,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	3,67±0,96	3,00±0,00
SAR1	46,90±11,68	6,10±1,46	4,43±0,45	4,24±0,44	3,26±0,97	1,94±0,24	4,94±1,12	6,06±1,22	6,00±0,00	4,00±0,00	7,00±0,00	2,03±0,17
SAR2	29,27±6,80	4,91±0,41	3,68±0,32	3,57±0,35	2,86±0,69	1,90±0,30	3,64±1,00	6,74±0,68	6,00±0,00	4,00±0,00	7,00±0,00	3,00±0,00
SAR3	22,39±5,23	4,52±0,87	3,41±0,30	3,24±0,26	2,66±0,81	2,00±0,00	5,21±1,24	5,69±1,11	6,00±0,00	4,00±0,00	7,00±0,00	3,00±0,00
SAR4	44,32±11,67	5,78±1,23	4,32±0,44	4,12±0,39	3,00±0,85	2,00±0,00	4,76±1,06	6,93±0,37	6,00±0,00	4,00±0,00	7,00±0,00	3,00±0,00
SAR5	36,94±9,01	5,08±0,70	3,95±0,32	3,89±0,38	2,86±0,50	2,00±0,00	4,48±1,05	6,96±0,28	6,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	3,00±0,00
BLA1	43,13±7,23	5,28±0,81	3,92±0,27	4,23±0,26	3,28±0,45	1,88±0,33	4,46±0,89	6,60±0,80	9,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	1,97±0,17
BLA2	67,95±13,24	8,31±1,19	4,49±0,29	4,96±0,55	3,11±0,31	1,98±0,14	4,87±0,49	6,60±0,80	9,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	1,91±0,29
BLA3	47,59±12,67	6,02±1,48	4,01±0,36	4,40±0,39	3,20±0,41	1,94±0,24	4,06±1,09	5,08±1,00	9,00±0,00	4,00±0,00	5,00±0,00	2,00±0,00
FOR1	81,97±16,12	8,85±0,53	5,25±0,36	5,14±0,38	3,07±0,79	1,85±0,36	4,77±0,82	6,45±0,90	6,00±0,00	4,00±0,00	7,00±0,00	1,96±0,20
FOR2	85,15±18,07	8,82±0,71	5,33±0,40	5,21±0,40	2,99±0,69	1,96±0,21	5,66±1,04	6,71±0,76	6,00±0,00	4,00±0,00	7,00±0,00	2,07±0,25
STA1	20,07±3,95	4,08±1,00	4,06±0,29	3,03±0,23	2,54±1,16	2,00±0,00	4,96±0,70	3,00±0,00	9,00±0,00	3,00±0,00	7,00±0,00	1,00±0,00
STA2	26,13±3,51	4,92±0,57	4,56±0,56	3,21±0,14	2,06±0,42	2,00±0,00	4,96±0,64	3,00±0,00	9,00±0,00	3,00±0,00	7,00±0,00	1,00±0,00
LMO	41,32±10,38	5,38±1,06	4,17±0,46	4,03±0,35	3,05±0,36	1,96±0,20	5,06±0,83	6,60±0,81	8,01±0,10	4,00±0,00	7,00±0,00	2,98±0,20
RD	68,22±14,52	8,25±1,26	4,56±0,34	5,00±0,37	3,18±0,39	2,00±0,00	5,04±0,57	5,67±1,43	9,00±0,00	4,00±0,00	7,00±0,00	1,00±0,00
ANG	102,28±23,90	8,88±0,49	4,90±0,45	5,71±0,58	3,94±0,56	2,00±0,00	4,92±0,40	6,67±0,75	9,00±0,00	5,63±0,79	7,00±0,00	2,04±0,20
FRI	65,45±12,45	8,08±1,30	4,35±0,30	4,88±0,31	3,24±0,43	1,97±0,17	4,89±0,46	5,86±1,38	9,00±0,00	6,00±0,00	5,00±0,00	1,99±0,12
M	39,33	5,38	3,88	3,85	3	1,95	3,96	5,29	6,27	4,39	5,69	2,53
CV	60,1	35,64	18,35	21,93	9,9	2,54	24,38	22,76	31,06	20,79	18,33	26,97
F value	305.97***	117.31***	222.58***	19.08***	0,84^{NS}	1,09^{NS}	20.74***	24.57***	16.46***	224.88***	37.72***	17.89***

M : moyenne ; CV ; coefficient de variation ; Les valeurs en gras représentent le minimum et le maximum, niveau de signification : ***P <0,001, NS : Non significative.

1.3. Caractères relatifs aux noyaux.

L'analyse de la variance des caractères liés aux noyaux montre un effet hautement significatif des cultivars pour la plupart des paramètres sauf la forme en vue de face, le développement de la carène, la troncature à la base et l'épaisseur de noyau. Ce résultat montre clairement une hétérogénéité importante entre les cultivars étudiés du prunier (Tableau 10).

Par ailleurs, les caractères liés au noyau montrent une variation importante ($CV > 14\%$), sauf le trait de l'épaisseur de noyau qui présente une valeur de variation faible ($CV = 9,5\%$). Concernant le poids de noyau de la prune, le cultivar Safra1 présente la valeur la plus faible (0,43g) alors que le cultivar Fortune2 (1,66g) montre la valeur la plus élevée, avec une moyenne générale de 0,95 g. La longueur de noyau oscille entre 1,36 cm (Safra rkika) et 2,72 cm (Stanley) avec une moyenne globale de 2,02 cm. Quant à la largeur de noyau, elle varie entre 1 cm pour le cultivar Safra rkika et 1,77cm pour le cultivar Angeleno avec une moyenne générale de 1,4 cm. L'épaisseur de noyau est comprise entre 0,61cm pour le cultivar Safra1 et 0,94cm pour le cultivar Angeleno avec une moyenne globale de 0,77cm. En outre, 84,6% des noyaux de cultivars étudiés sont révélés d'une forme en vue latérale elliptiques, 13% ont une forme elliptique étroite et 2,4% ont une forme arrondie. Les cultivars Stanley1 et Stanley2 ont des noyaux elliptiques étroits. De même, la forme en vue de face de noyau pour la plupart des cultivars est elliptique (85,2%), le reste des cultivars varie entre la forme elliptique étroite (2,3%), elliptique large (2,1%) et cunéiforme (10,4%). Pour le développement de la carène, 56,9% des noyaux des cultivars ont un développement moyen, 34,6% ont un développement fort, alors que 8,5% des cultivars ont un développement faible. La texture des surfaces latérales de noyau pour tous les cultivars se répartit entre noyaux à surface sableuse (31,8%) et noyaux Martelée (68,2%). De plus, la troncature à la base du noyau pour la plupart des cultivars est étroite (82,4%), le reste des cultivars présentent une troncature moyenne pour 16,7 % des cultivars et seulement 0,9% des cultivars présentent une troncature large. D'autre part, on note que la plupart des cultivars présentent un pôle des noyaux pointue (83,1%) alors que 15,8% des cultivars ont un pôle obtus et 1,1% un pôle arrondi.

Tableau 10: Les résultats de l'analyse de la variance des paramètres liés aux noyaux chez les 30 cultivars étudiés.

	PN(g)	LN(cm)	LAN(cm)	EN(cm)	FGLN	FFN	DCN	TSLN	TBN	FPN
HAM1	0,78±0,15	1,80±0,12	1,26±0,09	0,73±0,04	2,00±0,00	2,10±0,44	5,30±0,72	2,00±0,00	3,00±0,00	1,11±0,31
HAM2	0,77±0,18	1,78±0,13	1,26±0,10	0,74±0,06	2,00±0,00	2,04±0,28	5,76±0,98	2,00±0,00	3,00±0,00	1,03±0,17
HAM3	0,74±0,19	1,70±0,12	1,30±0,09	0,84±0,06	2,00±0,00	2,33±0,47	5,00±0,00	1,40±0,00	3,00±0,00	1,28±0,45
DLH	0,72±0,19	1,74±0,15	1,21±0,11	0,75±0,07	1,96±0,24	2,06±0,24	5,06±0,66	1,73±0,45	3,20±0,60	1,31±0,46
TAB	0,56±0,23	1,62±0,17	1,12±0,14	0,70±0,09	2,00±0,00	1,97±0,16	5,05±0,56	2,00±0,00	3,00±0,00	1,05±0,22
LBY1	0,85±0,27	1,93±0,14	1,32±0,14	0,72±0,09	1,93±0,26	2,04±0,49	5,12±0,62	1,52±0,50	3,08±0,49	1,25±0,52
LBY2	0,77±0,21	1,86±0,18	1,34±0,12	0,70±0,04	2,00±0,00	2,57±0,91	5,17±0,56	2,00±0,00	3,37±0,78	1,03±0,18
LBI	1,19±0,25	2,20±0,18	1,58±0,11	0,80±0,04	2,00±0,00	3,38±0,93	5,34±0,81	2,00±0,00	3,92±1,04	1,00±0,00
LBA	0,93±0,20	1,93±0,14	1,42±0,11	0,71±0,04	2,00±0,00	2,46±0,85	6,06±1,00	2,00±0,00	3,02±0,20	1,03±0,17
SAF1	0,43±0,13	1,62±0,14	1,12±0,26	0,61±0,06	1,77±0,43	2,33±0,76	5,00±0,74	1,47±0,51	3,00±0,00	1,00±0,00
SAF2	0,76±0,16	1,93±0,21	1,33±0,12	0,69±0,05	1,96±0,20	3,76±0,66	5,08±0,40	1,96±0,20	3,00±0,00	1,00±0,00
SAF3	0,78±0,18	1,90±0,15	1,25±0,08	0,73±0,04	1,63±0,49	2,65±0,95	4,85±0,53	2,00±0,00	4,40±1,03	1,00±0,00
SAF4	0,68±0,14	1,78±0,17	1,24±0,11	0,65±0,04	1,98±0,14	2,81±0,98	5,02±0,20	1,21±0,41	3,10±0,44	1,02±0,14
SARK	0,46±0,07	1,36±0,16	1,00±0,14	0,68±0,02	1,60±0,56	2,43±0,50	4,40±0,93	1,07±0,25	3,00±0,00	1,77±0,43
SAR1	1,28±0,29	2,33±0,20	1,55±0,13	0,82±0,08	1,90±0,48	2,00±0,00	5,44±0,92	1,00±0,00	3,50±0,87	1,01±0,10
SAR2	0,78±0,18	1,85±0,14	1,25±0,11	0,75±0,05	1,86±0,35	2,00±0,00	5,23±0,65	1,06±0,24	3,87±1,16	1,33±0,61
SAR3	0,88±0,24	1,99±0,19	1,29±0,12	0,78±0,10	2,00±0,00	2,03±0,19	5,00±0,00	1,59±0,50	3,34±0,77	1,24±0,44
SAR4	1,04±0,27	2,06±0,20	1,39±0,13	0,83±0,07	2,00±0,00	2,03±0,18	5,31±0,81	1,12±0,33	3,34±0,76	1,25±0,44
SAR5	0,99±0,22	1,93±0,17	1,37±0,11	0,82±0,07	1,96±0,20	2,00±0,00	5,40±0,81	1,32±0,47	3,52±0,89	1,20±0,40
BLA1	0,76±0,10	1,95±0,16	1,37±0,09	0,74±0,04	1,93±0,26	2,04±0,28	6,32±0,95	1,77±0,42	4,76±0,87	1,00±0,00
BLA2	0,97±0,18	2,21±0,16	1,68±0,14	0,76±0,05	1,99±0,10	1,82±0,39	6,98±0,21	2,00±0,00	3,06±0,35	1,00±0,00
BLA3	0,90±0,17	2,08±0,20	1,64±0,19	0,74±0,06	2,02±0,14	1,90±0,31	6,92±0,40	1,88±0,33	3,24±0,66	1,14±0,35
FOR1	1,31±0,24	2,53±0,16	1,58±0,13	0,82±0,06	1,59±0,50	2,00±0,15	5,83±1,07	1,05±0,23	3,11±0,45	1,00±0,00
FOR2	1,66±0,34	2,52±0,19	1,76±0,15	0,92±0,07	2,00±0,00	2,00±0,00	6,63±0,78	1,01±0,10	3,48±0,86	1,15±0,36
STA1	1,43±0,16	2,53±0,14	1,37±0,07	0,83±0,04	1,01±0,10	2,00±0,00	3,06±0,34	2,00±0,00	3,00±0,00	2,08±0,34
STA2	1,55±0,28	2,72±0,17	1,35±0,26	0,83±0,05	1,00±0,00	2,00±0,00	3,04±0,28	2,00±0,00	3,00±0,00	2,04±0,20
LMO	1,20±0,23	2,31±0,20	1,56±0,12	0,80±0,07	1,91±0,29	1,96±0,53	5,95±1,12	1,98±0,14	3,99±1,19	1,46±0,58
RD	0,99±0,16	2,25±0,23	1,74±0,18	0,78±0,06	2,15±0,36	1,96±0,20	6,88±0,63	2,00±0,00	3,16±0,55	1,00±0,00
ANG	1,27±0,21	2,04±0,19	1,77±0,12	0,94±0,07	2,38±0,49	2,13±0,33	5,83±1,42	2,00±0,00	4,33±1,26	1,00±0,00
FRI	0,93±0,16	2,14±0,26	1,69±0,14	0,79±0,06	2,13±0,33	1,96±0,26	6,69±0,87	2,00±0,00	3,11±0,46	1,00±0,00
M	0,95	2,02	1,4	0,77	1,89	2,23	5,42	1,67	3,36	1,19
CV	31,96	15,31	14,57	9,5	15,12	19,71	17,37	23,41	14,33	24,62
F value	29.62***	12.43***	10.37***	16,91 ^{NS}	1.87**	0,54 ^{NS}	1,22 ^{NS}	4.51***	1,19 ^{NS}	99.06***

M : moyenne ; CV ; coefficient de variation ; Les valeurs en gras représentent le minimum et le maximum, niveau de signification : ***P <0,001, **P <0,01, NS : Non significative.

2. Matrice des corrélations.

Les coefficients de corrélation entre les 30 paramètres étudiés sont présentés dans le tableau 11. On note que la plupart des corrélations entre les différents paramètres étudiés sont très hautement significatif. Ainsi, plusieurs traits sont fortement liés entre eux.

Le poids du fruit (PP) est corrélé positivement et significativement aux paramètres suivants : la largeur du fruit (LAP) ($r = 0,95^{***}$), la taille du fruit (TP) ($r = 0,89^{***}$), la longueur du fruit (LP) ($r = 0,86^{***}$) et la largeur du noyau (LAN) ($r = 0,80^{***}$). De plus, la taille du fruit (TP) est corrélée positivement et significativement avec la largeur du fruit (LAP) ($r = 0,90^{***}$), la longueur du fruit (LP) ($r = 0,82^{***}$) et la largeur du noyau (LAN) ($r = 0,77^{***}$). De même, la longueur du fruit (LP) est corrélée positivement et significativement à la largeur du fruit (LAP) ($r = 0,83^{***}$), la longueur du noyau (LN) ($r = 0,79^{***}$) et la largeur du noyau (LAN) ($r = 0,74^{***}$). D'autre part, la largeur du fruit (LAP) est corrélée significativement avec la largeur du noyau (LAN) ($r = 0,81^{***}$). Le poids du prune (PN) est corrélé significativement à la longueur du noyau (LN) ($r = 0,85^{***}$) et l'épaisseur du noyau (EN) ($r = 0,75^{***}$). Cependant, le degré d'adhérence du noyau à la chair (DANC) est corrélé négativement et significativement avec la couleur de l'épiderme (CFE), la longueur du noyau (LN) et la profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire de la prune (PSEP) ($r = -0,74^{***}$, $-0,61^{***}$, $-0,59^{***}$, respectivement).

Tableau 11: Matrice des coefficients de corrélation entre les paramètres morpho-pomologiques étudiés.

	LF	LAF	RL/LA	LPE	FL	FBL	ASL	IBL	PP	TP	LP	LAP	FLP	SF	PSEP	PCP	CFE	CC	FC	DANC	FGLN	FFN	DCN	TSLN	TBN	FPN	PN	LN	LAN	EN	
LF		***	***	***	**	***	***	***	***	***	***	***	*	ns	***	***	***	***	***	***	***	***	***	ns	*	***	***	***	***	***	
LAF	0,58		***	***	***	ns	***	**	*	***	***	ns	ns	*	**	***	ns	*	***	***	***	*	***	***	*	***	***	***	***	***	
RL/LA	0,31	-0,55		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	ns	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	ns	*	***	**	
LPE	0,46	0,53	-0,12		***	**	**	***	ns	***	***	*	*	ns	***	***	***	***	***	***	***	***	*	***	ns	***	***	***	***	***	
FL	0,06	-0,08	0,13	-0,10		***	***	**	***	***	ns	***	***	ns	***	***	***	***	***	***	***	***	***	*	***	***	***	***	***	***	
FBL	-0,11	0,01	-0,13	-0,05	-0,08		***	ns	**	*	**	***	ns	ns	***	*	ns	***	*	**	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	*	**	ns	
ASL	-0,15	0,09	-0,26	0,05	-0,16	0,07		*	***	***	ns	***	***	ns	**	***	***	***	***	***	***	***	ns	***	***	***	***	***	***	***	
IBL	-0,13	0,06	-0,21	-0,10	0,06	0,03	-0,04		***	***	***	***	ns	**	***	*	***	***	***	***	***	ns	ns	ns	***	ns	ns	**	***	***	
PP	0,39	0,04	0,35	0,03	0,12	-0,06	-0,11	-0,08		***	***	***	***	ns	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
TP	0,42	0,07	0,35	0,07	0,10	-0,05	-0,09	-0,10	0,89		***	***	***	ns	***	***	***	***	***	***	***	***	***	*	***	***	***	***	***	***	
LP	0,37	0,13	0,24	0,13	0,02	-0,05	0,04	-0,10	0,86	0,82		***	***	ns	***	***	***	***	***	***	***	*	***	***	***	ns	***	***	***	***	
LAP	0,42	0,03	0,41	0,04	0,15	-0,07	-0,14	-0,08	0,95	0,90	0,83		***	ns	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	ns	***	***	***	***	***	
FLP	0,06	-0,03	0,10	-0,05	0,09	-0,01	-0,16	0,02	0,23	0,19	0,08	0,25		ns	ns	***	*	***	*	ns	***	ns	***	ns	***	***	ns	**	***	*	
SF	0,03	0,05	-0,03	0,04	-0,01	-0,01	0,03	-0,06	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,00		ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	**	ns	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
PSEP	0,31	0,05	0,27	0,21	-0,10	-0,08	0,06	-0,17	0,50	0,48	0,58	0,47	0,00	0,02		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
PCP	0,29	-0,12	0,44	-0,08	0,19	-0,04	-0,24	-0,05	0,53	0,49	0,43	0,58	0,23	-0,03	0,34		***	ns	***	ns	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
CFE	0,22	0,00	0,27	0,30	-0,20	-0,03	0,15	-0,30	0,31	0,32	0,34	0,31	0,05	0,04	0,59	0,18		ns	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
CC	-0,17	-0,05	-0,12	-0,11	0,12	0,14	-0,17	0,08	-0,13	-0,19	-0,34	-0,16	0,16	-0,01	-0,31	0,01	-0,02		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
FC	0,24	0,16	0,08	0,32	-0,13	-0,05	0,15	-0,10	0,38	0,37	0,56	0,33	-0,43	0,02	0,62	0,24	0,39	-0,38		***	***	***	**	***	*	***	***	***	***	***	
DANC	-0,20	-0,12	-0,12	-0,37	0,28	0,05	-0,25	0,25	-0,41	-0,43	-0,52	-0,38	0,03	-0,04	-0,59	0,02	-0,74	0,36	-0,51		***	***	ns	***	ns	***	***	***	***	***	
FGLN	0,12	-0,09	0,24	-0,11	0,30	0,00	-0,29	0,02	0,20	0,16	-0,05	0,25	0,28	0,02	-0,10	0,31	-0,11	0,35	-0,21	0,30		*	***	ns	***	***	***	***	***	ns	
FFN	-0,08	0,04	-0,16	-0,11	0,14	0,01	-0,03	0,04	-0,08	-0,09	-0,09	-0,08	-0,01	-0,06	-0,28	-0,18	-0,41	-0,08	-0,25	0,26	0,05		***	***	ns	***	**	***	***		
DCN	0,30	-0,07	0,39	-0,04	0,22	-0,04	-0,29	-0,02	0,46	0,44	0,26	0,52	0,24	0,00	0,16	0,46	0,17	0,16	-0,06	-0,02	0,47	-0,10		ns	***	***	ns	ns	***		
TSLN	0,01	0,11	-0,10	0,08	-0,04	0,00	0,08	-0,10	-0,08	-0,04	-0,09	-0,03	0,00	0,08	-0,12	-0,17	0,26	0,17	-0,25	-0,08	0,02	0,08	0,02		ns	*	*	ns	*		
TBN	0,06	-0,05	0,13	0,01	0,11	-0,01	-0,03	0,00	0,17	0,11	0,15	0,20	0,11	-0,02	0,09	0,26	0,10	-0,08	0,06	0,03	0,13	0,03	0,08	0,02		ns	**	ns	***		
FPN	-0,10	0,09	-0,22	0,13	-0,25	-0,02	0,28	-0,03	-0,21	-0,21	-0,03	-0,35	-0,19	0,02	0,10	-0,26	0,19	-0,23	0,23	-0,20	-0,38	-0,10	-0,38	0,06	-0,02		***	***	***		
PN	0,24	0,24	-0,02	0,16	-0,11	-0,03	0,18	-0,07	0,56	0,53	0,73	0,50	-0,03	0,01	0,51	0,17	0,26	-0,35	0,58	-0,45	-0,19	-0,06	0,01	-0,04	0,07	0,24		***	***		
LN	0,28	0,21	0,06	0,21	-0,13	-0,05	0,19	-0,09	0,57	0,58	0,79	0,53	-0,07	0,00	0,58	0,14	0,40	-0,45	0,62	-0,61	-0,31	-0,08	0,03	0,00	0,01	0,17	0,85		***		
LAN	0,43	0,13	0,31	0,12	0,09	-0,06	-0,06	-0,09	0,80	0,77	0,74	0,81	0,16	0,01	0,50	0,39	0,40	-0,16	0,38	-0,44	0,20	-0,07	0,49	0,07	0,12	-0,10	0,65	0,63			
EN	0,23	0,16	0,06	0,12	-0,06	0,00	0,09	-0,08	0,55	0,48	0,61	0,50	0,05	0,00	0,46	0,26	0,32	-0,06	0,49	-0,33	-0,01	-0,10	0,09	-0,04	0,13	0,17	0,75	0,59	0,59		

Niveau de signification ; * : significatif ; ** : hautement significatif ; *** : très hautement significatif, ns : Non significative.

3. Analyse en composantes principales (ACP) et classification hiérarchique ascendante.

Une analyse en composantes principales a été établie sur la base des 30 variables liés aussi bien aux feuilles qu'aux fruits et aux noyaux (Figure 15). Cette analyse qui étudie la relation existante entre l'ensemble des caractères morphologiques et pomologiques considérés, permet de sélectionner les caractères les plus discriminants pour limiter le nombre de mesures de caractéristiques ultérieures. D'autre part, ce type d'analyse nous donne également une structuration de la diversité entre les différents cultivars du prunier.

Les deux premiers axes de l'ACP représentent 57,60% de la variabilité totale et l'axe 1 en intègre plus de 34%. Il est principalement défini par des variables liées à la dimension des fruits (poids du fruit (PP), à la taille du fruit (TP), à la longueur (LP) et à la largeur du fruit (LAP), à la profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire de prune (PSEP), à la largeur du noyau (LAN) et au degré d'adhérence du noyau à la chaire (DANC)). Le poids du fruit (PP), la taille du fruit (TP), la longueur (LP) et la largeur du fruit (LAP), la profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire de prune (PSEP) et la largeur du noyau (LAN) expliquent les valeurs positives de l'axe 1, alors que le degré d'adhérence du noyau à la chaire (DANC) contribue négativement à la l'axe 1. L'axe 2 absorbant environ 22,75% de la variabilité totale, est défini positivement par les caractères de l'angle du sommet de limbe (ASL) et la forme du pôle de noyau (FBN), et négativement par la forme du limbe (FL) et la forme générale en vue latérale de noyau (FGLN).

La figure 15 présente la projection des différents cultivars étudiés dans le plan formé par les deux premiers axes. Les résultats montrent la présence de trois groupes. Le premier groupe est constitué par 15 cultivars (Santa Rosa1, Santa Rosa2, Santa Rosa3, Santa Rosa4, Santa Rosa5, Black Amber1, Black Amber2, Black Amber3, Fortune1, Fortune2, Angeleno, Lmozari, Royal Diamond, Frigo et Lbide). Ce groupe est formé par des cultivars de gros fruits avec des valeurs élevées de : poids de fruit, taille de fruit, longueur et largeur de fruit, profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire de prune, largeur du noyau et longueur des feuilles. Le deuxième groupe est composé par 13 cultivars (Safra1, Safra2, Safra3, Safra4, Hamra1, Hamra2, Hamra3, Lbyade1, Lbyade 2, Lbayda, Dlahi, Tabarkakacht et Safra Rkika), qui se caractérisent par des valeurs plus faibles du poids de la prune, de la longueur et de la largeur de la prune, de la longueur des feuilles et de la profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire de prune. Alors que le troisième groupe forme seulement de deux cultivars

(Stanley1 et Stanley2) qui se caractérisent par des valeurs importantes de l'angle du sommet de limbe, de la forme du pôle de noyau et de la forme elliptique étroite en vue latérale de noyau.

Sur la base des 30 variables quantitatives et qualitatives, le regroupement hiérarchique sépare nettement les cultivars étudiés en deux groupes (I et II) (Figure 16). Le groupe I comporte 16 cultivars et le groupe II comporte 14 cultivars. La subdivision en deux groupes majeurs I et II, tient évidemment aux caractères observés. Le groupe I renferme deux sous-groupes. Le premier sous-groupe I.A comprend les cultivars Hamra1, Hamra2, Hamra3, Dlahi, Tabarkakacht, Safra1, Safra2 et Safra Rkika, qui se caractérisent par des faibles valeurs de poids de fruit (PP), de taille de fruit (TP), de longueur (LP) et de largeur du fruit (LAP), de profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire du prune (PSEP) et largeur du noyau (LAN). Le deuxième sous-groupe I.B est formé par les cultivars Lbyad1, Safra4, Lbyad2, Lbayda, Santa Rosa2, Santa Rosa3, Stanley1 et Stanley2, qui se distinguent par des faibles valeurs de poids de fruit (PP), de taille de fruit (TP), de longueur (LP) et de largeur du fruit (LAP), de profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire du prune (PSEP) et de largeur du noyau (LAN). De même, le groupe II, est subdivisé en deux sous-groupes. Le premier sous-groupe II.A contient des cultivars Lbide, Safra 3, Santa Rosa 1, Santa Rosa 4, Santa Rosa 5, Lmozari, Black Amber 1 et Black Amber 3 ; Le second sous-groupe II.B comprend Black Amber 2, Royal Diamond, Frigo, Fortune 1, Fortune 2 et Angeleno. Il convient de noter que les deux derniers sous-groupes ont des valeurs élevées de poids de fruit (PP), de taille de fruit (TP), de longueur (LP) et de largeur de fruit (LAP), de profondeur de la suture vers l'extrémité pédonculaire du prune (PSEP) et largeur du noyau (LAN).

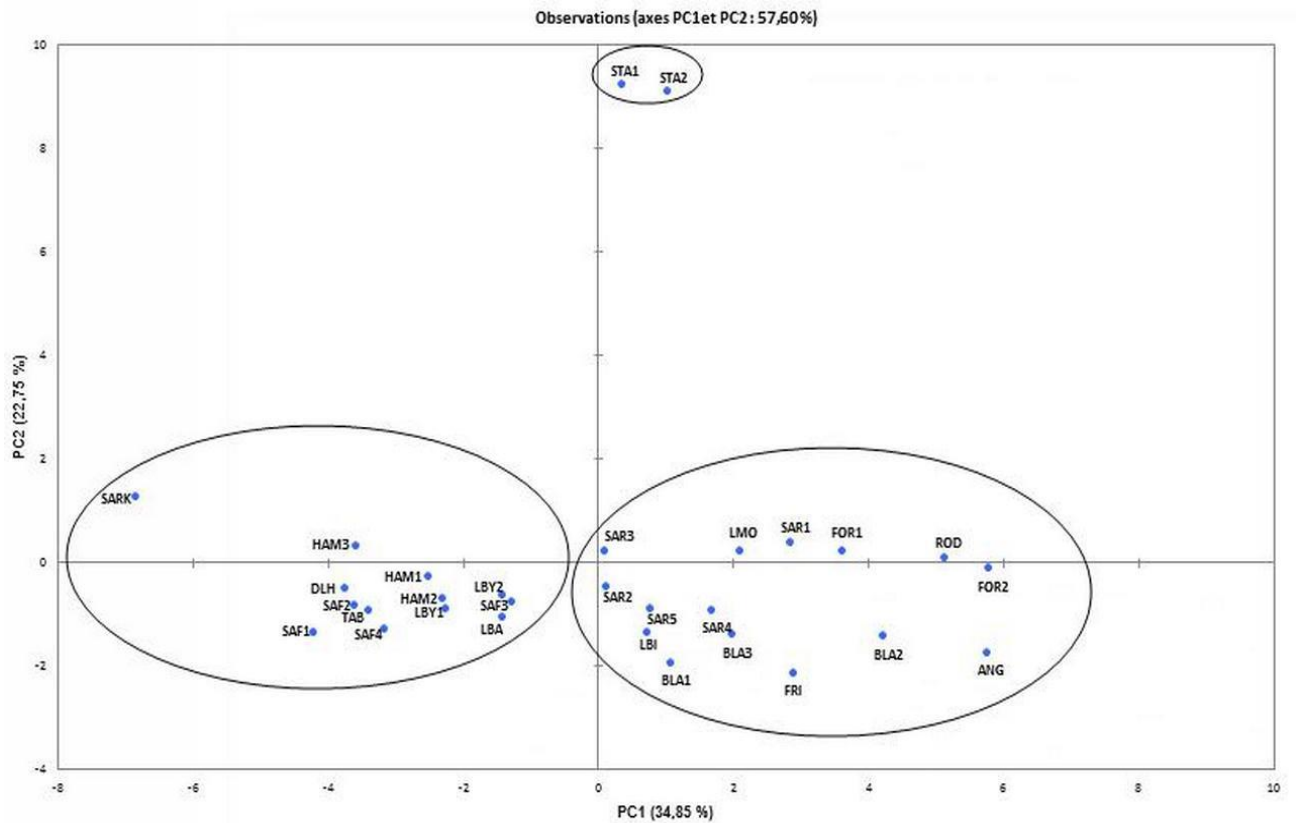


Figure 16 : Présentation de 30 cultivars du prunier dans le plan 1-2 d'une ACP réalisée à partir de 30 variables morpho-pomologiques.

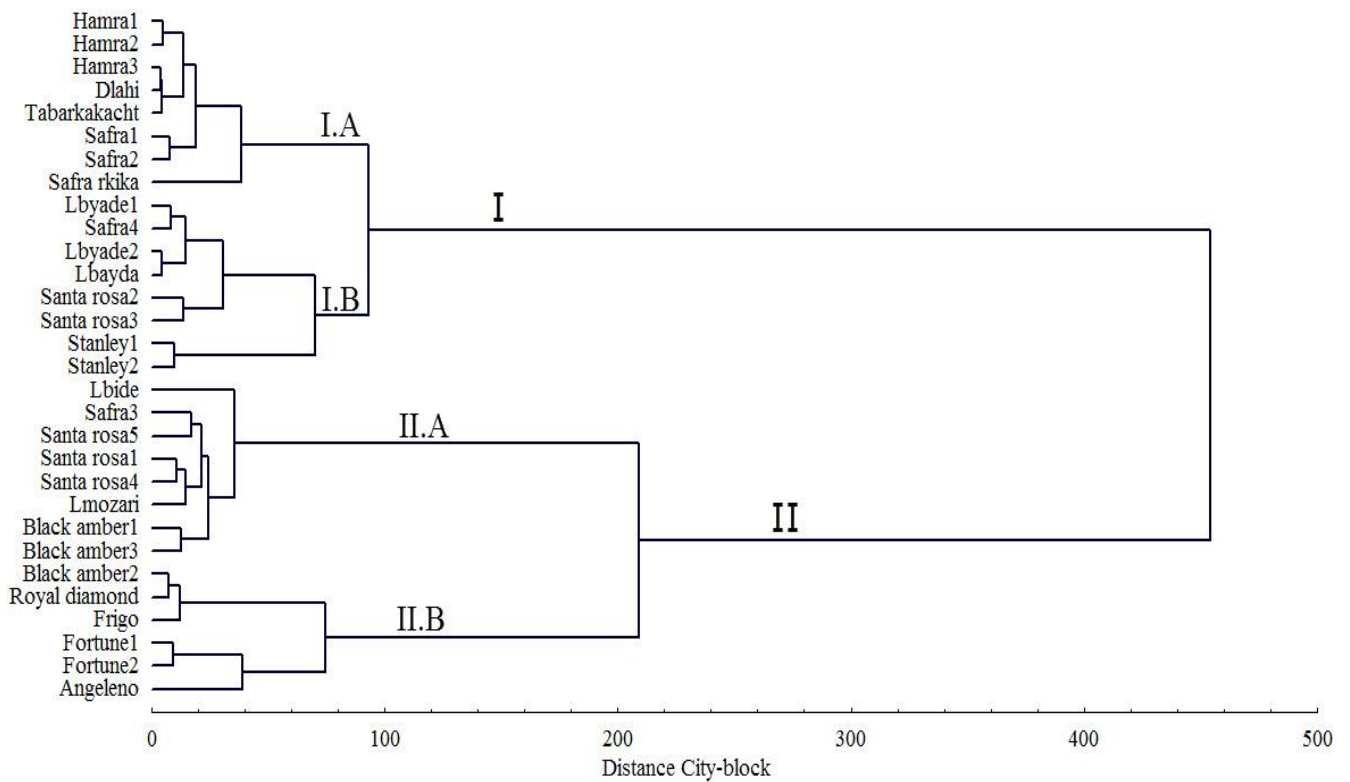


Figure 15: Dendrogramme de 30 cultivars du prunier basé sur les caractères morpho-pomologiques.

IV. Discussion et conclusion

Les résultats acquis dans le cadre de cette étude montrent l'existence d'une large diversité phénotypique de prunier marocain pour la plupart des traits morfo-pomologiques étudiés. Cette variabilité résulte de la variabilité génétique et des conditions de milieu dans lesquelles le matériel est développé.

On note que la variabilité des paramètres morphologique et pomologique a été également observée chez le prunier dans différents pays tel que la Tunisie (Ben Tamarzizt et al., 2009; 2012), l'Iran (Sedaghatthoor et al., 2009 ; Khadivi-Khub et Barazandeh, 2015), le Pakistan (Nisar et al., 2015a), la France (Horvath et al., 2011), la République de Corée (Kwon et al., 2018) et l'Italie (Manco et al., 2019).

D'une façon générale, les cultivars étudiés présentent des feuilles de grande taille avec une longueur qui varie de 4,93 cm à 9,34 cm. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues par Khadivi-Khub et Barazandeh (2015) chez des génotypes locaux du prunier iranien (2,13 à 5,22 cm), mais comparable avec les résultats obtenus par Pirkhezri et al. (2014) pour des cultivars de *P. salicina* cultivés en Iran (2,81 et 10,30 cm). Concernant la largeur, elle varie entre 2,32 cm et 3,73 cm. Ces valeurs sont en accords à celles obtenues par Pirkhezri et al. (2014) et Khadivi-Khub et Barazandeh (2015) respectivement (1,75 à 5,42 et 1,06 à 4,77 cm). D'autre part, la longueur des pétioles varie de 1,01 cm à 2,29 cm. Ce résultat est comparable à celui trouvé par Pirkhezri et al. (2014) et Khadivi-Khub et Barazandeh (2015) pour les cultivars Iranien respectivement (0,45 à 3,03 et 0,62 à 2,00 cm) et par Horvath et al. (2011) pour des cultivars français de *P. domestica* (1,7 cm). En outre, la majorité des feuilles des cultivars étudiés sont de forme elliptique (94,5%). Ce résultat est similaire à celui obtenu pour des accessions espagnoles de *P. domestica* (Gharbi et al., 2014).

Concernant les analyses des paramètres pomologiques, les résultats obtenus ont montré que le poids de la prune varie de 8,17 à 102,28 g (*P. domestica* : 8,17 à 65,45 g, et *P. salicina* : 22,39 à 102,28 g). Ces valeurs sont supérieures à celles trouvées chez des cultivars iranien (8,4-50 g) (Sedaghatthoor et al., 2009) et des génotypes locaux iraniens (16,30 à 31,00 g) (Khadivi-Khub et Barazandeh, 2015) et des cultivars indiens de *P. domestica* et *P. salicina* (18,99 g à 59,16 g) (Kumar et al., 2018)

Concernant les cultivars de *P. domestica*, on note que, leurs valeurs sont comparables à celles enregistrées chez des génotypes de la même espèce dans plusieurs pays : Pakistan (7,04 à 66,9 g) (Nisar et al., 2015a), Serbie (23,93 à 66,7 g) (Milosevic et al., 2013) et (22,97 à 34,75g) (Glišić et al., 2016), Pologne (33,1 g à 69,2 g) (Głowacka et Rozpara, 2017), France (26 à 30 g) (Horvath et al., 2011), Turquie (34,78-49,96 g) (Nergiz et Yildiz, 1997), Géorgie (26,2 g à 58,4 g) (Maglakelidze et al., 2017), Bulgarie (16,06 g à 48,88 g) (Dimkova et al., 2018). Par contre, ces valeurs sont inférieure à celles obtenue pour la même espèce en Roumanie (26,8g à 74,20) (Ionica et al., 2013) et en Italie (Manco et al., 2019) (17 à 100,2 g). D'autre part, les valeurs de poids de fruit des cultivars de *P. salicina* étudiés sont supérieures à celles rapportées par Pirkhezri et al. (2014) chez des cultivars de *P. salicina* en Iran (15,2 à 76,6 g) et inférieure à celle obtenues par Kwon et al. (2018) chez des variétés de *P. salicina* en République de Corée (31,4 à 139,5 g).

De même, la longueur de la prune a enregistré des valeurs qui varient entre 2,40 cm à 5,33 cm et la largeur a montré des valeurs entre 2,28 cm et 5,71 cm. Ces valeurs sont similaires à celles obtenues chez le prunier indienne (longueur : 2,81 cm à 6,40 cm et largeur : 2,72 cm à 5,34 cm) (Kumar et al., 2018), iranien (longueur : 2,05 cm à 5,29 cm et largeur : 2,04 cm à 5,58 cm) (Pirkhezri et al., 2014), italien (longueur : 2,93 cm à 6,03 cm et largeur : 2,81 cm à 5,43 cm) (Manco et al. 2019), roumanien (longueur : 2,92 cm à 5,73 cm et largeur : 2,32 cm à 5,23 cm) (Ionica et al., 2013) et pakistanien (longueur : 1,90 cm à 4,43 cm et largeur : 2,41 cm à 5,65 cm) (Nisar et al., 2015a). Cependant, ces valeurs sont supérieures à celles trouvées par Khadivi-Khub et Barazandeh (2015) chez le prunier iranien (longueur : 2 à 3,78 cm et largeur : 2,30 à 4, 35 cm), et par Dimkova et al. (2018) chez le prunier bulgare (longueur : 3,75 à 4,40 cm et largeur : 2,83 à 4, 29 cm) et inférieures à celles reportées par Kwon et al. (2018) en République de Corée (longueur : 3,48 à 6,55 cm et largeur : 3,72 à 6,59 cm). Selon Crisosto et al. (2004) et Ionica et al. (2013), la dimension et le poids des fruits sont les principaux facteurs déterminant le rendement, la qualité des fruits et l'acceptabilité des consommateurs.

Pour la forme des fruits, les résultats obtenues ont montré que 79,2% des cultivars étudiés ont des fruits de forme arrondie, 11,4% de forme elliptique, 5,8% de forme aplatie et 3,6% de forme ovale. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Hartmann et Neumüller (2009). Pour la couleur de fond de l'épiderme, nos résultats ont montré que 39,7% des cultivars se sont révélées avec une couleur jaune orangé, 28% avec une couleur violet foncé, 27,8% avec une couleur jaune et 4,5% avec une couleur violet pourpre. La couleur de la chair

varie entre le jaune (70,8%), le rouge (22,4%) et le vert jaunâtre (6,8%). En effet, la couleur de fruit est parmi les critères les plus importants pour les consommateurs. La couleur de l'épiderme préférée varie d'un pays à l'autre (Kwon et al., 2018 ; Hartmann et Neumüller, 2009).

D'autre part, les résultats obtenus ont révélés que 59,6 % des prunes de cultivars étudiés ont des noyaux adhérents, alors que 28,3% ayant des noyaux semi-adhérents et 12,1% des noyaux non adhérents. Ces données sont comparables à celles trouvées par Kwon et al. (2018) chez le prunier en République de Corée et par Gharbi et al. (2014) chez le prunier espagnol. Généralement les fruit à noyau non adhérent sont facile pour la consommation (Kwon et al., 2018). En plus, la fermeté de la chair s'étale entre une fermeté moyenne (60,9%), ferme (38,2%) et molle (0,9%). en effet la fermeté joue un rôle important lors du transport des fruits (Hartmann et Neumüller, 2009).

Concernant les paramètres relatifs au noyau, on note que le poids varie entre 0,43 et 1,66 g. Ce résultat est comparable aux résultats obtenus chez le prunier cultivé dans plusieurs pays : Iran (0,61 à 1,84) (Sedaghatthoor et al., 2009) et (0,73 à 1,46 g) (Khadivi-Khub et Barazandeh, 2015), Bulgarie (0,86 à 1,46 g) (Dimkova et al., 2018), France (1 à 1,2 g) (Horvath et al., 2011) et Turquie (1,15 à 1,95 g) (Nergiz et Yildiz, 1997). Toutefois, le poids du prunier cultivé au Maroc est inférieur à celui obtenu par Pirkhezri et al. (2014) pour les cultivars de *P. salicina* iranien (2,24 à 4,5g), Nisar et al. (2015a) pour les génotypes de *P. domestica* pakistanaise (1,11 à 2,91 g), Maglakelidze et al. (2017) pour les cultivars de *P. domestica* en Géorgie (1,4 à 2,6 g) et Kumar et al. (2018) pour les cultivars de *P. domestica* et *P. salicina* en Inde (0,74 et 3,12). D'autre part, la longueur et la largeur du noyau ont enregistré des valeurs moyennes de 2,02 cm et 1,4 cm, respectivement. De même, l'épaisseur a indiqué une valeur moyenne de 0,77. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues par Horvath et al. (2011) pour des cultivars français ayant une longueur moyenne de 1,9 cm, une largeur de 1,3 cm et une épaisseur de 0,8 cm, tandis qu'elles sont inférieures à celles trouvées pour le prunier iranien par Pirkhezri et al. (2014), qui ont une longueur moyenne de 2,17 cm, une largeur de 1,94 cm et une épaisseur de 1,71 cm.

En outre, 84,6% des noyaux de cultivars étudiés se sont révélés avec une forme en vue latérale elliptiques et 85,2% avec une forme en vue de face elliptique. Ce résultat est en accord avec les résultats obtenus chez des cultivars italiens, coréens et espagnols (Gharbi et al., 2014 ; Kwon et al., 2018 ; Manco et al., 2019). D'autre part, la texture des surfaces

latérales de noyau des cultivars varie entre noyaux à surface sableuse (31,8%) et noyaux martelée (68,2%). La troncature à la base du noyau pour la plupart des cultivars est étroite (82,4%), ainsi que la forme du pôle de noyau (83,1%). Ces résultats sont comparables à ceux enregistrés pour les accessions espagnoles, où la plupart des noyaux ont un développement de la carène moyen, une texture entre sableuse et martelée et une troncature à la base étroite, sauf les pôles des noyaux dont la plupart présentent une forme obtuse (Gharbi et al., 2014).

Par ailleurs, l'exploitation des données morpho-pomologiques par l'analyse en composante principale a révélé la formation de trois groupes distincts indépendamment de leur origine géographique. Le regroupement des cultivars du prunier indépendamment de l'origine géographique a été également obtenu chez le prunier tunisien (Ben Tamarzizt et al., 2012; 2009; 2015). De même, la classification hiérarchique a montré que certains cultivars se sont regroupés ensemble bien qu'ils ont différentes dénominations, tels que (Hamra3, Dlahi et Tabarkakacht), (Lbyade1 et Safra4) et (Black amber2 et Royal diamond). Ce résultat suggère que ces cultivars peuvent être des synonymies. Tandis que l'homonymie peuvent se trouver entre certains cultivars par exemple (Safra4 et Safra2), ces deux cultivars ont la même appellation mais ils ne se rassemblent pas. En effet, le cultivar de prunier est dénommé par les agriculteurs en fonction des caractéristiques de leur fruit (couleur de la peau, taille, origine, saveur) conduisant souvent à un problème de mauvaise appellation. Le même problème d'étiquetage a été révélé par Ben Tamarzizt et al. (2009 ; 2012) dans le prunier tunisien.

D'autre part, parmi les paramètres qui ont contribué à la formation du premier axe PC1 figurent le poids, la taille, la longueur et le diamètre du fruit. Il a été rapporté que ces paramètres sont les traits les plus discriminants parmi les cultivars de prunier par Ben Tamarzizt et al. (2009, 2012); Horvath et al. (2011); Milošević et al. (2013); Nisar et al. (2015a) ; Khadivi-Khub et Barazandeh (2015), respectivement dans les variétés de prunes tunisiennes, françaises, serbes, pakistanaises et iraniennes.

En conclusion, cette étude a permis la mise en évidence de plusieurs caractères discriminants qui peuvent constituer une base de données pour des programmes d'amélioration de la culture des pruniers au Maroc, notamment la mise au point des cultivars à haut rendement et de meilleure qualité. L'hypothèse de problème de synonymie et / ou d'homonymie peuvent également être avancée pour expliquer les fausses appellations. De même, la présente étude a fourni des informations qui peuvent être utiles pour déterminer le nombre exact de cultivars de prunier au Maroc. De plus, les cultivars d'Angeleno (ANG),

Fortune1 (FOR1) et Fortune2 (FOR2) sont très intéressantes pour leurs fruits de grande taille, de grand poids et de couleur de peau importante. Ces cultivars ont une valeur économique qui peut être utilisée pour développer la culture de prunier et augmenter la production nationale.

Certes, les caractères morphologiques sont les premiers et principaux marqueurs utilisés dans la gestion du matériel génétique et l'évaluation des cultivars (Karimi et al., 2008). Néanmoins, ces caractères ne suffisent pas pour accomplir une diversité génétique bien définitive et précise. D'où l'intérêt d'entamer une étude des paramètres biochimiques et des marqueurs moléculaires, et l'identification des cultivars et étude de leur diversité génétique.

**CHAPITRE III :
CARACTERISATION
BIOCHIMIQUE ET
EVALUATION DU POUVOIR
ANTIOXYDANT DE LA PRUNE**

I. Introduction

La prune a une grande importance pour la santé humaine. Elle est une excellente source de nutriments et contribue largement à la nutrition humaine. Elle a des effets rafraîchissants, diurétiques, énergétiques et prévient l'incidence de diverses maladies (Maglakelidze et al., 2017). Elle contient des acides organiques (acide malique et citrique), des glucides (glucose, saccharose et fructose), des fibres (pectines), des substances aromatiques, des tanins et des enzymes. Chacune de ces substances est un élément essentiel pour déterminer le goût et la valeur nutritive des fruits (Ertekin et al. 2006). En plus de ses teneurs alimentaires de base, les prunes sont une source abondante de composés phénoliques caractérisée par une teneur anthocyanique relativement élevée et une activité antioxydante supérieure à celle des pommes et des fraises (Leong and Shui 2002, Kim et al. 2003a, Rop et al. 2009). Selon sa teneur en vitamines, la prune a une teneur supérieure à celle trouvée chez la poire, la cerise, la fraise, la framboise et la pomme. En termes d'effets énergétiques, les prunes sont inférieures aux raisins et aux cerises, mais elles sont supérieures aux pommes, les poires, les abricots, les pêches, les groseilles, les framboises et les fraises (Maglakelidze et al., 2017).

Après avoir entrepris une analyse des marqueurs morpho-pomologiques, qui a montré une large variabilité phénotypique au sein des cultivars étudiés, nous avons cherché à consolider les résultats ainsi obtenus par l'exploration de la composition biochimique des prunes. En effet, nous avons effectué des analyses physico-chimiques (la matière sèche, l'humidité, les cendres, l'acidité titrable, le pH, les fibres et teneur en solides solubles totaux), des analyses biochimiques (l'activité antioxydante, la vitamine C, les sucre totaux, les polyphénols totaux, les fibres totaux, les flavonoïdes totaux, les protéines brutes) sur les prunes des deux espèces présentes au Maroc (*Prunus domestica* L. et *Prunus salicina* Lindl). En plus, nous avons réalisé des analyses minéralogique (des éléments minéraux : K, Mg, Mn, Cu, Fe, Zn et Ni).

Les objectifs de cette partie de notre travail sont de recueillir toutes les données nécessaires concernant la composition biochimique des prunes des deux espèces et de comparer cette composition dans le but d'identifier les cultivars de bonne qualité du fruit et d'évaluer le pouvoir antioxydant de la prune marocaine.

II. Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

Parmi les cultivars étudiés dans la partie de l'analyse phénotypique, nous sommes limités à 15 cultivars pour l'analyse biochimique (Santa rosa, Black amber, Fortune, Stanley, Hamra, Dlahi, Tabarkakacht, Lbyade 1, Lbyade 2, Lbide, Lbayda, Safra, Safra rkika, Lmozari, Frigo) (Tableau 12). Trois arbres par cultivars ont été échantillonnés. Des prunes mures et saines sont collectées et conditionnées en sachets plastiques puis conservées à une température de -20°C jusqu'à leur utilisation. L'analyse physico-chimique, biochimique et minéralogique de ces cultivars a été réalisée par 21 paramètres liés aux fruits.

Tableau 12: Les cultivars étudiés pour l'analyse biochimique.

Cultivar	Code
Santa rosa5	SAR
Black amber2	BLA
Fortune1	FOR
Stanley2	STA
Hamra1	HAM
Dlahi	DLH
Tabarkakacht	TAB
Lbyade 1	LBY1
Lbyade 2	LBY2
Lbide	LBI
Lbayda	LBA
Safra3	SAF
Safra rkika	SARK
Lmozari	LMO
Frigo	FRI

2. Analyses physico-chimiques

2.1. Détermination du taux d'humidité et de la matière sèche

La teneur en eau et la matière sèche ont été déterminées selon le protocole décrit par Simsek (2010) et par Ionica et al. (2013). Des creusets sont séchés à 105°C et pesés (m_0), dans lesquels ont été mis 5g d'échantillon de prune (m_1). Ensuite les creusets sont placés dans

une étuve à 105°C pendant 24 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur à labri, les creusets sont pesés (m2).

-La teneur en matière sèche est calculée selon la formule suivante :

$$MS(\%) = \frac{m2 - m0}{m1 - m0} \times 100$$

Où :

m0: Masse du creuset sec (g)

m1: Masse du creuset-échantillon (g)

m2: Masse du creuset-échantillon étuvé (g)

- Le taux d'humidité est déterminé comme suit :

$$H(\%) = 100 - MS.$$

2.2. Teneur en cendre

Une quantité de 5 g de la chair de prune est placée dans un creuset en porcelaine préalablement pesée. Ensuite, les échantillons ont subi une carbonisation sur la plaque chauffante, pour ensuite être calcinés dans le four à moufle à 550 °C pendant 4 heures (Ough et Amerine, 1988). Ainsi, la teneur en cendres est calculée selon la formule suivante.

$$Cendre\% = \frac{m2 - m0}{m1 - m0} \times 100$$

Où :

m0 : masse du creuset (g)

m1 : masse du creuset-échantillon (g)

m2 : masse du creuset-échantillon calciné (g)

2.3. pH

La mesure a été réalisée en plongeant l'électrode du pH mètre digital (de type G.Boyer) dans le jus extrait de fruits de prunier domestique. la lecture se fait directement sur un pH mètre préalablement étalonné à pH 4.0 et pH 7.4 par des solution standard (Ruck, 1963).

2.4. Acidité titrable

L'acidité est rapportée à l'acide le plus prépondérant. Dans le cas de jus de la prune, l'acide malique est le plus dominant (Ruck, 1963).

Le jus extrait à partir de 25 g de fruits est dilué à 1/10. Dans un bécher de 100 ml, on met 50 ml de jus de la prune dilué, et on titre avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N

jusqu'à l'obtention d'un pH de 8,1. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'acide malique (Ruck 1963). L'acidité titrable en pourcentage est calculée selon la formule suivante :

$$AT\% = \frac{1}{10} \times \frac{PE \times N \times V}{P}$$

Où :

PE: poids équivalent d'acide malique (67,0g)

N : normalité de NaOH

V : volume de NaOH versé

P : poids de l'échantillon

2.5. Fibres

La teneur des fibres (cellulose brute) contenue dans les échantillons a été effectuée par la méthode chimique (Aryapak et Ziarati, 2014). Ainsi, 5g de la matière fraîche de prune broyée est digérée dans 100 ml de l'acide sulfurique (H₂SO₄, 1,25%). Après 45 minutes d'ébullition, le bouillon est filtré et lavé avec de l'eau distillée chaude. Ensuite, le filtrat est digéré une deuxième fois dans 100 ml de NaOH (1,25%) pendant 60 minutes. Enfin, le filtrat est lavé avec de l'eau désionisée chaude et après le séchage à l'étuve à T=37°C pendant 12h, le résidu est mesuré et incinéré dans un four à 550 ° C pendant 3 heures. La teneur en fibres s'exprime comme suit :

$$Fibres (\%) = \frac{m2 - m3}{m1} \times 100$$

Où :

m1: Poids initial (g)

m2: Poids du résidu avant incinération (g)

m3: Poids du résidu après incinération (g).

2.6. Teneur en solides solubles totaux

Le taux des solides solubles, exprimé en degrés Brix (°B). Le jus est mis directement en contact avec la lentille préalablement nettoyée avec l'eau distillée et séchée. La méthode de la lecture du degré Brix est donnée par le tableau 21 (Annexe 1). Chaque valeur obtenue est référée au tableau en tenant compte de la correction de température. A partir des fractions massiques lues au niveau du réfractomètre pour une température différente de 20°C, on lit les degrés Brix correspondant (Ruck, 1963).

3. Analyses biochimiques

3.1. Acide ascorbique

La méthode utilisée pour le dosage de l'acide ascorbique est le titrage indirect de la vitamine C par iodométrie (Peller, 1998). La technique utilisée est celle du dosage redox par retour. Un volume connu d'extrait des aliments est mis en présence d'une quantité connue de diiode en excès. La totalité de la vitamine C réagit avec le diiode en excès et le diiode restant est dosé par une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Dans un erlenmeyer, on met $V_2 = 10$ ml de solution de diiode, puis on remplit la burette graduée avec la solution de thiosulfate de sodium de concentration $C_1 = 5,0 \cdot 10^{-3}$ mol/l. après on titre la solution de diiode. Lorsque le mélange réactionnel devient jaune pâle, on ajoute quelques gouttes d'empois d'amidon. La solution prend alors une couleur verte, on continue à verser la solution de thiosulfate de sodium jusqu'à la zone de virage. On note le volume à l'équivalence V_E afin de calculer la concentration de la solution diiode C_2 .

$$C_2 = \frac{\left(\frac{1}{2} \times C_1 \times V_E\right)}{V_2}$$

Dans un bécher, On introduit un volume $V_1 = 5$ ml d'un jus, puis on ajoute quelques gouttes d'empois d'amidon, et un volume $V_2 = 5$ ml d'iode de concentration C_2 . La solution est alors noire, à cause de l'excès d'iode.

On remplit une burette graduée avec la solution de thiosulfate de sodium à $C_1 = 5,0 \cdot 10^{-3}$ mol/l et on titre la solution de diiode restant jusqu'à la disparition complète de la coloration noire, puis on note le volume V_{EQ} de thiosulfate de sodium versé à l'équivalence.

Le témoin de ce dosage est un mélange de jus, de diiode et quelques gouttes d'empois d'amidon.

Le nombre de moles de vitamine C pouvant être exprimé comme suit :

$$n(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_{Total} = n(\text{I}_2)_{Total} - \frac{1}{2} \cdot C_1 \cdot V_{EQ}$$

La masse de vitamine C (m) qui existe dans un litre de jus peut s'établir selon la relation suivante :

$$m(\text{Vitamine C}) = n(C_6H_8O_6)_{\text{Total}} \times M(C_6H_8O_6) \times 1000/5$$

La masse (m) de vitamine C en mg obtenue par litre de jus de prune est convertie en mg / kg après multiplication du quotient de l / kg de matières fraîches.

3.2. Dosage des protéines brutes.

La détermination de la quantité des protéines contenues dans l'échantillon est faite par le dosage de l'azote total par la méthode de Kjeldahl. Cette méthode comprend deux étapes : (i) la digestion de l'échantillon dans l'acide sulfurique concentré à des températures élevées pour convertir l'azote organique à l'azote minéral sous forme ammoniacal et (ii) la détermination de l'ammonium dans l'extrait par titration de NH₃ dégagé par distillation à vapeur dans un milieu alcalin.

❖ Minéralisation

Un échantillon de 0,5g de la matière fraîche de prune, broyé et homogénéisé, est introduit avec une tablette de catalyseur dans un tube de digestion. Par la suite, l'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) est ajouté de façon progressive. Après une agitation manuelle, les tubes sont placés dans le bloc de digestion à 420°C pendant 2 heures sous la hotte. Après refroidissement des solutions pendant 30 min, on ajoute l'eau distillée en ajustant le volume jusqu'à 100 ml. Un témoin (B) est préparé dans les mêmes conditions.

❖ Distillation et Titration

La distillation se fait dans une unité de BÜCHI B-324, on ajoute au tube 40 ml de NaOH (10N) attentivement et immédiatement commencé la distillation. Le liquide distillé est connecté dans un erlenmeyer contenant 10ml de la solution d'acide borique (H₃BO₃) 1N avec quelques gouttes de l'indicateur de Tachiro. Une fois la distillation est terminée, la solution récupérée sera titrée avec l'acide sulfurique (0,05N) qui donne un changement de la coloration du vert au rose.

Le pourcentage d'azote total s'exprime par la formule suivante :

$$N(\%) = \frac{(V_E - V_B) \times N \times 14,01}{P} \times 100$$

Où :

E : Volume d'acide sulfurique pour titrer l'échantillon (ml)

B : Volume d'acide sulfurique pour titrer le blanc (ml)

N : Normalité de l'acide sulfurique

14,01 : Poids molaire de l'azote

P : poids de l'échantillon en g

Pourcentage des protéines :

Les protéines des diverses matières premières contiennent une teneur en azote située aux environs de 16%. La valeur d'azote obtenue par le titrage, multipliée par le coefficient 100/16 c'est-à-dire 6,25, nous conduit à une valeur relativement conventionnelle qui est exprimée en protéines brutes ou mieux encore en protéines azotées totales (Mariotti et al., 2008).

$$\text{Protéines brutes}(\%) = N(\%) \times 6,25$$

3.3. Préparation des extraits de fruits pour dosage des métabolites secondaires et activité antioxydante.

Des échantillons de 5 g de la matière fraîche de prune ont été homogénéisés dans 12.5 ml de méthanol à l'aide d'un mélangeur Waring. Les homogénats ont été maintenus à 4°C pendant 12 h puis centrifugés à 9950 × g pendant 30 min. Les surnageants ont été recueillis et l'extraction du résidu a été répétée dans les mêmes conditions. Les deux surnageants méthanoliques ont été combinés, divisés en deux parties aliquotes égales et stockées à -20 °C jusqu'à une analyse plus approfondie (Xu et Chen, 2011).

3.4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux (PT) a été réalisé selon la méthode de Singleton et al. (1999). 0,5 ml de chaque extrait et 2,5 ml d'une solution de réactif du Folin-Ciocalteu (1/10) sont ajoutés. Après 3 minutes, 2 ml de solution saturée de carbonate de sodium (7,5%) est ajoutée au mélange puis on ajuste à 10 ml avec de l'eau distillée. L'ensemble est agité par vortex, puis incubé à une température de 45°C pendant 40 minutes. L'absorbance est mesurée à 725 nm contre un blanc à l'aide du spectrophotomètre UV-Vis (JASCO V-630). La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de la gamme d'étalonnage établie dans les mêmes conditions avec l'acide gallique comme un phénol standard (Annexe 2). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par 100g de la matière fraîche (mg EAG/ g MF).

3.5. Détermination de pouvoir antioxydant

La mesure du pouvoir antioxydant des extraits a été réalisée par le test de DPPH. Le radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est stable à température ordinaire et présente une couleur bleue bien caractéristique, les essais ont été réalisés selon le protocole décrit par (Hatano et al. 1988). 0.3 ml de chaque solution méthanolique des extraits est ajouté à 2.7 ml de la solution méthanolique du DPPH (6.10^{-5} mol/l). Le mélange est agité vigoureusement et incubé à l'obscurité et la température ambiante pendant 60 min. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé parallèlement en mélangeant 0.3 ml de méthanol avec 2.7 ml de la solution méthanolique de DPPH. L'absorbance est mesurée à 517nm à l'aide du spectrophotomètre UV-Vis (JASCO V-630).

Pour exprimer les résultats obtenus, on utilise le pourcentage du piégeage du radical DPPH (PPR) qui correspond au pourcentage de DPPH qui a été inhibé par les antioxydants présents dans les échantillons testés, en appliquant l'expression suivante :

$$PPR (\%) = \left(\frac{A_0 - A_E}{A_0} \right) \times 100$$

Où :

A_0 : Absorbance du blanc

A_E : Absorbance de l'échantillon

3.6. Dosage des anthocyanes.

La teneur totale en anthocyanes est déterminée par la méthode du pH différentiel en utilisant deux tampons: tampon chlorure de potassium à pH 1,0 (25 mM) et le tampon acétate de sodium à pH 4,5 (0.4 M) (Nisar et al 2015b). Ensuite, 0,4 mL de jus est mélange séparément avec 3,6 mL de chacun des deux tampons et mesurer l'absorbance à 510 nm et 700 nm, ensuite l'absorbance Abs est calculée comme suit :

$$Abs = (A_{510} - A_{700})pH_{1,0} - (A_{510} - A_{700})pH_{4,5}$$

Les anthocyanes totaux des échantillons sont exprimées en mg de cyanidine-3-glucoside/100g de matière fraîche, et calculées selon l'équation suivante :

$$Ant = \frac{Abs \times PM \times FD}{CAM} \times 100$$

Où :

Abs : absorbance ;

PM : Poids moléculaire de Cyanidine-3- glucoside (445,2) ;

FD : Facteur de dilution ;

CAM : Coefficient d'absorption molaire de Cyanidine-3- glucoside ($\epsilon = 29,600 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à 528 nm).

3.7. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur totale en flavonoïdes est déterminée selon la méthode colorimétrique de Jia et al. (1999). En effet, 2 ml des extraits sont mélangés avec 3 ml de l'eau distillée et 0,3 ml de Nitrite de sodium (0,72 mol/l). Après 5 minutes, on ajoute 0,6 ml de chlorure d'aluminium (0,41 mol/l). Les mélanges sont laissés réagir pendant 6 min et par la suite 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (1mol/l) est ajouté. Puis, 2,1 ml de l'eau distillée a été ajouté pour tous les échantillons pour ajuster à 10 ml. L'absorbance est mesurée immédiatement à 510 nm contre un blanc par le spectrophotomètre UV-Vis (JASCO V-630). La concentration des flavonoïdes totaux est calculée à partir de l'équation de la gamme d'étalonnage établie dans les mêmes conditions avec de la catéchine (Annexe 2). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de catéchine par g de la matière sèche (mg EC/g MF).

3.8. Dosage des sucres

Le dosage des sucres totaux solubles est déterminé par la méthode de Dubois et al, (1956). Cette méthode permet de doser les oses en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré. Pour le dosage, 500 μl d'extrait méthanolique sont additionnés à 0,5 ml de phénol et à 1,5 ml de solution d'acide sulfurique (H_2SO_4). Le mélange est chauffé au bain marie à 100 °C pendant 5 mn. Après refroidissement dans la glace pilée, la densité optique est mesurée à 485 nm contre un blanc. Un étalon est construit grâce à une gamme de concentration d'une solution mère de glucose (Annexe 2). Les teneurs en sucres sont exprimées en g équivalent glucose (EG)/g de matière fraîche.

4. Analyse minéralogique

La matière minérale est déterminée par la méthode de Ranganna (1995). Une quantité de 5g de la pulpe de prune broyée et calcinée, humidifiée avec de l'eau distillée (1 ml), par la

suite on ajoute 1ml de Hcl concentré. Après évaporation, on additionne 5 ml de Hcl (1N). Le mélange est filtré après 10 minutes à l'aide du papier filtre. Finalement, le filtrat est ajusté dans une fiole à jager de 50 ml par l'ajout de Hcl (1 N). Cette solution minérale est utilisée pour estimer la quantité des éléments minéraux suivants : K, Mg, Mn, Cu, Fe, Zn et Ni par Spectrométrie d'Emission Atomique de Plasma d'Argon à Couplage Inductif (ICP -AES). La teneur en élément minéral est donnée par l'expression suivante :

$$\text{Elément minéral} = \left(\frac{(A - T) \times B}{C} \right) \times F$$

Où

A : Concentration du métal dans la solution dosée (mg/l)

T : Concentration du métal dans le témoin (mg/l)

B : Volume final de l'échantillon (ml)

C : Poids d'échantillon utilisé (g)

F : Facteur de dilution.

5. Analyses statistiques

Les données obtenues sont soumises à des analyses statistiques : une analyse de variance (ANOVA) et une corrélation de Pearson ($\alpha = 0,05$) à l'aide du logiciel SPSS (IBM SPSS Statistics 20). Ensuite, la classification des cultivars est effectuée par l'analyse en composantes principales (ACP) en utilisant le logiciel XLSTAT (2017) et l'analyse hiérarchique ascendante selon la méthode d'agrégation UPGMA par le logiciel STATISTICA StatSoft (1997).

III. Résultat et discussion

1. Description statistique des paramètres

Les moyennes des paramètres biochimiques étudiés sur le fruit sont présentées dans les tableaux 13 et 14. L'ensemble de ces paramètres montrent des différences significatives ou hautement significatives entre les cultivars étudiées pour l'ensemble des paramètres à l'exception des protéines et du potassium.

1.1. Matière sèche

La matière sèche des prunes est de l'ordre de 10% chez le cultivar Safra et 20,33% chez le cultivar Stanley, avec une moyenne générale de 16,67%. Ces valeurs sont similaires à celles obtenues chez d'autres cultivars de différentes origines telle que : les cultivars polonais :

12,70 - 19,90% (Walkowiak-Tomczak et al., 2008), les cultivars pakistanais : 10,83– 29,60% (Nisar et al., 2015b), les cultivars espagnol : 10,60– 19,35% (Lozano et al., 2009), les cultivars turc : 10,15– 25,48% (Nergiz et yildiz, 1997) et les cultivars roumains : 15,71-25,20%r (Ionica et al., 2013).

1.2. Teneur en cendres

La teneur totale en cendres est comprise entre 0,93% pour le cultivar Dlahi et 3,67% pour le cultivar Black-amber avec une moyenne de 1,93%. Ces valeurs sont comparables à celles trouvées par Nisar et al. (2015b) (1,24-5,46%) chez la prune pakistanaise, et supérieures à celles obtenues par Lozano et al. (2009) (0,19-0,53%) chez les cultivars espagnol et par Nergiz et yildiz (1997) (0,37-0,9%) chez les cultivars turc. Ces différences peuvent être attribuées au cultivar, à l'année de récolte et aux conditions qui l'accompagnent telles que le climat, l'origine géographique et les méthodes de culture. En effet, différentes valeurs de température, de précipitations et de lumière peuvent influencer la composition chimique des fruits (Vursavus et al., 2006; Walkowiak-Tomczak et al., 2008; Głowacka et Rozpara, 2017).

1.3. Fibres

Avec une valeur moyenne de 0,45%, la teneur en fibre se situe entre 0,29% pour le cultivar Lbide et 0,71% pour le cultivar Stanley. Ce résultat est en accord avec les résultats obtenus chez les cultivars italiens : 0,56% (Lombardi-boccia et al., 2004). En effet, la fibre alimentaire est essentielle au bon fonctionnement du transit intestinal et à la santé globale de l'homme, car elle est métabolisée par notre microbiote intestinal en produits qui influencent l'ensemble de nos métabolismes.

1.4. Le potentiel d'hydrogène de jus (pH)

D'après les résultats obtenus, le pH moyen des fruits pour les 15 cultivars varie de 2,64 pour le cultivar Safra-rkika à 3,33 pour le cultivar Stanley avec une moyenne générale de 2,98. Ces valeurs sont similaires à celles trouvées chez 16 génotypes de prunier européen en Pakistan : 2,27-3,20% (Nisar et al., 2015b) et chez six cultivars de prunier japonais en Espagne : 3,14-3,42% (Lozano et al. 2009). Cependant, ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par Gil et al. (2002) (3,84-4,35%), Nergiz et yildiz (1997) (3,20-4,00%) et Bozhkova (2014) (3,15-3,73%), respectivement aux États-Unis pour les cultivars de *Prunus salicina* et en Turquie et en Bulgarie pour les cultivars de prunier européen.

1.5. Acidité titrable

Les valeurs de l'acidité titrable qui permet de nous donner une indication sur la maturité est de 0,78% chez le cultivar Stanley, 0,87% chez le cultivar Lmozari et 0,98% chez le le cultivar Fortune, Tandis que la valeur la plus élevée est celle de cultivar Safra-rkika (1,78%). Ces valeurs sont en accords avec celles enregistrées chez les cultivars de prunier en Espagne : 0,85-1,85% (Lozano et al., 2009), chez les cultivars de prunier en Bulgarie : 0,55-1,28% (Bozhkova, 2014), mais elles sont plus élevées que celles trouvées chez les cultivars de prunier en États-Unis : 0,31-0,48% (Gil et al., 2002), chez les cultivars de prunier roumains : 0,34-0,77% (Ionica et al., 2013), par contre elles sont inférieures à celles obtenues chez les cultivars de prunier pakistanais : 1,49-2,34% (Nisar et al., 2015b) et chez les cultivars de prunier turcs : 0,92-2,34% (Nergiz et yildiz, 1997).

1.6. Teneur en solides solubles totaux

Pour le total solide soluble, les valeurs sont comprises entre 5,72% pour Frigo et 10,14% pour Safra-rkika avec une moyenne générale de 7,91%. Ce résultat est inférieur par rapport à celui trouvé pour les cultivars pakistanais (8,17-16,23%) par Nisar et al. (2015b), pour les cultivars bulgares (15,6-22,19%) par Bozhkova (2014), pour les cultivars roumains (12,40-20,43%) par Ionica et al. (2013) et pour les cultivars polonais (15,1-21,4%) par Głowacka et Rozpara (2017).

1.7. Acide ascorbique

La teneur la plus élevée en vitamine C a été enregistrée pour le cultivar Lmozari (249,33 mg / kg), et la plus faible a été observée pour le cultivar Lbyade1 (105,60 mg / kg) avec une moyenne de 146,19 mg / kg. Ces valeurs sont proches de celles établies dans la littérature pour les cultivars turcs (58,2-284,2 mg / Kg) par Nergiz et yildiz (1997), et supérieurs à celles obtenues par Nisar et al. (2015b) (52,51-137,6 mg / Kg) en Pakistan, par Gil et al. (2002) (20,5-102 mg / Kg) en Espagne et par Bozhkova (2014) (33,6-119,2 mg / Kg) en Bulgarie. En outre, La prune est une bonne source de vitamine C, qui joue un rôle multiple, en tant que composé antioxydant, et nécessaire pour la synthèse de neurotransmetteurs et de collagène, principale protéine de notre peau (Li et Schellhorn, 2007). L'apport quotidien pour les adultes en vitamine C est d'environ 82,5 mg, donc la consommation de prune peut répondre à ce besoin quotidien.

1.8. Protéines brutes

Les teneurs en protéines enregistrées sont très faibles. Ces valeurs sont comprises entre 0,51% pour le cultivar Safra et 0,88% pour le cultivar Lmozari avec une valeur moyenne de 0,66%. Les teneurs sont similaires à celles obtenues par Lozano et al. (2009) (0,38-0,96%) en Espagne, par Rop et al. (2009) (0,63-0,79%) en République tchèque et par Nergiz et yildiz (1997) (0,59-1,09%) en Turquie. En effet, la consommation de protéines végétales peut jouer un rôle dans la gestion du poids et réduire le risque de maladie chronique (Marsh et al., 2013).

1.9. Sucres totaux

Les sucres totaux sont parmi les constituants les plus importants dans les prunes. Leurs valeurs chez les cultivars étudiés présentent une grande variation (34,63 à 93,04 mg/g). Certains cultivars tels que Safra, Hamra et lbyade ont des valeurs élevées. En effet, les fruits les plus riches en sucres sont mieux pour le séchage et la transformation. Ces valeurs sont comparables à celles trouvées par Nisar et al. (2015b) (67,17-105,07 mg / g) chez les cultivars pakistanais et par Bozhkova (2014) (69,6-123,1 mg / g) chez les cultivars roumains, et inférieurs à celles rapporté par Nergiz et yildiz (1997) (64-147,4 mg / g) chez les cultivars turcs et Dimkova et al. (2018) (100,8-144,6 mg / g) chez les cultivars bulgares.

1.10. Polyphénols totaux

La détermination de la teneur en composés phénoliques des fruits suscite de plus en plus d'intérêt, grâce à ses molécules bioactives et ses propriétés antioxydantes (Anderson et al., 2001 ; Fukuda et al., 2003). La valeur moyenne de la teneur en composés phénoliques est de 6,8 mg GAE / g MF. Cependant les valeurs les plus élevées se trouvent chez les cultivars Lmozari (9,39 mg GAE/g MF), Stanley (9,32 mg GAE/g MF) et Fortune (9,39 mg GAE/g MF), tandis que les valeurs les plus faibles sont obtenues chez les cultivars Lbyade2 (3,15 mg GAE/g MF) et Lbide (4,10 mg GAE/g MF). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Nisar et al. (2015b) (2,63-9,92 mg/g) pour la prune du Pakistan et par Rop et al. (2009) (2,27-4,95 mg / g) pour la prune de la République tchèque, mais ils sont plus élevés que ceux enregistrés par Gil et al. (2002) (0,42-1,092 mg / g) et Kim et al. (2003a; 2003b) (1,74-3,75 mg / g; 1,25-3,726 mg / g) pour la prune des États-Unis, par Lozano et al. (2009) (0,945-2,024 mg / g) pour la prune d'Espagne et Rupasinghe et al. (2006) (0,86-4,13 mg / g) pour la prune canadienne. Selon Kim et al. (2003b), en plus du facteur cultivar, les différents niveaux de contenu phénolique peuvent être due également à d'autres facteurs, tel que l'origine géographique, les saisons de croissance, autres pratiques agricoles et les différences dans les méthodes analytiques. L'un des principaux bienfaits potentiels pour la santé des composés

phénoliques présents dans les légumes et les fruits est leur activité antioxydante, qui protège les lipoprotéines de basse densité (LDL) de l'oxydation et un facteur important dans la prévention des maladies cardiovasculaires (Byrne et al., 2008), et elles sont donc considérées comme prévenant de diverses maladies liées à l'âge (Fang et al., 2002).

1.11. Pouvoir antioxydant

L'activité antioxydante est estimée par le pourcentage de piégage des radicaux libre de DPPH. Les résultats obtenus montrent une valeur moyenne générale de 58,06%. La valeur la plus élevée a été enregistrée chez le cultivar Tabarkakacht dont le pourcentage de l'activité antioxydante est de 70.65 %. Alors que la valeur la plus faible a été observée chez le cultivar Safra avec une activité antioxydante de 42.19 %. Le présent résultat est en accord avec celui publié par Nisar et al. (2015b) (60-73%) pour les cultivars pakistanais. Il est à noter que l'activité antioxydante de la prune est supérieure à celle de la nectarine et des pêches (Gil et al. 2002). Les antioxydants présents dans les fruits ont la capacité de produire une résistance dans les tissus contre les maladies et les conditions de stress (Nisar et al., 2015b).

1.12. Anthocyanes

L'anthocyanine joue un rôle bénéfique pour la santé humaine et s'est avérée être des composés essentiels dotés d'une activité antioxydante (cevallos-casals et al. 2006). La teneur en anthocyanes pour les cultivars étudiés se situent entre 97,26 mg/100g MF et 200,60 mg/100g MF, avec une moyenne de 136,54 mg/100g. Les valeurs les plus élevées ont été obtenues chez les cultivars Tabarkakacht (200,6 mg/100g), Frigo (200,42mg/100g) et Hamra (200.24mg/100g), alors que les teneurs les plus faibles ont été obtenues chez les cultivars Safra-rkika (97.26 mg/100g) et Lbyade1 (100.06mg/100g). On remarque que ces valeurs sont plus élevées que celles rapportées par Nisar et al. (2015b) (14,23-212,38 mg / 100g) et par cevallos-casals et al. (2006) (33-173 mg/100g), respectivement en Pakistan pour des cultivars de *P. domestica* et en États-Unis pour du prunier rouge de *P. salicina*.

1.13. Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont généralement responsables de la prévention de l'oxydation des graisses et de la protection des vitamines et des enzymes, contribuant ainsi à la protection contre les maladies. Les flavonoïdes ont des propriétés biologiques étendues qui favorisent la santé humaine et réduisent le risque de maladies (Tiwari et Husain, 2017). Les cultivars Lmozar, Hamra et Tabarkakacht ont présenté les teneurs les plus élevées en flavonoïdes (2,87mg CE/g MF, 2,77 mg CE/g MF, 2,46 mg CE/g MF respectivement). Par contre, le

cultivar Safra-rkika a présenté la faible teneur en flavonoïdes (0,21 mg CE / g MF) avec une moyenne générale de 1,24 mg CE/g MF. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Kim et al.(2003a; 2003b) (0,648-2,575 mg/g; 1,18-2,37 mg/g) pour des cultivars de prunier en États-Unis.

1.14. Eléments minéraux

Macroéléments :

La teneur en potassium (K) des prunes de cultivars étudiés semble plus élevée avec des valeurs moyennes qui varient entre 178,36 mg/100g et 283,58 mg / 100g de matière fraîche chez les cultivars Fortune et Safra-rkika, respectivement. Ces données sont en accord avec les résultats obtenus par d'autres chercheurs tels que : Rop et al. (2009) (159,63-397,63 mg / 100g) chez des cultivars de prunier en République tchèque, Nergiz et yildiz (1997) (160,17-313,52 mg / 100g) chez des cultivars de prunier en Turquie et Lombardi-boccia et al. (2004) (174 mg / 100g) chez des cultivars de prunier en Italie. En effet, il a été démontré que la teneur élevée en potassium des prunes a un effet positif sur la santé humaine, principalement dans la prévention des maladies cardiovasculaires (Stacewicz-Sapuntzakis et al., 2001).

Concernant les taux en magnésium (Mg), les valeurs moyennes sont de 13,56 mg/100 à 22,3 mg/100g de matière fraîche. Les teneurs en matière fraîche les plus élevées sont enregistrées chez les cultivars Black-amber, Safra, Frigo et Stanley. Les valeurs de magnésium pour les prunes marocaines sont supérieures à celles établies par Rop et al. (2009) (6,44-11,62 mg / 100g) pour la prune de la République tchèque, Lombardi-boccia et al. (2004) (4,9 mg / 100 g) pour la prune italienne et par USDA (5 à 9 mg/100 g) (2018). Cependant, ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par Ertekin et al. (2006) (23-26 mg/100g) dans la prune turque. En effet, le magnésium aide à maintenir la fonction nerveuse et musculaire normale, soutient un système immunitaire sain, maintient le rythme cardiaque régulier et assure une bonne ossature.

Microéléments :

Concernant le manganèse (Mn), les quantités enregistrées sont très faibles. Les valeurs minimales et maximales sont obtenues chez les cultivars Frigo et Safra-rkika (0,18 et 0,90), respectivement. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Ertekin et al. (2006) (0,26-0,37 mg / 100g), et plus élevés à ceux rapportés par l'USDA (0,018-0,094 mg / 100g). Le manganèse intervient au métabolisme des glucides, des acides aminés et du cholestérol.

L'apport journalier recommandé pour les adultes de manganèse s'étend de 1,8 mg à 2,3 mg, et la consommation de prune permet d'assurer ces valeurs quotidiennes.

Le cuivre (Cu) représente un élément minéral de concentration faible dans les prunes de fait qu'il n'a pas dépassé 1,22 mg / 100g de matière fraîche. Ces données sont supérieures à celles établies par l'USDA (2018) (0,015-0,151 mg / 100g), et inférieures à celles rapportées par Ertekin et al. (2006) (1,38-4,64 mg / 100 g). En effet, le cuivre est nécessaire à la formation du tissu conjonctif, ainsi qu'au fonctionnement normal du cerveau et du système nerveux. L'apport quotidien requis pour un humain adulte est d'environ 900 µg, et la consommation de prune couvre ce quotidien recommandé.

Le fer est un élément nécessaire à la synthèse de l'hémoglobine, de certaines hormones et aide au bon fonctionnement des enzymes antioxydantes. La teneur moyenne en fer a enregistré une valeur de 1,31mg/100g. Il apparaît clairement que les cultivars Black-amber, Frigo, Safra, Stanley et Tabarkakacht sont les plus pauvres en teneur de fer (1,12 mg / 100g), tandis que le cultivar Lmozari est le plus riche (1,78 mg / 100g). Généralement ces valeurs sont plus élevées que celles rapportées par l'USDA (0,07-0,59 mg / 100g) et par Nergiz et yildiz (1997) (0,115-0,943 mg / 100g), et sont moins à celles obtenues par Ertekin et al. (2006) (2-2,1 mg / 100 g) chez les cultivars de prunier (*P. domestica*).

La quantité la plus élevée de zinc est enregistrée chez les cultivars Lbayda (2,02 mg/100g) et Hamra (1,47 mg/100g), alors que celle la plus faible se trouve chez le cultivar Black-amber (0,84 mg/100g), avec une moyenne générale de 1,13 mg /100g. Ce résultat est similaire à celui présenté par Ertekin et al. (2006) (1,12-1,47 mg / 100g) chez les cultivars de prunier en Turc, et plus élevé que celui rapporté par l'USDA (2018) (0,04-0,3 mg / 100g). Le Zinc est indispensable pour la synthèse des coenzymes, des protéines, à la transcription génétique et à la structure des hormones. De plus le zinc est nécessaire pour une croissance normale, la fonction immunitaire et la cicatrisation des plaies.

Les teneurs moyennes en nickel est de l'ordre de 1,09 mg/100g. Ces teneurs présentent une variation assez faible entre les cultivars étudiés. Dans le corps humain, le nickel est utilisé pour augmenter l'absorption du fer, prévenir l'anémie et traiter les os fragiles.

Pour l'ensemble des éléments minéraux, on note l'ordre décroissant de leur teneurs chez les cultivars étudiés suivant : K> Mg> Fe> Zn> Cu> Ni> Mn. Ce résultat est en accord avec

celui obtenu par la base de données nationale de la composition des aliments pour les références standards (USDA, 2018): K> P> Mg> Ca> Fe> Zn> Cu> Mn. De même, on note qu'à l'exception du Zinc (Zn), ce classement est proche de celui obtenu par Ertekin et al. (2006) chez des cultivars de prunier en Turquie (K> Mg> Fe> Cu> Zn> Mn).

Tableau 13: Valeurs moyennes des paramètres biochimiques de 15 cultivars de pruniers.

Paramètres	BLA	DLH	FOR	FRI	HAM	LBA	LBI	LBY1	LBY2	LMO	SAF	SAR	SARK	STA	TAB	Mean	F
DM (%)	19,33	13,00	18,33	10,67	20,00	19,00	12,33	15,00	14,67	19,33	10,00	19,33	19,67	20,33	19,00	16,667	5.06***
M (%)	80,67	87,00	81,67	89,33	80,00	81,00	87,67	85,00	85,33	80,67	90,00	80,67	80,33	79,67	81,00	83,333	5.06***
Ash (%)	3,67	0,93	3,27	1,73	1,47	1,47	2,07	1,60	1,40	1,80	1,13	1,67	1,60	2,67	2,53	1,933	4.07***
Fiber (%)	0,53	0,49	0,48	0,53	0,51	0,41	0,29	0,38	0,47	0,49	0,31	0,37	0,37	0,71	0,38	0,448	2.14*
pH	3,05	3,25	3,11	2,90	2,72	2,86	2,98	3,05	3,01	3,31	2,78	2,87	2,64	3,33	2,80	2,977	25.78***
TA (%)	1,37	1,01	0,98	1,76	1,71	1,22	1,36	1,38	1,62	0,87	1,47	1,64	1,78	0,78	1,62	1,37	2.46*
TSS (%)	6,76	7,79	7,54	5,72	9,37	8,07	6,19	7,44	7,06	9,00	6,26	9,37	10,14	9,34	8,70	7,916	4.24***
Vit C (mg/kg)	130,83	176,00	144,91	111,47	130,24	145,49	124,96	105,60	111,47	249,33	129,07	114,4	211,13	132,00	176,00	146,193	3.63***
Prot (%)	0,58	0,58	0,66	0,66	0,80	0,73	0,58	0,58	0,66	0,88	0,51	0,62	0,73	0,66	0,66	0,659	0.27
TS (mg/g)	43,30	75,31	42,23	34,63	90,40	67,83	56,54	62,54	85,15	48,28	93,04	43,74	89,85	55,63	56,13	62,974	3.65***
PC (mgGAE/g)	7,02	8,61	8,81	7,28	7,70	5,75	4,10	6,02	3,15	9,39	4,81	7,06	5,05	9,32	7,93	6,799	6.73***
RSA (%)	65,48	56,86	65,08	66,58	65,69	64,95	52,66	52,15	51,14	63,56	42,19	45,47	52,26	56,11	70,65	58,055	12.66***
Ant (mg/100g)	180,56	100,29	100,98	200,42	200,24	100,26	100,34	100,06	100,32	100,27	100,17	166,13	97,26	200,13	200,60	136.54	2.38*
Flv (mgCE/g)	1,77	0,69	2,30	1,00	2,77	0,64	0,36	0,60	0,46	2,87	0,52	0,86	0,21	1,12	2,46	1,247	11.48***

Tableau 14: Valeurs moyennes des éléments minéraux de 15 cultivars de pruniers.

Paramètres	BLA	DLH	FOR	FRI	HAM	LBA	LBI	LBY1	LBY2	LMO	SAF	SAR	SARK	STA	TAB	Mean	F
K (mg/100g)	225,23	204,20	178,36	187,00	213,39	218,86	249,92	214,38	258,37	239,35	218,46	280,86	283,58	274,08	200,57	229.77	0.42
Mg (mg/100g)	22,30	13,56	17,55	21,70	15,45	17,17	21,22	17,32	17,44	18,85	22,04	19,12	18,21	21,35	20,77	18.941	2.44*
Mn (mg/100g)	0,382	0,859	0,236	0,181	0,602	0,594	0,203	0,561	0,598	0,525	0,382	0,643	0,901	0,366	0,569	0.506	2.73**
Cu (mg/100g)	1,08	1,12	1,11	1,07	1,12	1,12	1,11	1,10	1,15	1,22	1,07	1,10	1,15	1,08	1,07	1.116	11.28***
Fe (mg/100g)	1,12	1,29	1,25	1,12	1,41	1,27	1,35	1,36	1,74	1,78	1,12	1,23	1,40	1,12	1,12	1.315	13.72***
Zn (mg/100g)	0,849	1,38	0,966	0,850	1,478	2,028	1,20	1,12	1,15	1,33	0,85	0,96	1,17	0,85	0,85	1.137	5.27***
Ni (mg /100g)	1,092	1,095	1,092	1,092	1,098	1,096	1,093	1,093	1,097	1,102	1,093	1,093	1,094	1,093	1,092	1.094	4.15***

2. Corrélations entre les paramètres biochimiques.

La matrice des corrélations entre les paramètres biochimiques étudiés est résumée dans le tableau 15. L'analyse de ce tableau montre des corrélations positives entre les paramètres suivants:

- La teneur en solides solubles totaux et la teneur en matière sèche ($r = 0,81$ ***), le Mn ($r = 0,64$ **) et la teneur en protéine ($r = 0,59$ *).
- La teneur en flavonoïdes avec le pourcentage du piégeage du radical DPPH ($r = 0,70$ **) et avec la teneur en polyphénols ($r = 0,68$ **).
- La teneur en polyphénols avec le pourcentage du piégeage du radical DPPH ($r = 0,53$ *)
- La vitamine C et la teneur en protéine ($r = 0,58$ *) et aussi le Cu ($r = 0,57$ *).
- La fibre et la teneur en polyphénols ($r = 0,61$ *) et aussi le pH ($r = 0,59$ *).
- La teneur en sucres et l'élément Mn ($r = 0,56$ *).
- Le fer (Fe) avec le cuivre (Cu) ($r = 0,92$ ***) et avec la teneur en protéine ($r = 0,57$ *)).
- Le Ni et Cu ($r = 0,85$ ***), Fe ($r = 0,82$ ***), la teneur en protéine ($r = 0,77$ ***), et l'élément Zn ($r = 0,61$ *)
- Le Cu et la teneur en protéine ($r = 0,57$ *).

De même, des corrélations négatives et significatives ont été également enregistrées entre les paramètres suivants :

- Le pH avec l'acidité titrable ($r = -0,86$ ***) ,
- La teneur en humidité avec le total solides solubles ($r = -0,81$ ***) plus la teneur en protéines ($r = -0,59$ *).
- Le pourcentage du piégeage du radical DPPH et l'élément K ($r = -0,58$ *).
- Les cendres et la teneur en sucres ($r = -0,57$ *).
- La teneur en polyphénols et le pourcentage de l'acidité titrable ($r = -0,56$ **)
- Le Mg avec Mn ($r = -0,65$ **) et avec Zn ($r = -0,64$ **).

De plus, la teneur en polyphénols des cultivars de pruniers marocains présente une corrélation avec l'activité antioxydante ($r = 0,53$ *). Ce résultat est comparable à celui trouvé par Gil et al. (2002) ($r = 0,94$), Kim et al. (2003a) ($r = 0,93$) chez la prune des États-Unis et par Rop et al. ($r = 0,89$) chez la prune de République tchèque. De même, la teneur en

flavonoïdes des prunes montre une forte association avec l'activité antioxydante ($r = 0,70^{**}$). Cette donnée est conforme à celle rapportée par Kim et al. (2003a) ($r = 0,94$) pour le prunier des États-Unis.

Tableau 15: Coefficient de corrélation de Pearson de l'ensemble des paramètres biochimiques analysés.

	DM	M	Ash	Fiber	pH	TA	Vit C	TSS	TS	PC	Flv	Ant	RSA	Prot	K	Mg	Mn	Cu	Fe	Zn	Ni
DM		***	ns	ns	ns	ns	ns	***	ns	ns	*	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
M	-1		ns	ns	ns	ns	ns	***	ns	ns	*	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Ash	0.44	-0.44		ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
Fiber	0.34	-0.34	0.36		*	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
pH	0.03	-0.03	0.26	0.59		*	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
TA	-0.17	0.17	-0.27	-0.46	-0.86		ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Vit C	0.29	-0.29	0.01	0.08	0.12	-0.29		ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	*	ns	ns	*
TSS	0.81	-0.81	-0.05	0.18	-0.07	-0.07	0.39		ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns
TS	-0.06	0.06	-0.57	-0.23	-0.47	0.32	0.19	0.25		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
PC	0.43	-0.43	0.35	0.63	0.51	-0.56	0.33	0.38	-0.46		**	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Flv	0.50	-0.50	0.44	0.34	0.16	-0.21	0.38	0.28	-0.26	0.68		ns	**	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Ant	0.29	-0.29	0.37	0.50	-0.11	0.24	-0.19	0.15	-0.28	0.42	0.42		ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
RSA	0.37	-0.37	0.46	0.40	0.09	-0.12	0.34	0.05	-0.35	0.53	0.70	0.43		ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Prot	0.59	-0.59	-0.06	0.27	0.01	-0.09	0.58	0.59	0.10	0.34	0.56	0.07	0.49		ns	ns	ns	**	*	ns	***
K	0.32	-0.32	-0.12	-0.02	-0.02	0.07	0.04	0.48	0.25	-0.30	-0.40	-0.07	-0.58	0.10		ns	ns	ns	ns	ns	ns
Mg	-0.14	0.14	0.47	-0.01	-0.07	0.11	-0.11	-0.35	-0.39	-0.11	-0.03	0.37	-0.05	-0.31	0.14		**	ns	ns	**	ns
Mn	0.31	-0.31	-0.51	-0.15	-0.20	0.17	0.30	0.64	0.56	-0.05	-0.16	-0.23	-0.18	0.23	0.34	-0.65		ns	ns	ns	ns
Cu	0.25	-0.25	-0.30	-0.04	0.23	-0.22	0.57	0.37	0.21	-0.005	0.16	0.53	-0.01	0.70	0.31	-0.45	0.40		***	*	***
Fe	0.10	-0.10	-0.34	-0.06	0.19	-0.07	0.32	0.20	0.30	-0.20	0.10	-0.50	-0.09	0.57	0.29	-0.44	0.32	0.92		ns	***
Zn	0.18	-0.18	-0.46	-0.13	-0.07	-0.13	0.22	0.22	0.33	-0.11	-0.05	-0.40	0.17	0.48	-0.02	-0.64	0.41	0.50	0.41		*
Ni	0.25	-0.25	-0.38	0.15	0.19	-0.21	0.50	0.33	0.32	0.09	0.34	-0.25	0.15	0.77	0.15	-0.44	0.33	0.85	0.82	0.61	

Signification : * P<0.05, ** P< 0.01, ***P<0,001, ns : Non significative.

3. Analyse des composantes principales

Les résultats obtenus de l'ACP ont montrés que 53,49% de la variation totale est représenté par les deux premières composantes. 29,07% de la variabilité est exprimé par la première composante (PC1), alors que 24,42% est expliqué par la deuxième composante (PC2) (Figure 17). Les paramètres contribuant positivement le plus à la formation de PC1 sont la teneur en protéine, l'élément Ni, l'élément Cu, le total solides solubles et la matière sèche. Par contre, la PC2 est corrélée positivement aux cendres, polyphénols, pourcentage du piégeage du radical DPPH, anthocyanes et flavonoïdes et négativement à la teneur en sucre.

La dispersion des cultivars étudiés sur le plan formé des deux premiers axes montre la formation de trois groupes de cultivars (Figure 17). Le premier groupe (G.1) composé de six cultivars (Lmozari, Hamra, Lbayda, Dlahi, Safra-rkika et Lbyade 2), caractérisé par des valeurs élevées de solides solubles totaux, de l'acidité titrable, des protéines, des éléments Mn et Zn. Le deuxième groupe (G.2) est formé de cinq cultivars (Stanley, Fortune, Black-amber, Tabarkakacht et Frigo). Ce groupe se distingue par des valeurs élevées de cendres, de fibres, de pourcentage du piégeage du radical DPPH et d'anthocyanes. Quant au troisième groupe (G.3) qui est constitué de quatre cultivars (Santa-rosa, Lbyade 1, Lbide et Safra), il se caractérise surtout par une faible quantité de protéines. D'autre part, cette structuration des cultivars de prunier marocain en trois groupes s'opère indépendamment de leurs origines géographiques. Ce résultat confirme celui obtenu dans la première partie de ce travail par les paramètres pomologiques et morphologiques. Ce même résultat, la structuration des cultivars indépendamment de l'origine géographique a été également obtenue par Ben Tamarzizt et al. (2015) chez les cultivars de prunier tunisien.

4. Classification hiérarchique ascendante

L'analyse de l'ensemble des données biochimiques des quinze cultivars de prunier a permis d'obtenir un dendrogramme selon la méthode d'UPGMA et la distance génétique City-block. Ce dendrogramme a conduit à identifier deux grands groupes (Figure 18). Le premier groupe se divise en deux sous-groupes. Le premier sous-groupe I.1 est formé des cultivars Black-amber, Hamra, Lbayda, Safra, Lbyade 1 et Dlahi, et le second sous-groupe I.2 est composé des cultivars Fortune, Frigo et Tabarkakacht. De même, le deuxième groupe est également subdivisé en deux sous-groupes. Le premier sous-groupe (II.1) est formé de cultivars Lbide, Lbayde 2, Lmozari, et le second sous-groupe (II.2) est composé de cultivars Santa-rosa, Stanley et Safra-rkika.

D'après cette classification, on note que les deux cultivars ayant les mêmes appellations (Lbyade 1 de Taounate et Lbyade 2 de Marrakech) sont regroupés dans des groupes différents. Ce résultat soutient encore l'hypothèse de fausse appellation (homonymie) qui peut être avancée ou celle de variétés polyclonales. Les problèmes de fausse appellation (homonymie et synonymie) se sont rencontrés aussi chez le prunier de la Tunisie (Ben Tamrzizt et al, 2009 ; 2012).

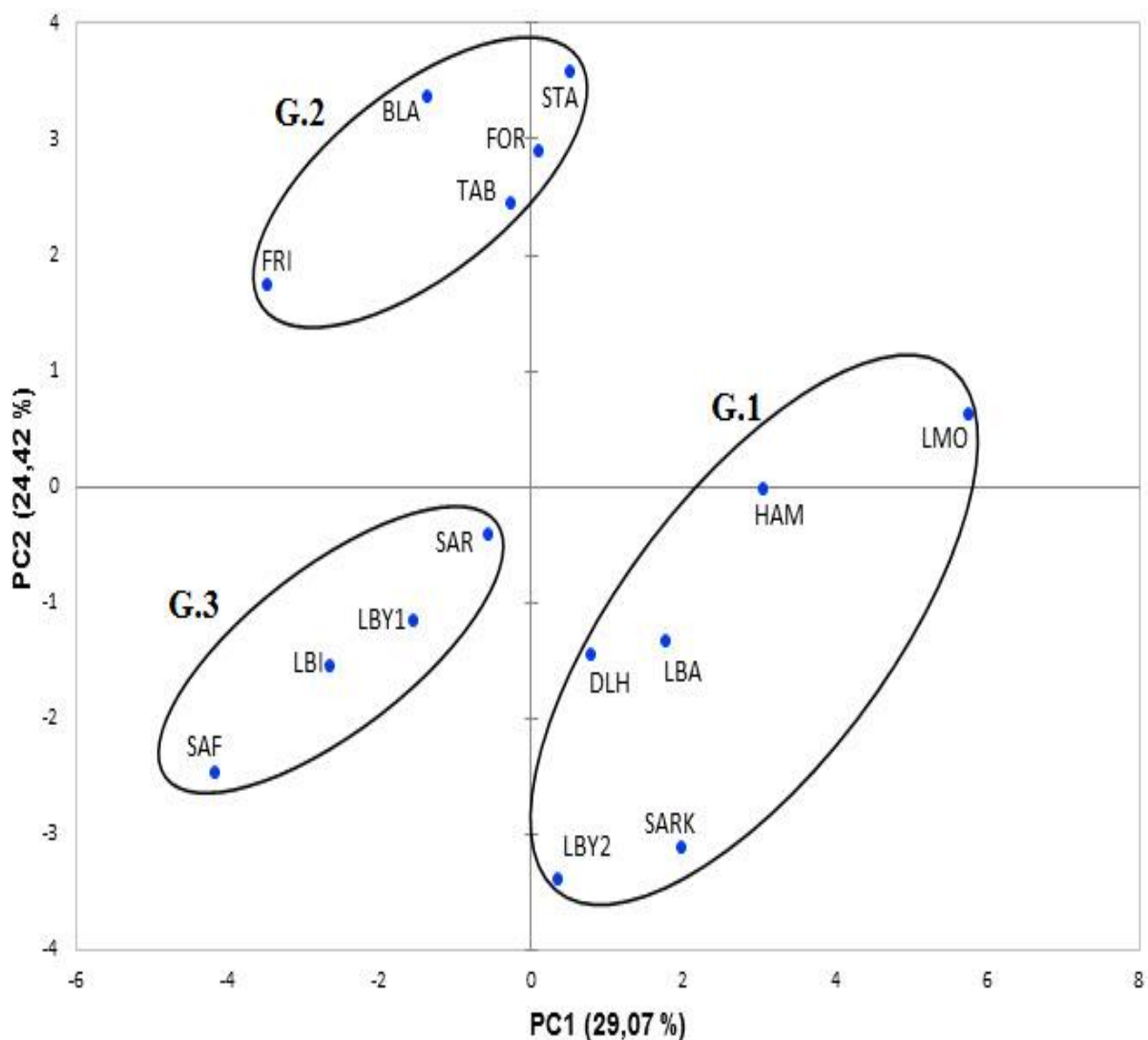


Figure 17: Analyse en composantes principales des quinze cultivars de prunier selon les différents paramètres biochimiques.

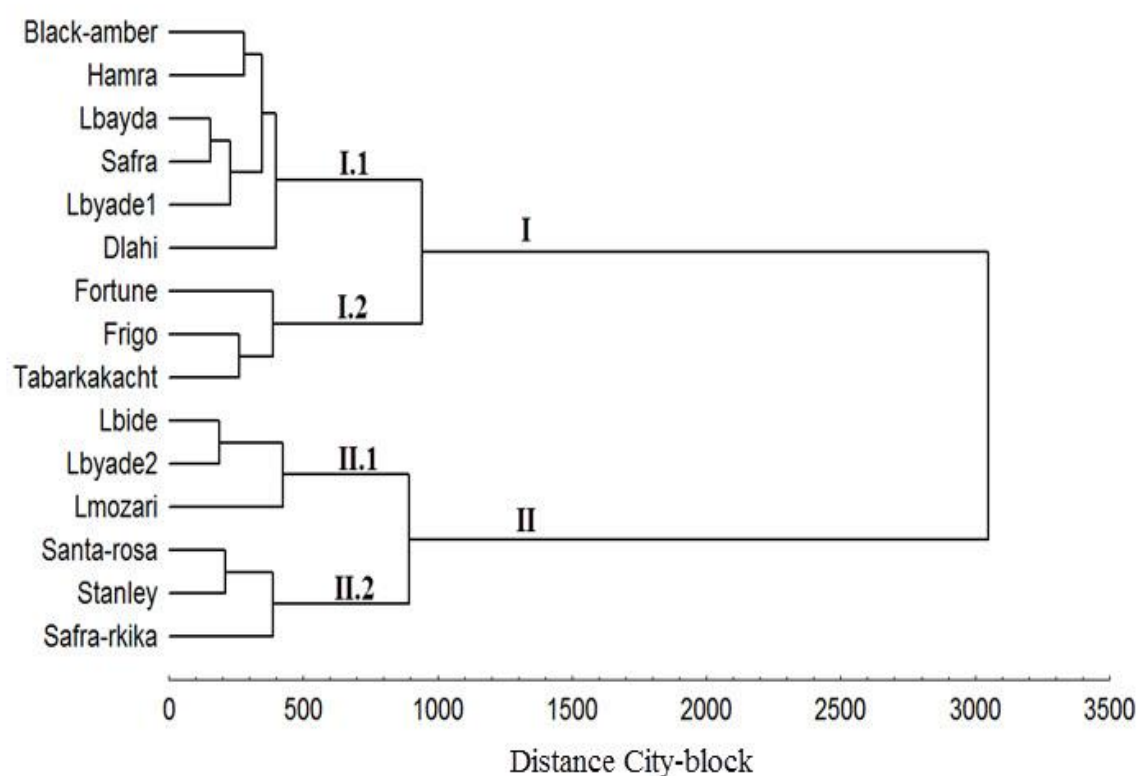


Figure 18: Dendrogramme généré par les paramètres biochimiques étudiés chez les quinze cultivars marocains du prunier.

IV. Conclusion

Dans cette partie, l'étude de la variabilité biochimiques à travers la mesure de la teneur en matière sèche, humidité, cendres, fibres, pH, acidité titrable, vitamine C, solides solubles totaux, sucres, protéines, polyphénols, anthocyanes, flavonoïdes et activité antioxydante ainsi que les éléments minéraux (K, Mg, Mn, Cu, Fe, Zn et Ni) du prunier, a montré l'existence d'une variabilité biochimique importante entre les 15 cultivars étudiés. Cette variabilité pourrait être due principalement à une différence génétique entre les cultivars étudiés. Cependant, d'autres facteurs comme les conditions environnementales, la composition élémentaire du sol et l'itinéraire technique de la culture, peuvent être également à l'origine de cette variabilité.

D'autre part, les résultats obtenus montrent que les cultivars de pruniers marocains sont riches en constituants nutritionnels et chimiques. Ils présentent des teneurs élevées en vitamine C (105,60 – 249,33 mg/Kg), en sucres (34,63 – 93,04 mg/g MF) et en flavonoïdes

(0,21 – 2,87 mg CE/g MF). Cette teneur en flavonoïdes est très corrélée avec l'activité antioxydante ($r = 0,70^{**}$). Aussi, les cultivars de pruniers ont révélé une richesse importante en éléments minéraux, essentiellement le potassium (178,36 – 283,58 mg/100g MF), le cuivre (1,07 – 1,22 mg/100g MF) et le manganèse (0,18 – 0,90 mg/100g MF). De plus, les prunes peuvent être considérées comme une bonne source de composés naturels à activité antioxydante. Le cultivar Lmozari a présenté des valeurs élevées de la teneur en vitamine C, en protéines, en polyphénols, en flavonoïdes, en cuivre et en fer. Il devrait être considéré comme le meilleur cultivar à consommer. Ces variations biochimiques ouvrent la voie vers la sélection de cultivars intéressants et de dresser ainsi des recommandations pratiques pour encourager la culture et la consommation de prunier. En effet, la prune est une excellente source de nutriments et contribue largement à la nutrition humaine (Cao et al., 1997), et est également une source importante de composés influençant la santé humaine et prévenant l'apparition de nombreuses maladies (Stacewicz-Sapuntzakis et al., 2001).

En outre, l'analyse en composante principale et la classification hiérarchique montrent que les cultivars étudiés sont regroupés indépendamment de leurs origines géographiques, bioclimat et dénomination locale. De plus, la classification hiérarchique a révélé des problèmes de fausse appellation. Étant donné que l'appellation des cultivars de prunier est basée essentiellement sur les traits relatifs aux fruits, en conséquence, plusieurs problèmes de fausse appellation sont rencontrés (synonymie et homonymie). En effet, le problème de fausse appellation rend parfois la tâche difficile à entreprendre des actions de conservations du germoplasme. Ainsi, le typage moléculaire et l'établissement des empreintes génétiques des cultivars sera d'un apport considérable dans la résolution de ce problème et contribuera efficacement à la conservation du germoplasme de cette espèce.

CHAPITRE IV :

**ANALYSE DE LA VARIABILITE
GENETIQUE DES CULTIVARS
DU PRUNIER PAR LES
MARQUEURS MOLECULAIRES
ISSRs.**

I. Introduction

La première analyse de la variabilité génétique des cultivars étudiés par l'utilisation des marqueurs phénotypiques est indispensable ; cependant, ces derniers ne suffisent pas pour accomplir une identification ou une classification bien définitive et crédible. D'autant plus que les caractères phénotypiques sont souvent biaisés par les facteurs environnementaux (Bhandari et al., 2017). Egalement, les marqueurs biochimiques ont été utilisés pour l'étude de la diversité des espèces végétales. Mais, ces marqueurs présentent un faible polymorphisme et sont affectés par les fluctuations environnementales, ce qui limite beaucoup leur application aux études sur la diversité génétique (Bhandari et al., 2017). En conséquence, l'usage de nouvelles approches d'ordre moléculaire, s'est avéré incontournable pour identifier des organismes.

A cet égard, les outils moléculaires basés sur l'ADN ont fournis de nouvelles opportunités pour les études de la diversité des ressources génétiques. Ils sont des outils très précis permettant de comparer et différencier les génotypes sans influence de l'environnement (Mondini et al., 2009). Parmi les marqueurs moléculaires qui existent, les marqueurs de type ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) sont très largement utilisés dans les travaux de l'étude de la diversité génétique des espèces végétales. Leurs universalité, reproductibilité et facilité d'utilisation les rends un moyen efficace dans les études de variabilité génomique. Ainsi, ils permettent l'établissement des profils génétiques des génotypes sélectionnés. Par conséquence, une approche moléculaire permettra de fournir une nouvelle image de la structuration de la diversité des ressources génétiques du prunier au Maroc.

Il est très important de signaler que jusqu'à nos jours au Maroc, le prunier n'est pas étudié sur le plan moléculaire. C'est pourquoi, ce présent travail laisse dégager son originalité, nécessitant d'étudier de la diversité génétique des cultivars de prunier marocain par l'utilisation des marqueurs moléculaires ISSRs.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour l'étude de la diversité génétique est constitué de 23 cultivars de prunier (Tableau 16), qui ont fait l'objet d'une caractérisation phénotypiques (Chapitre I) et biochimique (Chapitre II). Parmi ces cultivars, sept sont des variétés introduites et 16 sont des cultivars locaux d'origine inconnue. Ces derniers étaient cultivés localement et

sont dénommés par les agriculteurs sur la base de leurs caractéristiques de fruits. Les cultivars locaux et la variété introduite Stanley appartiennent à l'espèce *Prunus domestica* et les autres variétés introduites appartiennent à l'espèce *Prunus salicina*. Les jeunes feuilles des cultivars ont été collectées pendant l'été de 2016 et mise dans des sacs en plastique avec des étiquettes illustrant le nom du cultivar et le numéro de l'individu, et par la suite conservées à -20 ° C jusqu'à l'extraction de l'ADN.

2. Extraction de l'ADN

L'ADN cellulaire total a été extrait à l'aide d'un kit, Isolate II Plant DNA Kit (Bioline) en suivant les instructions du fabricant. L'intégrité de l'ADN a été estimée par électrophorèse sur gel d'agarose et sa concentration a été quantifiée par spectrophotométrie.

Tableau 16: Appellation et origine géographique de 23 cultivars de pruniers marocains étudiés.

Groupe	Cultivar	Localité	Code	Latitude Nord	Longitude Ouest	Espèce
Marrakech (MAR)	Santa rosa**	Asguine (40 km S de Marrakech)	SAR	31°21	7°45	<i>Prunus salicina</i> Lindl.
	Hamra1*	Anzo1 (19 km S de El Attaouia)	HAM1	30°41	7°16'	<i>Prunus domestica</i> L.
	Hamra2*	Anzo2 (17 km S de El Attaouia)	HAM2	31°41	7°17'	<i>Prunus domestica</i> L.
	Lbyade2*	Asguine (40 km S de Marrakech)	LBY2	31°21	7°45	<i>Prunus domestica</i> L.
	Lbide*	Magaste (46 Km S de Marrakech)	LBI	31°14	7°40	<i>Prunus domestica</i> L.
Beni Mellal (BM)	Fortune**	Sidi Jaber (10 Km O de Beni Mellal)	FOR	32°22	6°26	<i>Prunus salicina</i> Lindl.
	Stanley**	Aghbala (111 Km E de Beni Mellal)	STA	32°28	5°39	<i>Prunus domestica</i> L.
	Tabarkakacht*	Ain Assardoun (2 km S de Beni Mellal)	TAB	32°19	6°19	<i>Prunus domestica</i> L.
	Lbayda*	Ain assardoun (2 km S de Beni Mellal)	LBA	32°19	6°19	<i>Prunus domestica</i> L.
	Safra1*	Sidi Jaber (10 Km O de Beni Mellal)	SAF1	32°22	6°26	<i>Prunus domestica</i> L.
Meknes (MEK)	Black amber**	Bouderbala (24 Km E de Meknes)	BLA	33°49	5°17	<i>Prunus salicina</i> Lindl.
	Lmozari*	Ait Ouallal (40 Km E de Meknes)	LMO	33°48	5°11	<i>Prunus domestica</i> L.
	Safra4*	Amane Syernine (30 Km S de El-Hajab)	SAF4	33°37	5°25	<i>Prunus domestica</i> L.
	Safra rkika*	Amane Syernine (30 Km S de El-Hajab)	SARK	33°37	5°25	<i>Prunus domestica</i> L.
	Royal diamond**	Ain Chifa (7 Km N de Imouzzar-kandar)	ROD	33°46	5°1	<i>Prunus salicina</i> Lindl.
	Angeleno**	Ain Chifa (7 Km N de Imouzzar-kandar)	ANG	33°46	5°1	<i>Prunus salicina</i> Lindl.
	Golden japan**	Ain Chifa (7 Km N de Imouzzar-kandar)	GOJ	33°46'	5°1	<i>Prunus salicina</i> Lindl.
	Hamra3*	Ait Saleh (5 km N de Imouzzar-kandar)	HAM3	33°46'	5°0	<i>Prunus domestica</i> L.
	Safra2*	Ain Chifa (7 Km N de Imouzzar-kandar)	SAF2	33°46	5°1	<i>Prunus domestica</i> L.
	Safra3*	Ait Saleh (5 km N de Imouzzar-kandar)	SAF3	33°46'	5°0	<i>Prunus domestica</i> L.
	Frijo*	Ait Saleh (5 km N de Imouzzar-kandar)	FRI	33°46'	5°0	<i>Prunus domestica</i> L.
Taounate (TAO)	Dlahi*	Bouadel (15 Km E de Taounate)	DLH	34°34	4°30	<i>Prunus domestica</i> L.
	Lbyade1*	Bouadel (15 Km E de Taounate)	LBY1	34°34	4°30	<i>Prunus domestica</i> L.

*Cultivars locaux

** Cultivars introduits

3. Test d'intégrité d'ADN.

L'intégrité de l'ADN des extraits obtenus a été évaluée par électrophorèse sur gel d'agarose à 1% dans un tampon de TAE 1X (0,04 M Tris-acétate, 0,001 M EDTA, PH=8,0) contenant 0,1 ng/μl, en présence d'un marqueur moléculaire de 1Kb (Invitrogen, USA). La migration se déroule pendant une heure à 75 Volt. Lorsque la migration est terminée, la visualisation ou la révélation des bandes d'ADN est faite grâce au rayonnement ultraviolet émis par un système de documentation sur gel ((ENDURO™ GDS) couplé à un ordinateur équipé d'une caméra spéciale (ENDURO™ GDS) et un logiciel de traitement des images.

4. Quantification de l'ADN extrait

La quantification de l'ADN est déterminée par la mesure de la densité optique (DO) des échantillons au spectrophotomètre UV-Vis (JASCO V-630) à 260 nm. Sachant qu'une unité de densité optique correspond à 50 μg/ml d'ADN double brin dans les conditions standards (Kaplan et Delpech, 1993). La concentration de l'ADN présent dans chaque échantillon se calcule à l'aide de l'équation suivante :

$$C_{ADN} = DO_{260} \times 50 \times \text{Facteur de dilution}$$

5. Evaluation de la pureté d'ADN

Une mesure de la densité optique des échantillons à 280 nm est nécessaire pour déterminer le degré de la contamination des extraits d'ADN par les protéines. En effet, Le calcul du rapport entre les valeurs à 260 nm et à 280 nm (A_{260nm}/A_{280nm}) fournit une estimation du degré de pureté des acides nucléiques. D'une façon générale, lorsque la valeur de ce rapport est tend vers 2 on dit que l'extrait d'ADN est pur et de meilleur qualité.

6. Amplification de l'ADN par PCR

Le mélange réactionnel ainsi que la réaction PCR doivent être, en fonction de chaque technique moléculaire, adaptés à l'espèce végétale. Ainsi, la mise au point et l'optimisation de la réaction PCR a été faite.

La technique ISSR basée sur la réaction PCR, utilise des amorces à simple séquence répétée pour amplifier les régions ou nucléotides présentes dans les espaces inter-microsatellites (régions séparant les motifs répétés) (Kahl, 2001).

Pour étudier la diversité génétique du prunier marocain nous avons criblé plusieurs amorces ISSR parmi celles disponible dans la littérature ayant donné des profils fiables avec un pourcentage élevé de polymorphisme (Liu et al., 2007, Athanasiadis et al., 2013, Ajal et al., 2014; Kabiri et al., 2019). Le criblage de ces amorces a abouti au choix de 14 amorces

selon leurs caractéristiques spécifiques, notamment la taille de l'amplification, la qualité et le niveau de polymorphisme des bandes (Tableau 17).

Pour déterminer les conditions d'amplification, plusieurs essais d'optimisation du protocole d'amplification par ISSR ont été effectués, afin de sélectionner le mélange réactionnel et le programme d'amplification qui nous a donné un meilleur profil d'amplification. D'après cette expérimentation, les conditions optimales retenues pour l'amplification sont comme suit :

Chaque réaction est réalisée dans un volume de 12,5 µl contenant 12 ng d'ADN matrice, 2,5 mM de MgCl₂, 0,8 mM de dNTPs, 0,8 µM de chaque amorce, 1X du tampon de réaction, 0,75U de Taq ADN polymérase (promega, Madison, WI. USA). Le volume réactionnel a été ajusté à 12,5 µl par de l'eau distillée stérile.

Les amplifications par PCR ont été menées dans un thermocycleur à gradient de température (gradient Multigène, Labnet, NJ. USA) selon le programme suivant : une prédénaturation à 94 °C pendant 5 minutes, suivie 30 cycles d'amplification dont chacun correspond à trois phases ; une étape de dénaturation à 94 °C pendant 45 secondes, une étape d'hybridation pendant 45 secondes à la température d'hybridation (T_a °C) déterminée par PCR à Gradient de température pour chaque amorce et une étape d'élongation à 72 °C pendant 2 min, en utilisant les transitions disponibles les plus rapides entre chaque température. Le dernier cycle a été suivi d'une élongation finale pendant 7 minutes à 72 °C (Figure 19).

Après amplification, les produits de PCR sont séparés par électrophorèse selon leur poids moléculaire sur gel d'agarose à 1,7% préparé dans un tampon TAE additionné de BET (Bromure d'Ethidium) à raison de 0,1 ng/µl. La migration est effectuée dans la solution de TAE 1X sous une tension de 75 volts pendant 2 heures. Les gels sont photographiés à l'aide du système Gel Doc (Enduro™ GDS, Labnet). La taille des fragments amplifiés a été estimée à l'aide d'un marqueur de taille d'ADN à échelle de 1 kb (Invitrogen, Life Technologies, USA) soumis à la migration en même temps que les produits d'amplification.

Tableau 17: Séquences et température d'hybridation des amorces ISSRs utilisées dans les réactions PCR-ISSR.

Amorce	Séquence 5'-3'	Ta (°C)
UBC 810	(GA)8T	46.8°
UBC 818	(CA)8G	47.9°
UBC 825	(AC)8T	47°
UBC 827	(AC)8G	49.2°
UBC 841	(GA)8YC	49.7°
UBC 844	(CT)8RC	50.9°
UBC 845	(CT)8RG	51°
UBC 848	(CA)8RG	49.9°
UBC 853	(TC)8RT	50.9°
UBC 855	(AC)8YT	49.1°
UBC 857	(AC)8YG	50.7°
UBC 861	(ACC)6	53.1°
UBC 868	(GAA)5	37°
UBC 889	(AC)7	38.9°

Y=C+T, R= A+G

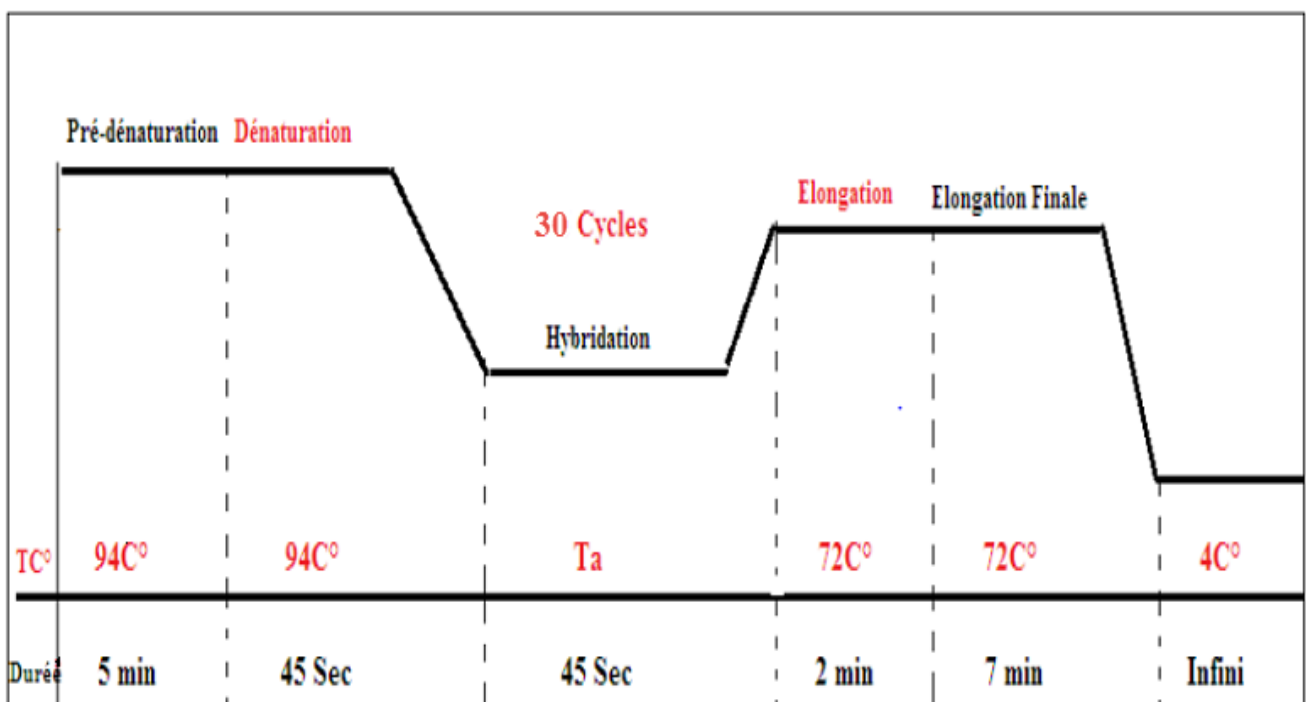


Figure 19 : Programme d'amplification pour les échantillons d'ADN du prunier.

7. Méthodes d'analyse statistique des données moléculaires

La lecture des profils électrophorétiques est faite sur la base de la présence et de l'absence des différents fragments, puisque les amorces ISSR sont des marqueurs dominants amplifiés pour chaque amorce chez tous les individus du prunier analysés. Les fragments ont été notés 1 pour la présence et 0 pour l'absence de bandes, ce qui donne une matrice binaire (0,1) qui servira pour différentes analyses statistiques (Annexe 3). Plusieurs paramètres sont calculés et estimés pour l'analyse de la diversité génétique et l'identification des cultivars étudiés.

7.1. Informativité des marqueurs génétiques

❖ Pourcentage de bandes polymorphes (PBP)

Pour chaque amorce ISSR, nous avons calculé le total des bandes amplifiées, le nombre de bandes polymorphes et le pourcentage de bandes polymorphes (PBP). Le PBP est le nombre de bandes polymorphes par rapport au nombre total de bandes révélées.

❖ Contenu informationnel du polymorphisme (PIC)

La qualité d'un marqueur génétique peut être calculé par l'indice du contenu informatif du polymorphisme (PIC) (Botstein et al., 1980). Cet indice permet de mesurer le taux d'informativité d'un marqueur génétique ou d'un gène en fonction des fréquences de chaque allèle dans une population. Il est calculé par la formule suivante (De Riek et al., 2001):

$$PIC = 1 - [f^2 + (1 - f)^2]$$

Où f est la fréquence du marqueur dans l'ensemble de données. Pour les marqueurs dominants, la valeur PIC maximale est de 0,5.

La valeur de PIC s'approche de zéro quand il n'y a aucune variation allélique.

❖ Pouvoir résolutif (Rp)

Pour tester l'efficacité des amorces utilisées, le pouvoir résolutif (Rp) a été calculé. Le Rp a été estimé selon la formule de Gilbert et al. (1999) :

$$Rp = \sum Ib \quad \text{Avec} \quad Ib = 1 - 2 \times |0,5 - P|$$

Où P : la fréquence des individus possédant la bande I.

❖ Rapport de multiplexe efficace (EMR)

Le rapport de multiplexe efficace ou le EMR, est estimé à l'aide de l'équation décrite par Powell et al. (1996):

$$EMR = n_p \left(\frac{n_p}{n} \right)$$

Où n_p est le nombre des bandes polymorphes et n est le nombre total des bandes.

On dit que le système « amorce-marqueur » est plus efficace lorsque la valeur est plus élevée.

❖ Indice du marqueur (MI)

Pour chaque amorce le MI ou l'indice du marqueur est déterminé selon Powell et al. (1996) comme le produit de PIC et EMR pour balancer le taux de polymorphisme détecté.

$$MI = EMR \times PIC$$

7.2. Analyse de la diversité génétique entre les cultivars

Plusieurs paramètres ont été calculés pour décrire la diversité et l'identification de notre échantillonnage. A cet égard La matrice binaire a été utilisée par le programme POPGEN 1.32 (Francis et Yang, 1999) pour calculer plusieurs indices.

❖ Indice de la diversité de Nei

La diversité entre les cultivars peut être estimée par la mesure de l'indice G_{ST} de Nei qu'est également une mesure de différenciation génétique entre sous-populations (Nei, 1973). Lorsque les loci sont multialléliques, Nei utilise les indices suivants : la diversité génétique totale (H_T) qui représente la somme de la diversité génétique intrapopulation (H_S) et de la diversité génétique interpopulation (D_{ST}) (Cossa et al., 1993). Les hétérozygoties H_T et H_S sont calculées sous l'hypothèse de Hardy Weinberg et dépendent strictement des fréquences alléliques observées. De même, ces indices ont été également utilisés pour déterminer les relations génétiques entre les groupes géographiques des cultivars. Le coefficient de différenciation génétique est calculé selon la formule suivante :

$$G_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T} = 1 - \frac{H_S}{H_T} = \frac{D_{ST}}{H_T}$$

❖ Flux du gène (Nm)

Le flux génétique (Nm) ou le flux de gènes est un concept en génétique des populations qui fait référence au mouvement de gènes ou d'allèles entre des populations croisées d'une espèce particulière. Lorsque des membres d'un pool de gènes s'accouplent avec des membres d'un autre pool de gènes, cela peut modifier les fréquences des allèles, ayant comme résultat final l'homogénéisation des allèles entre des populations (Slatkin, 1985). A partir des valeurs de G_{ST} , le flux de gènes (Nm, où N représente la taille de la population totale et m la fraction de migrants par génération) entre les cultivars est estimé selon la formule suivante :

$$N_m = \frac{0,5 (1 - G_{ST})}{G_{ST}}$$

Plus la valeur de Nm est supérieure à 1, plus l'échange de gènes est important.

❖ Indice de diversité de Shannon (I)

La diversité génétique au sein de chacune des populations étudiées est estimée par l'indice génétique de Shannon (I) et traduisant le degré de diversité d'une population (Bussel, 1999). Plus sa valeur est élevée plus l'hétérozygotie de la population est importante (Shannon, 1948). Il est défini par la formule suivante :

$$I = 1 \times (p \times \ln(p) + q \times \ln(q))$$

Où q= (1-fréquence de la bande) 0.5 et p= 1-q

❖ Distances génétiques et établissement des relations génétiques.

La détermination des distances génétiques entre populations permet d'évaluer le degré de ressemblance de leurs structures génétiques. Pour calculer les distances génétiques entre les cultivars de prunier étudiées en utilisant la distance de Nei (Nei, 1978), la matrice des données a été soumise au logiciel POPGEN (version 1.32). Le dendrogramme peut être construit sur la base des distances génétiques entre les cultivars. Il permet de visualiser les regroupements possibles, et en répartissant des entités en groupes (classes) homogènes, chaque groupe étant bien différencié des autres. Ainsi, pour l'établissement de la structure génétique des cultivars étudiés, un dendrogramme a été construit via la méthode UPGMA sur

la base du coefficient de Dice en tant que distance génétique (Rhoif, 1998) en utilisant le programme NTSYS PC version 2.02.

❖ **Test de corrélation de Mantel**

Ce test permet de rechercher si la répartition des cultivars étudiés était associée à leur distribution géographique. Pour ce faire, le test de Mantel qui évalue la corrélation entre deux matrices de ressemblance a été effectué (Mantel, 1967). Dans notre étude, la corrélation entre une matrice de distances génétiques et une matrice de distances géographiques a été calculée grâce au logiciel Mx Comp de NTSYS PC version 2.02g.

❖ **Analyse de la structure génétique des cultivars.**

Pour déterminer le nombre de groupes présents dans l'échantillon et l'assignation des cultivars à ces groupes, une méthode bayésienne a été utilisée. Une des premières méthodes basées sur un modèle explicite permettant de détecter la structure génétique des populations a été proposée par Pritchard et al. (2000) ; elle est implémentée dans la première version du logiciel STRUCTURE. Il s'agit d'un modèle hiérarchique bayésien qui constitue la base de nombreuses méthodes actuelles. Le modèle de STRUCTURE suppose l'existence de K populations (non prédéfinies), et chacune d'entre elles est caractérisée à chaque locus par un ensemble de fréquences alléliques. Pour cela, nous avons effectué l'analyse par la méthode de STRUCTURE en utilisant le modèle admixture (Mélange des populations) avec l'option fréquences des allèles corrélées (Falush et al., 2003). La longueur de la période initiale « burn-in » a été réglée à 50000 pour un nombre total de permutations MCMC (Markov Chain Monte Carlo) de 1000 pour un nombre de clusters (K) allant de 2 à 11 avec 20 répétitions indépendantes pour chaque K. Pour identifier le nombre optimal K expliquant la structure génétique des cultivars, nous avons utilisé le logiciel Structure Harvester (Earl et vonHoldt, 2012) qu'est un des logiciels implantés dans internet (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/#>). Ce site web a permis de calculer l'indice ad-hoc ΔK d'Evanno et al. (2005) à partir des fichiers zippés des résultats obtenus avec STRUCTURE. Pour obtenir un alignement optimal des exécutions indépendantes, le programme CLUMPP version 1.1.2 (Jakobsson et Rosenberg, 2007) a été utilisé pour calculer la similitude moyenne par paire (H') des exécutions. La représentation des résultats, sous forme d'un histogramme, se fait avec le logiciel DISTRUCT (Rosenberg, 2004).

III. Résultats et discussion

1. Qualité d'ADN extrait et optimisation de milieu réactionnel

La quantification spectrophotométrique de l'ADN extrait par le Kit Isolate II Plant DNA (Bioline) a donnée des résultats significatifs pour des concentrations d'ADN allant de 642 ng/ μ l à 1362 ng/ μ l. Néanmoins, du point de vue qualitatif les résultats trouvés ont montré que les rapports (DO_{260nm}/DO_{280nm}) de nos extraits d'ADN oscillent entre 1,5 et 1,8. Selon Sambrook et al. (1989) un extrait d'ADN est qualifié de pur, quand le rapport DO_{260nm}/DO_{280nm} présente une valeur entre 1,8 et 2. Une concentration de 10 ng/ μ l a été préparée pour chaque échantillon en diluant la solution mère d'ADN afin d'accomplir les réactions ISSR-PCR.

Le milieu réactionnel de la PCR et le programme d'amplification qu'on a sélectionné ont donné des profils de bonne résolution (figure 20). Les 14 amorces utilisées pour explorer le polymorphisme moléculaires ont permis d'obtenir des profils d'amplifications polymorphes et reproductibles. Selon plusieurs auteurs, la technique ISSR est dotée d'une meilleure qualité de ses profils qui émane surtout de la longueur de séquence de ses amorces, impliquant une température d'hybridation élevée et engendrant ainsi, par rapport aux techniques RAPD et RFLP, de bandes épaisses et reproductibles (Culley et Wolfe, 2000; Oh et al., 2000). L'obtention d'un nombre élevé de marqueurs ISSR polymorphes est d'une utilité importante. Elle permet d'augmenter la fiabilité des interprétations des résultats.

2. Polymorphisme d'ISSR

L'analyse des produits d'amplification montre qu'un total de 100 bandes a été généré pour l'ensemble des cultivars étudiés. Un exemple de profil électrophoretique pour l'amorce UBC 857 est présenté sur la figure 21. Le nombre total de bandes générées diffère selon les amorces testées, il varie de 4 pour (UBC 818 et UBC 889) à 12 pour (UBC 810) (Tableau 18), avec une moyenne de 7,14 bandes par amorce. Ce nombre témoigne du niveau élevé de polymorphisme au sein des cultivars étudiés. Le pourcentage de bandes polymorphes (PPR) varie entre 71,42% (UBC825, UBC845, UBC848 et UBC 857) et 100% (UBC810, UBC818 et UBC844) avec une moyenne générale de 84%. Ce degré de polymorphisme obtenu, témoigne de l'efficacité des amorces utilisées dans la mise en évidence du polymorphisme moléculaire chez les cultivars de prunier. Par ailleurs, les amorces UBC810, U818, UBC844 et UBC 868 présentent un taux de polymorphisme très élevé suggérant l'efficacité de ces dernières pour explorer la diversité chez cette espèce. Le pourcentage de bandes polymorphes

trouvé est comparable à celui obtenu dans d'autres études chez des cultivars de prunier soit analysées par les marqueurs ISSR 81,81% (Athanasiadis et al., 2013) en Grèce soit par les marqueurs AFLP 81,1% (Ali et al., 2015) en Irak. Néanmoins, il est inférieur que ceux trouvés chez les pruniers chinois sur la base des marqueurs ISSR 96,1% (Liu et al., 2007) et 89.04% (Wu et al., 2018), 88.4% chez le prunier Chilien (Carrasco et al., 2012), et aussi sur la base des marqueurs RAPD 97,28% (Ben Tamarzizt et al., 2009) et des marqueurs RAM 95% (Ana et al., 2015).

La qualité du marqueur génétique utilisé pour l'analyse de la diversité génétique du prunier marocain a été estimée par le PIC (Polymorphism Information Content), EMR (Effective Multiplex Ratio) et MI (Marker Index). En effet, l'indice du contenu informatif du polymorphisme PIC a permis de mesurer le taux d'efficacité des marqueurs génétiques en fonction des fréquences de chaque allèle. Les valeurs de contenu informatif sur le polymorphisme (PIC) varient de 0,34 (UBC 848) à 0,49 (UBC 810, UBC 825 et UBC 868) avec une moyenne de 0,45 par amorce (Tableau 18). Ce résultat indique que les marqueurs ISSR présentent des performances élevées dans l'identification génétique de ces espèces. En effet, une valeur de PIC proche de 0,5 est meilleure chez les marqueurs dominants tels que les ISSRs (Roldàn-Ruiz et al., 2000).

Concernant le pouvoir de résolution (R_p) utilisé pour déterminer la capacité de chaque amorce à différencier les cultivars du prunier. Les résultats obtenus montrent que les valeurs de R_p oscillent entre 1,13 (UBC889) et 6,86 (UBC 810) avec une moyenne de 3,03, ce qui montre que toutes les amorces n'ont pas la même efficacité de discrimination entre les cultivars. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues par Yilmaz et al. (2009) chez le prunier turc (0,829) en utilisant le même type du marqueur ISSR et par Ilgin et al. (2009) chez le prunier turc en utilisant des marqueurs AFLP (0,57 à 1,34). Néanmoins, elles sont inférieures à celles trouvées chez le prunier iranien analysé par le type du marqueur RAPD (3,88) (Aran et al., 2012). En outre, le rapport multiplex efficace (EMR) varie de 2,25 pour l'amorce UBC 889 à 12 pour l'amorce UBC 810 avec une moyenne de 5,12. Les estimations de l'indice du marqueur (IM) varient de 1,05 à 5,88 avec une moyenne de 2,33. L'IM le plus élevé a été enregistré pour l'amorce UBC 810 (5,88) et la valeur la plus faible a été notée avec l'amorce UBC 889 (1,05). Ceci reflète l'existence d'un important polymorphisme moyennant des marqueurs ISSR.

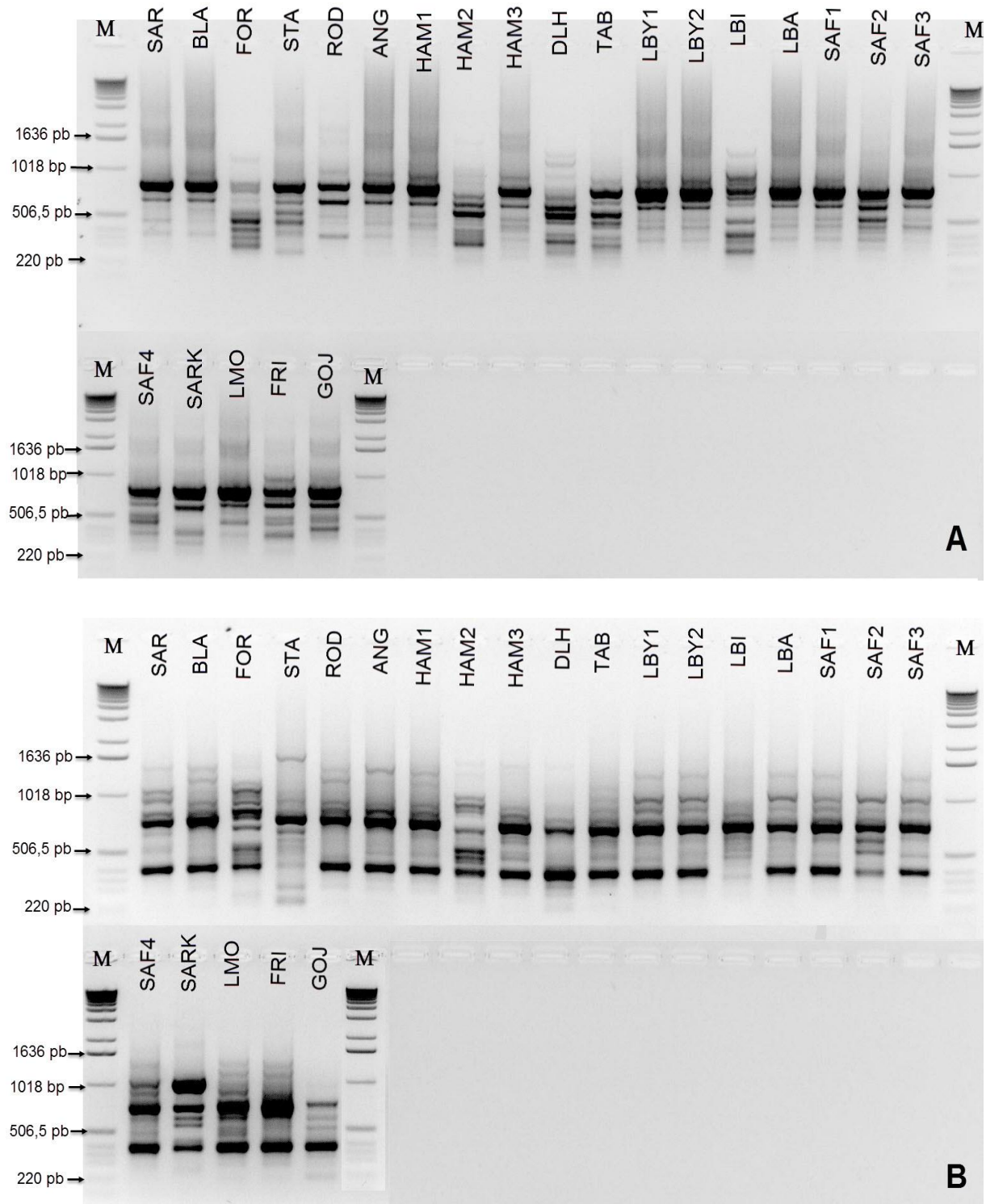


Figure 20: Exemple de profils d'amplification des marqueurs ISSR obtenus par les amorces : UBC 825 (A) et UBC 855 (B) ; M : marqueur de poids moléculaire de 1 KB.

Tableau 18: Caractéristiques des amorces ISSR étudiés et les paramètres statistiques.

Amorce ISSR	Séquence (5'-3')	Total des bandes	Bandes Polymorphes	PBP (%)	PIC	Rp	EMR	MI
UBC 810	(GA)8T	12	12	100	0.49	6.86	12	5.88
UBC 818	(CA)8G	4	4	100	0.39	1.91	4	1.56
UBC 825	(AC)8T	7	5	71.42	0.49	3.04	3.57	1.75
UBC 827	(AC)8G	5	4	80	0.47	2.69	3.2	1.50
UBC 841	(GA)8YC	8	7	87.5	0.45	2.60	6.12	2.75
UBC 844	(CT)8RC	7	7	100	0.48	3.21	7	3.36
UBC 845	(CT)8RG	7	5	71.42	0.47	3.21	3.57	1.67
UBC 848	(CA)8RG	7	5	71.42	0.34	3.13	3.57	1.21
UBC 853	(TC)8RT	6	5	83.33	0.41	2.43	4.16	1.70
UBC 855	(AC)8YT	8	6	75	0.47	2.26	4.5	2.11
UBC 857	(AC)8YG	7	5	71.42	0.40	2.25	3.57	1.43
UBC 861	(ACC)6	8	7	87.5	0.45	3.30	6.12	2.75
UBC 868	(GAA)5	10	9	90	0.49	4.52	8.1	3.97
UBC 889	(AC)7	4	3	75	0.47	1.13	2.25	1.05
Average		7.14	6	83.14	0.45	3.03	5.12	2.33

Y=C+T, R= A+G

3. Diversité génétique

Un niveau considérable de diversité génétique intra-groupe est obtenu, comme l'indique les valeurs de l'indice de Shannon et de la diversité génétique de Nei (Tableau 19). Le groupe Meknès montre des valeurs maximales de la diversité totale ($H=0,26$) et de l'indice de Shannon ($I=0,39$), ce qui suggère que les cultivars issus de la région Meknès sont les plus diversifiés génétiquement. Tandis que le groupe Taounate a enregistré des valeurs minimales ($H=0,13$; $I=0,19$).

Tableau 19: Paramètres de diversité intra-groupe de prunier.

Groupe	PBP	H	I
Marrakech	58	0,22	0,33
Béni Mellal	66	0,23	0,35
Meknès	73	0,26	0,39
Taounate	33	0,13	0,19
Total		0,28	0,42

La diversité génétique estimée chez les 23 cultivars étudiés est citée dans le tableau 20. Le nombre d'allèles par locus (N_a) obtenu chez tous les cultivars est compris entre 1,71 (UBC825, UBC845, UBC848 et UBC857) et 2 (UBC810, UBC818 et UBC848) avec une moyenne de 1,84. Le plus grand nombre efficace (N_e) a été notée pour l'amorce UBC818 ($N_e=1,77$) alors que la valeur la plus faible a été enregistrée chez l'amorce UBC855 (1,17), avec une moyenne globale de 1,49 (Tableau). L'indice de la diversité de Shannon (I) obtenu varie de 0,61 pour l'amorce UBC818 à 0,21 pour l'amorce UBC889, avec une moyenne de 0,42.

D'autre part, le résultat de la diversité génétique totale (H_t) varie de 0,12 pour UBC855 à 0,39 pour UBC818 avec une valeur moyenne de 0,27 (Tableau 20) suggère la présence d'un niveau élevé de polymorphisme des cultivars étudiés. Cette valeur est supérieure à celle trouvée par Wu et al. (2018) ($H_t = 0,23$) chez le prunier chinois en utilisant les marqueurs ISSR. Cependant, La diversité des gènes au sein du groupe géographique (H_s) varie de 0,11 à 0,30 avec une moyenne de 0,21, les valeurs les plus élevées et les plus basses étant obtenues pour l'amorce UBC818 et UBC855, respectivement. Cette valeur est similaire à celle rapportée par Wu et al. (2018) chez les cultivars de prunier chinois ($H_s = 0,21$).

La grande diversité génétique obtenue chez les pruniers cultivés au Maroc est en accord avec la tendance générale pour les espèces ligneuses pérennes ($H_t = 0,28$ sur 195 entrées) et les angiospermes ($H_t = 0,28$ sur 73 entrées) (Hamrick et al., 1992). De plus, ce niveau élevé de diversité génétique peut s'expliquer par le faible flux de gènes entre les différentes localités.

D'autre part, le coefficient de différenciation génétique entre les groupes (G_{ST}) est de 0,21 (Tableau 20), impliquant que seulement 21% de la variabilité génétique totale est due à la diversité entre les groupes, alors que 79% de la diversité est au sein des groupes. Ce résultat est supérieur à celui obtenu par Wu et al. (2018) chez le prunier chinois ($G_{ST} = 0,083$) et par Carrasco et al. (2012) chez les cultivars de prunier japonais et européen ($G_{ST} = 0,055$). Ce résultat montre bien une grande différenciation génétique entre les groupes.

D'autre part, le flux de gènes (N_m) varie de 0,84 pour l'amorce UBC848 à 14,78 pour l'amorce UBC827 avec une moyenne de 1,83. En effet, la grande variabilité et la recombinaison sont favorisées par l'auto-incompatibilité partielle qui existe chez les génotypes de prunier et en particulier par la capacité de *P. domestica* à former des hybrides avec d'autres espèces hexaploïdes de *Prunus* comme mentionné par Ortiz et al. (1997). De même, on note que la matrice de différenciation génétique entre les groupes de cultivars n'est pas associée à celle des distances géographiques correspondantes ($r = 0,12$, $p = 0,36$) d'après les résultats du test de Mantel.

En rassemblant les cultivars selon leur espèce, le H_T est de 0,28 entre les deux espèces (*P. salicina* vs *P. domestica*), tandis que le H_S est de 0,25. En plus, la valeur de la différenciation génétique (G_{ST}) entre *P. domestica* et *P. salicina* est de 0,09 (Tableau 21). Cette faible différenciation génétique entre les deux espèces est soutenue par la valeur élevée de flux de gènes N_m de 4,75. Ce haut niveau de flux de gènes entre les deux espèces pourrait être dû à la possibilité de croisement. De même, ce résultat peut être expliqué par une base génétique intrinsèquement étroite à partir de laquelle les prunes ont été domestiquées, ainsi que la migration historique du matériel génétique et l'hybridation naturelle (ben tamarzizt et al. 2015), ou ces marqueurs moléculaires ne sont pas capable de détecter une telle diversité entre les deux espèces.

Concernant la différenciation génétique entre les groupes, on note que la faible diversité a été observée entre le groupe Marrakech et Meknès (MAR-MEK) ($G_{ST} = 0,08$), ce qui pourrait s'expliquer par la proximité géographique et l'échange de matériel végétal entre les

deux régions. Cependant, la valeur de la différenciation génétique la plus élevée a été enregistrée entre les deux groupes Meknès et Taounate (MEK-TAO) ($G_{st} = 0,22$), ce qui pourrait s'expliquer par la présence de barrières géographiques. Ces hypothèses ont été confirmées par les valeurs de flux génétique (N_m) : 1,74 entre Meknès et Taounate, et 5,57 entre Marrakech et Meknès.

Tableau 20: Paramètres de diversité génétique des quatre groupes géographiques des cultivars de prunier basés sur les données ISSR.

Amorce	Taille de l'échantillon	Na	Ne	Ht	Hs	Gst	Nm	I
UBC 810	23	2	1.57	0.30	0.22	0.24	1.51	0.50
UBC 818	23	2	1.77	0.39	0.30	0.22	1.76	0.62
UBC 825	23	1.71	1.42	0.22	0.14	0.36	0.88	0.35
UBC 827	23	1.8	1.57	0.30	0.29	0.03	14.78	0.46
UBC 841	23	1.87	1.32	0.22	0.16	0.24	1.54	0.34
UBC 844	23	2	1.56	0.34	0.25	0.26	1.41	0.51
UBC 845	23	1.71	1.42	0.26	0.22	0.15	2.83	0.38
UBC 848	23	1.71	1.61	0.29	0.18	0.37	0.84	0.46
UBC 853	23	1.83	1.62	0.31	0.28	0.11	3.79	0.50
UBC 855	23	1.75	1.17	0.12	0.11	0.04	10.49	0.22
UBC 857	23	1.71	1.57	0.30	0.24	0.20	1.96	0.42
UBC 861	23	1.87	1.58	0.34	0.29	0.15	2.67	0.49
UBC 868	23	1.9	1.49	0.27	0.20	0.27	1.33	0.44
UBC 889	23	1.75	1.18	0.15	0.14	0.06	7.43	0.21
Average	23	1.84	1.49	0.27	0.21	0.21	1.83	0.42

Tableau 21: Paramètre de la diversité génétique entre les quatre groupes géographiques et entre les deux espèces.

groupe	Taille de l'échantillon	Ht	Hs	Gst	Nm
MAR-BM	10	0.26	0.23	0.13	3.32
MAR-MEK	16	0.26	0.24	0.08	5.57
MAR-TAO	7	0.22	0.18	0.18	2.13
BM-MEK	16	0.28	0.25	0.11	3.92
BM-TAO	7	0.23	0.18	0.19	2.00
MEK-TAO	13	0.25	0.20	0.22	1.74
<i>P. salicina</i> vs. <i>P. domestica</i>	23	0.28	0.25	0.09	4.75

4. Distance génétique et regroupement des cultivars

La matrice de distances génétiques entre les différents cultivars sur base des 84 marqueurs polymorphes est représentée dans le tableau 22. L'analyse de cette matrice montre des valeurs qui varient de 0,06 à 0,67 avec une moyenne de 0,35, traduisant la présence d'une importante variabilité génétique entre les cultivars étudiés. La valeur de distance maximale (0,67) témoignant d'une forte divergence a été détectée entre les cultivars Stanley (STA) et Lbide (LBI). Cependant, la valeur de distance la plus basse (0,06) a été trouvée entre les cultivars Lbyade1 (LBY1) et Lbyade2 (LBY2) suggérant leurs grandes similitudes. Par ailleurs, les distances génétiques entre les cultivars ne sont pas corrélées avec les distances géographiques après l'exécution du test de Mantel ($r = 0,046$, $p = 0,301$).

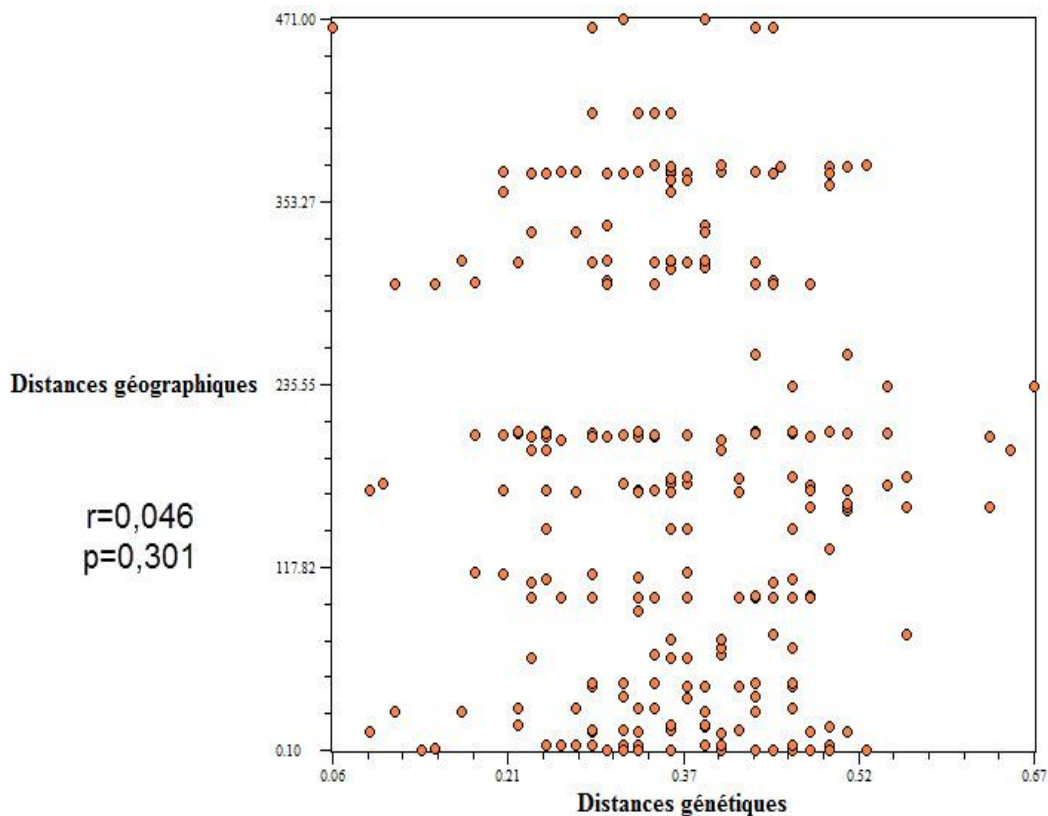


Figure 21: Corrélation entre les distances génétique et les distance géographiques

Tableau 22: Matrice des distances génétiques entre les 23 cultivars étudiés selon la formule de Nei basées sur 84 marqueurs ISSRs.

	SAR	BLA	FOR	STA	ROD	ANG	HAM1	HAM2	HAM3	DLH	TAB	LBY1	LBY2	LBI	LBA	SAF1	SAF2	SAF3	SAF4	SARK	LMO	FRI
BLA	0.356																					
FOR	0.342	0.562																				
STA	0.544	0.510	0.562																			
ROD	0.371	0.116	0.510	0.562																		
ANG	0.248	0.174	0.462	0.510	0.139																	
HAM1	0.356	0.301	0.462	0.478	0.287	0.223																
HAM2	0.356	0.446	0.400	0.544	0.371	0.356	0.150															
HAM3	0.325	0.328	0.430	0.478	0.314	0.274	0.174	0.174														
DLH	0.446	0.446	0.342	0.510	0.430	0.446	0.356	0.328	0.328													
TAB	0.371	0.400	0.510	0.462	0.328	0.342	0.210	0.186	0.186	0.186												
LBY1	0.287	0.235	0.478	0.430	0.328	0.235	0.287	0.342	0.287	0.400	0.301											
LBY2	0.314	0.210	0.478	0.462	0.301	0.235	0.235	0.371	0.261	0.430	0.356	0.061										
LBI	0.494	0.494	0.356	0.673	0.510	0.494	0.400	0.342	0.342	0.314	0.356	0.385	0.385									
LBA	0.314	0.235	0.478	0.400	0.248	0.235	0.287	0.371	0.287	0.430	0.301	0.150	0.105	0.415								
SAF1	0.248	0.248	0.430	0.446	0.287	0.223	0.248	0.328	0.248	0.446	0.287	0.116	0.094	0.400	0.094							
SAF2	0.356	0.385	0.430	0.415	0.462	0.446	0.385	0.385	0.328	0.446	0.301	0.342	0.314	0.462	0.287	0.248						
SAF3	0.356	0.223	0.494	0.478	0.261	0.274	0.301	0.385	0.301	0.478	0.342	0.261	0.210	0.527	0.210	0.223	0.248					
SAF4	0.235	0.342	0.510	0.494	0.415	0.371	0.371	0.371	0.314	0.462	0.356	0.248	0.274	0.385	0.274	0.210	0.287	0.342				
SARK	0.371	0.462	0.328	0.494	0.415	0.462	0.562	0.462	0.462	0.371	0.415	0.356	0.385	0.301	0.328	0.342	0.371	0.430	0.446			
LMO	0.356	0.328	0.634	0.510	0.314	0.356	0.356	0.385	0.385	0.478	0.400	0.430	0.371	0.430	0.261	0.328	0.415	0.356	0.314	0.430		
FRI	0.274	0.274	0.462	0.478	0.287	0.328	0.385	0.356	0.328	0.478	0.371	0.371	0.400	0.400	0.314	0.328	0.385	0.356	0.287	0.342	0.223	
GOJ	0.494	0.430	0.544	0.634	0.478	0.527	0.430	0.342	0.494	0.462	0.478	0.415	0.446	0.356	0.478	0.430	0.494	0.462	0.385	0.415	0.287	0.400

Pour mieux étudier et discuter les relations génétiques entre ces cultivars, nous avons réalisé une classification hiérarchique par le programme NTSYS basé sur la méthode UPGMA. L'analyse du dendrogramme qui montre les relations génétiques entre les 23 cultivars étudiés a permis d'identifier deux grands groupes I et II (Figure 21). Le premier groupe I est subdivisé en deux sous-groupes, à savoir (I.a) et (I.b). Le premier sous-groupe Ia est formé des cultivars Santa rosa, Safra4, Lmozari, Golden japan et Frigo et le deuxième sous-groupe Ib est composé des cultivars Black Amber, Royal Diamond, Angeleno, Safra3, Lbyad1, Lbyad2, Lbayda et Safra1. Le deuxième groupe (II) contient aussi deux sous-groupes (II.a) et (II.b). Les cultivars Fortune, Lbide, Safra rkika, Hamra1, Hamra2, Hamra3, Dlahi et Tabarkakacht forment le premier sous-groupe (II.a). Il convient de mentionner que certains cultivars (Hamra1, Hamra2, Hamra3, Dlahi et tabarkakacht) rassemblés dans ce dernier sous-groupe, ont la même couleur de l'épiderme (rouge). Tandis que le deuxième sous-groupe (II.b), il est composé seulement de deux cultivars Stanley et Safra2.

D'une façon générale, on note que le regroupement des cultivars du prunier étudiés s'opère indépendamment de l'origine géographique et des dénominations. En effet, certains cultivars de différentes appellations (HAM1, HAM2, HAM3, DLH et TAB) et (BLA2 et ROD) sont regroupés ensemble et présentent des similarités génétiques. Ce qui laisse penser qu'ils peuvent être des synonymes. En effet, les cultivars de pruniers sont dénommés localement par les agriculteurs sur la base de leurs caractéristiques de fruits (couleur de peau, taille, origine, saveur) conduisant souvent à des problèmes de mauvaises appellations. Par conséquent, la détermination du nombre exacte de cultivars de prunier au Maroc est indispensable pour tout programme de sélection et d'amélioration de la production de ces deux espèces.

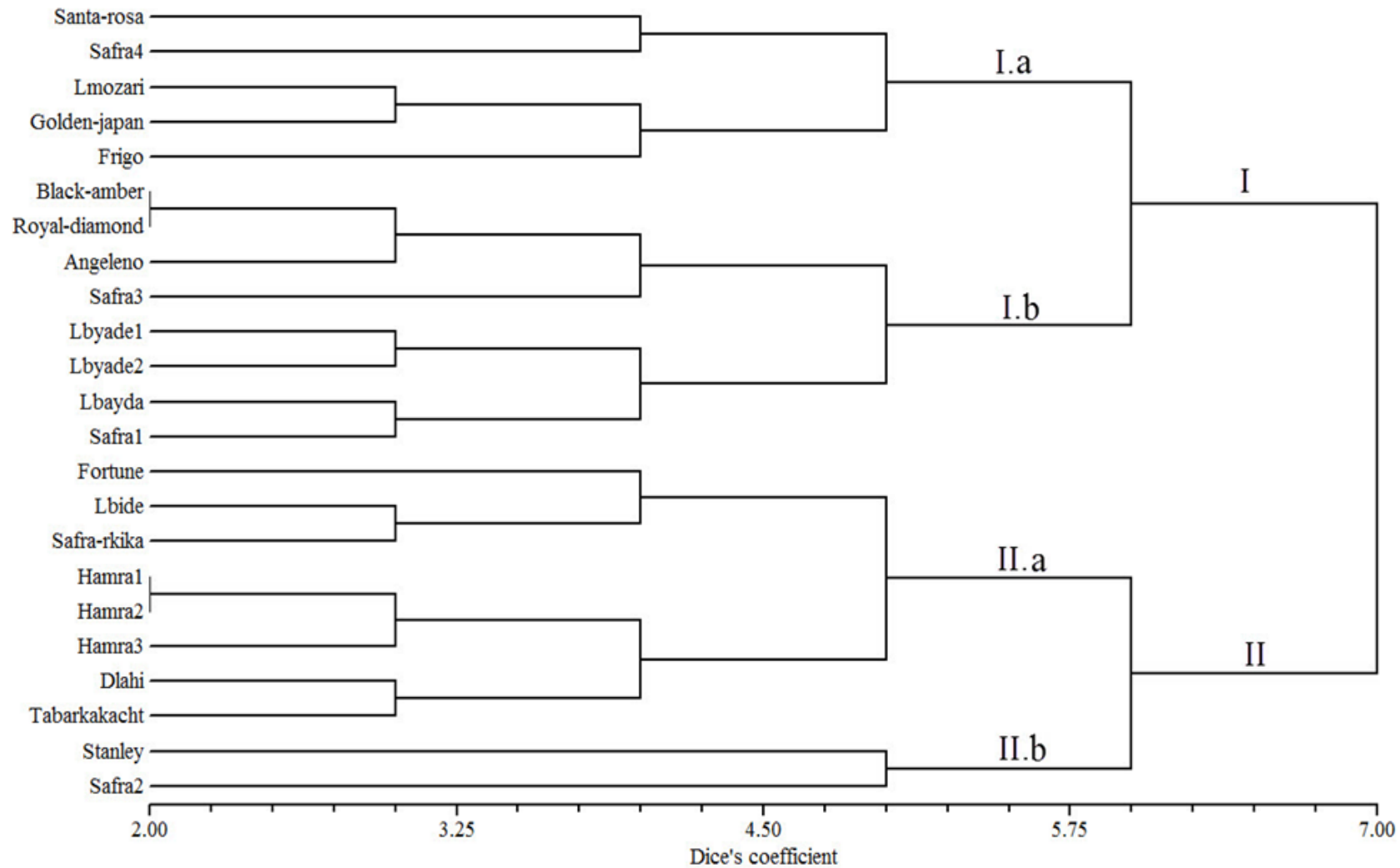


Figure 22: Dendrogramme UPGMA sur la base des distances génétiques de Nei calculées sur la base des 84 marqueurs ISSR montrant les liens phylogénétiques entre les 23 cultivars du prunier.

Par la suite, le programme STRUCTURE a été utilisé pour étudier la structuration du polymorphisme moléculaire du prunier. Ce programme utilise un algorithme bayésien pour évaluer les similitudes entre les individus étudiés au sein d'un nombre connu de groupes génétiques (ou populations génétiques, K)

Pour une analyse fine de STRUCTURE, les sous-groupes finaux définissant les cultivars ont été déterminés sur la base des changements dans la statistique ad-hoc Δk des relations entre K et le log likelihood (Evanno et al., 2005). Le pic évident a été obtenu à $K = 4$ et dont le $\Delta k = 6,85$ (Figure 22). Ce qui montre que $K = 4$ constitue le meilleur regroupement des cultivars de prunier étudiés. Ainsi sur la base de la matrice-Q moyenne générée par le programme Clumpp pour les 20 exécutions de Structure, la similitude moyenne par paire (H') la plus élevée a été observée pour $K = 4$ ($H' = 0,922$), indiquant la stabilité des résultats pour ces deux modèles. Les individus avec un coefficient d'adhésion inférieur à 0,8 ont été considérés comme admixture; 20 individus parmi les 23 étudiés (86,95%) ont été affectés à l'un des groupes définis par le modèle.

Selon le modèle $K = 4$, les cultivars de prunier ont été attribués à quatre groupes génétiquement différents (Figure 23):

- Le premier groupe (en rouge) est constitué uniquement de trois cultivars ; Royal Diamond, Black Amber et Angeleno avec un coefficient d'appartenance compris entre 0,88 et 0,97.
- Le deuxième groupe (en vert) contient les cultivars Tabarkakacht, Hamra2 et Hamra3, tous ayant un coefficient d'assignation supérieur à 0,90, à l'exception des cultivars Hamra1 et Dlahi qui peuvent être considérés comme admixture (coefficients 0,79 et 0,53 respectivement).
- Le troisième groupe (en bleu) est formé de quatre cultivars ; Lbyade1, Safra1, Lbyade2 et Lbayda avec un coefficient d'affectation supérieur à 0,94.
- Le quatrième groupe (en jaune) est composé de cultivar Fortune, Safra2, Safra-rkika, Lbide, Stanley, Golden-japan, Lmozari, Santa-rosa, Frigo et Safra4 avec plus de 85% de la probabilité d'attribution, tandis que le cultivar Safra3 avec une probabilité d'assignation de 56% , peut être considéré comme admixture.

Selon la structuration génétique des cultivars de prunier étudiés en quatre groupes basé sur l'approche bayésien, les cultivars Hamra1, Tabarkakacht et Dlahi (avec différentes appellations et de couleur de l'épiderme rouge) sont regroupés dans le groupe en bleu. Tandis

que les cultivars Safra1, Safra2, Safra3 et Safra4, sous les mêmes appellations sont regroupés différemment dans deux groupes (en bleu et en jaune). Ce résultat confirme bien que les cultivars de prunier sont regroupés indépendamment de leur dénomination et de leur origine géographique et soutiendra l'hypothèse de la présence de synonymie et homonymie entre les cultivars marocains. Ce résultat confirme également ceux révélées entre ces cultivars par l'analyse morpho-pomologique (Ait Bella et al., 2018)

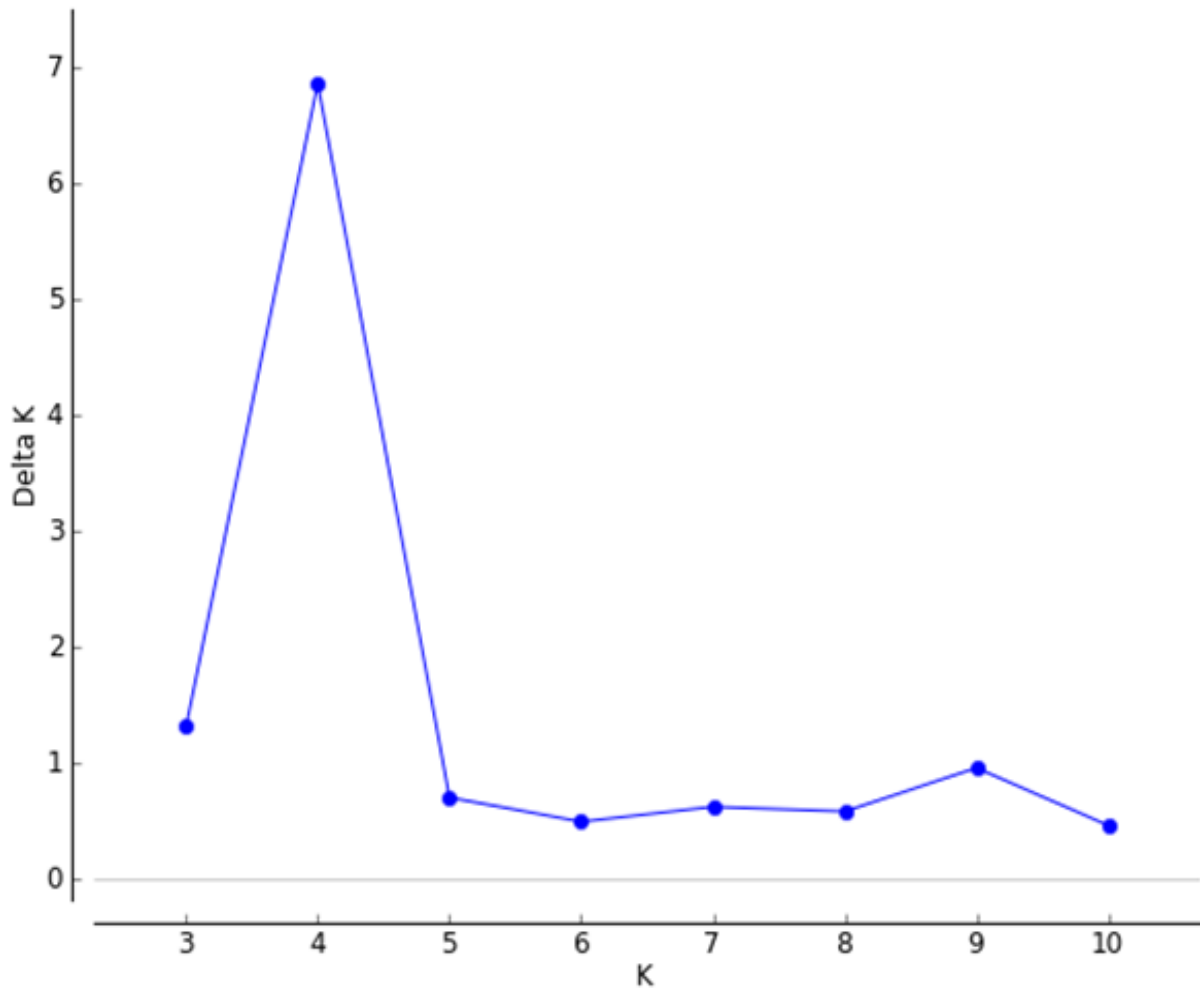


Figure 23: Méthode graphique permettant la détermination du nombre optimal K de clusters selon les paramètres d'Evanno et al. (2005). Le nombre optimal de clusters étant atteint pour K = 4.

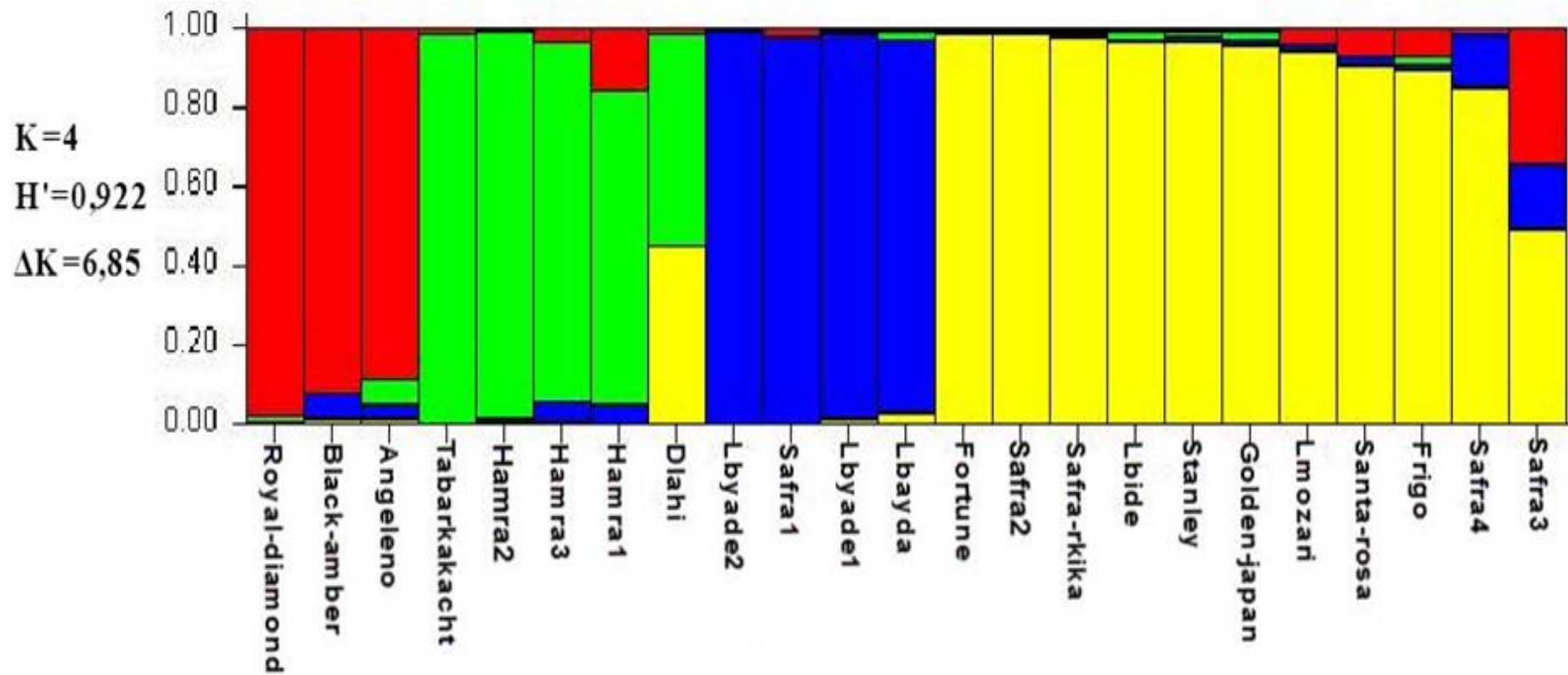


Figure 24: Les relations génétiques entre les 23 cultivars localisés au niveau des quatre provenances estimées à l'aide du programme STRUCTURE basé sur les données ISSR.

IV. Conclusion

L'analyse de la diversité génétique des cultivars marocains du prunier à l'aide des marqueurs ISSR a révélé une diversité génétique très importante.

Le pourcentage de bandes polymorphes est très élevé (PBP= 84%). Cette valeur témoigne d'une grande diversité entre les cultivars de prunier étudiés. D'autre part, les amorces UBC810 de motif (GA)₈T, UBC844 de motif (CT)₈RC, UBC845 de motif (CT)₈RG, UBC861 de motif (ACC)₆ et UBC 868 de motif (GAA)₅ présentent un pouvoir résolutif élevé suggérant l'efficacité de ces dernières pour la différenciation des cultivars de prunier étudiés et pourraient être proposées comme étant des amorces spécifiques aux deux espèces (*P. domestica* L. et *P. salicina* Lind).

L'usage de ces marqueurs ISSR dans l'analyse de la diversité génétique a montré que le groupe MEK a une diversité élevée ($H=0,26$) et ($I=0,39$), ce qui suggère que les cultivars de la région Meknès sont les plus variables. En outre, la diversité génétique totale des groupes (H_t) est de 0,27 et de l'indice de Shannon est de 0,42, ces valeurs révèlent que les cultivars de prunier présentent une diversité importante. En plus, la valeur du coefficient de différenciation génétique entre les groupes de Nei ($G_{ST}=0,21$) a montré une large différenciation entre les groupes étudiés. Cette différenciation génétique élevée est en accord avec le flux de gènes ($N_m=1.83$). D'autre part, le test de Mantel révèle que la différenciation génétique entre les groupes de cultivars n'est pas corrélée à la distance géographique ($r=0.12$, $p=0.36$).

En ce qui concerne l'analyse hiérarchique, les cultivars étudiés sont regroupés en 4 sous-groupes indépendamment de leur origine géographique et leur dénomination. Ce résultat est confirmé par le test de Mantel qui indique que les distances génétiques entre les cultivars ne sont pas corrélées avec les distances géographiques. De plus, certains cultivars avec différentes appellations (HAM1, HAM2, HAM3, DLH et TAB) et (BLA2 et ROD) sont regroupés ensemble, ce qui indique la présence de synonymie et d'homonymie entre les différents cultivars étudiés.

De même, l'analyse bayésienne de structuration a regroupé les cultivars de prunier étudiés en quatre groupes indépendamment de leur origine géographique et leur dénomination. En effet, les cultivars Hamra1, Tabarkakacht et Dlahi (avec différentes appellations et de couleur de l'épiderme rouge) sont regroupés dans le même groupe, alors

que les cultivars Safra1, Safra2, Safra3 et Safra4, sous les mêmes appellations sont distribués dans deux groupes. Ce résultat est confirmé par les relations révélées entre ces cultivars par l'analyse morpho-pomologique.

A la lumière des résultats obtenus dans cette étude, on peut avancer que l'analyse de la diversité génétique et les relations génétiques entre les différents cultivars, en se basant sur l'analyse des marqueurs ISSR, a permis de détecter des associations significatives. Ainsi, ces marqueurs se sont avérés très efficaces en termes de mise en évidence du polymorphisme moléculaire des deux espèces (*P. domestica* et *P. salicina*). Ces résultats obtenus sont de grande importance pour résoudre le problème d'appellation du prunier cultivé au Maroc et pour déterminer le nombre exact de cultivars de prunier au Maroc afin d'établir une collection de base nationale.

CONCLUSION GENERALE

Le prunier a une importance économique indéniable tant au niveau mondial qu'au niveau national. Au Maroc, même s'il est largement représenté par plusieurs cultivars locaux ou des variétés introduites, il reste encore peu étudié. Le présent travail sur la diversité du prunier provenant de différentes régions du Maroc a permis la caractérisation de la diversité génétique de ces espèces à l'aide de trois types de marqueurs : morphologique, biochimique et génétiques.

Dans la première partie de cette étude qui a porté sur la caractérisation morpho-pomologique des pruniers au Maroc, les résultats acquis ont montré la présence d'une variabilité importante entre les cultivars pour la majorité des paramètres étudiés. D'autre part, les résultats obtenus ont montré que certains caractères sont plus discriminants que d'autres. Ainsi, se sont le poids, la taille, la longueur, le diamètre du fruit, la largeur du noyau et la longueur des feuilles qui sont les plus variables. Certains cultivars comme Angeleno (ANG), Fortune1 (FOR1) et Fortune2 (FOR2) ont une valeur économique très importante, ils se caractérisent par des fruits de grande taille et des valeurs de poids très élevées. D'autre part, l'analyse en composantes principales a révélé la formation de trois groupes distincts indépendamment de leurs origines géographiques, dont la variété Stanley forme à seule un groupe. La classification hiérarchique a regroupé les cultivars de prunier étudié indépendamment de leurs origines géographiques et leurs dénominations. De même, les résultats obtenus ont montré des problèmes d'appellation des cultivars avec l'existence de synonymie ou d'homonymie.

Concernant l'analyse de la composition biochimique, on note que l'ensemble des paramètres analysé à savoir la teneur en matière sèche, humidité, cendres, fibres, pH, acidité titrable, vitamine C, solides solubles totaux, sucres, polyphénols, anthocyanes, flavonoïdes et activité antioxydante ainsi que les éléments minéraux (Mg, Mn, Cu, Fe, Zn et Ni) montrent des différences significatives entre les cultivars à l'exception des protéines et le potassium. Ce résultat montre clairement une différence entre les cultivars étudiés. D'autre part, les résultats obtenus ont montré que les cultivars de prunier marocain sont riches en vitamine C, sucres et flavonoïdes. Ces résultats montrent bien que les prunes marocains peuvent être utilisées comme une bonne source de composés naturels à activité antioxydante. De plus, l'analyse des minéraux a révélé que le prunier marocain est riche en éléments minéraux, essentiellement en potassium, cuivre et manganèse. De même, les résultats ont montré une importante variabilité concernant les teneurs de la majorité des paramètres biochimiques étudiés. Par ailleurs, les paramètres biochimiques les plus discriminants sont les cendres, les

fibres, l'acidité titrable, solides solubles totaux, flavonoïdes, anthocyanes et certains éléments minéraux (Mn, Zn). De point de vue qualité nutritionnelle, le cultivar Lmozari s'est distingué par ces valeurs élevées de la teneur en vitamine C, en protéines, en polyphénols, en flavonoïdes, en cuivre et en fer. L'analyse en composantes principales montre que les cultivars de prunier formaient trois groupes indépendamment de leurs origines géographiques. Le premier groupe est constitué de cultivar Lmozari, Hamra, Lbayda, Dlahi, Safra-rkika et Lbyade 2, qui sont caractérisés par des valeurs élevées de solides solubles totaux, de l'acidité titrable, des protéines, des éléments Mn et Zn. Le deuxième groupe est constitué de cultivar Stanley, Fortune, Black-amber, Tabarkakacht et Frigo avec des valeurs élevées de cendres, de fibres, de pourcentage du piégeage du radical DPPH et d'anthocyanes. Le troisième groupe est composé de cultivar Santa-rosa, Lbyade 1, Lbide et Safra, caractérisés par une faible quantité de protéines.

Par ailleurs, un grand niveau de polymorphisme moléculaire a été repéré entre les cultivars étudiés par les marqueurs ISSR. Les résultats obtenus ont montré l'efficacité et la puissance des marqueurs générés (84 ISSR) dans l'évaluation du niveau du polymorphisme et de sa structuration et estimé les flux géniques entre les groupes. Les analyses ont montré une grande diversité génétique des groupes étudiés, ce qui indique que chaque site est très important pour le pool génétique du prunier. Les résultats des analyses UPGMA ont divisé tous les cultivars en quatre groupes.

Compte tenu de l'ensemble de ces résultats, il paraît clair que la diversité phénotypique, biochimique et génétique du prunier constitue une étape primordiale pour la valorisation de ressources génétiques de ces espèces, minimiser l'érosion génétique et de résoudre le problème des erreurs d'appellation, déterminer le nombre exact de cultivars et fournissant aussi une matière première de choix pour la sélection dans les programmes d'amélioration de prunier,

Quoiqu'il en soit, nos résultats démontrent qu'il est nécessaire d'entreprendre des études supplémentaires afin d'avoir un meilleur portrait de la variabilité génétique de prunier au Maroc, arbre de grande importance économique. Ainsi, dans le but de compléter ces travaux et de rentabiliser davantage nos investigations, nos recherches doivent être poursuivies par:

- Augmentation du nombre de cultivars en y apportant de nouveaux cultivars provenant d'autres régions au Maroc.

- Élaboration des relations entre les marqueurs moléculaires et traits agronomiques d'intérêt.
- Confrontation des résultats d'analyse de ressource génétique marocaine du prunier à ceux de certains pays méditerranéens.
- Approfondissement de l'étude biochimique par l'identification des polyphénols, des acides organiques et des acides aminés et par l'analyse des noyaux des cultivars.
- Affinement de l'analyse de la diversité génétique par l'utilisation d'autres marqueurs moléculaires comme les SSR et les SNP des génomes nucléaires et cytoplasmiques (chloroplastique et mitochondriale).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. Ait bella Y, Bouda S, Haddioui A, 2018. Phenotypic Diversity Analysis of Plum (*Prunus domestica* L.) Cultivars. *Phytomorphology*. 68 (3&4): 93-101.
2. Ajal E, Jbir R, Legua P, Martínez J.J, Martinez R, Salhi Hannachi A, Haddioui A, 2015. Genetic diversity of Moroccan pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars using AFLP markers. *Australian Journal of Crop Science*, 9: 22-29.
3. Ali SH, Sinjare DY, Jubrael JM, 2015. Analysis of Plum (*Prunus domestica* L.) Genotypes of Duhok City Using AFLP Markers. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 1, 64–69.
4. Al-Khayri JM, Jain SM, Johnson DV, 2018. *Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits*. Springer, vol.3.P 168.
5. Ana C.M.C, Yacenia M.C, Elberth H.P, Ivan A.A.M, 2015. Molecular characterization of the plum collection [*Prunus domestica* (L.) Borkh] of the Pedagogical and Technological University of Colombia. *Afr. J. Biotechnol.* 14, 257–263.
6. Anderson KJ, Teuber SS, Gobeille AP, Cremin P, Waterhouse AL, Steinberg FM, 2001. Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. *J Nutr*, 131:2837–2842.
7. Anwar F, Manzoor M, Bukhari I.H, Aladedunye F, 2014. Physico-chemical attributes of fruit seed oils from different varieties of peach and plum. *J. Adv. Biol.*, 4:385–390.
8. Aryapak S, Ziarati P, 2014. Nutritive Value of Persian Walnut (*Juglans regia* L.) Orchards. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 14, 1228-35.
9. Athanasiadis I, Nikoloudakis N, Hagidimitriou M, 2013. Genetic relatedness among cultivars of the Greek plum Germplasm. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41: 49-498
10. Attaluri A, Donahoe R, Valestin J, Brown K, Rao SSC. 2011. Randomised clinical trial: dried plums (prunes) vs. psyllium for constipation. *Aliment Pharmacol Ther*, 33: 822–828.
11. Aran M, Fatahi R, Zamani Z, 2012. Molecular and morphological discrimination of selected plum seedlings for rootstock breeding. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, Vol. 20(1): 5-19.
12. Blazek J, 2007. A survey of the genetic resources used in plum breeding. *Acta Horticultur* 734, 31-45.

13. Baraket G, Abdallah D, Ben Mustapha S, Ben Tamarzizt H, Salhi-Hannachi A, 2019. Combination of Simple Sequence Repeat, S –Locus Polymorphism and Phenotypic Data for Identification of Tunisian Plum Species (*Prunus* spp.). *Biochemical Genetics*, 57(3):673–694.
14. Ben Tamarzizt H, Baraket G, Ben Mustapha S, Marrakchi M, Trifi M, Salhi-Hannachi A, 2009 Genetic relatedness among Tunisian plum cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis and evaluation of phenotypic characters. *Sci. Hortic.* 121, 440–446.
15. Ben Tamarzizt H, Baraket G, Ben Mustapha S, Trifi M, Salhi Hannachi A, 2012. Morphological and pomological variability analysis of tunisian plum cultivars. *Biologia Tunisie Juillet*; N°7 ; 6 – 13.
16. Ben Mustapha S, Ben Tamarzizt H, Baraket G, Abdallah D, Salhi Hannachi A, 2015. Genetic diversity and differentiation in *Prunus* species (Rosaceae) using chloroplast and mitochondrial DNA CAPS markers. *Genetics and Molecular Research*, 14 (2): 4177-4188.
17. Ben Tamarzizt H, Ben Mustapha S, Baraket G, Abdallah D, Salhi-Hannachi A, 2015. Assessment of genetic diversity and relationships among wild and cultivated Tunisian plums (*Prunus* spp.) using random amplified microsatellite polymorphism markers. *Genetics and Molecular Research*, 14: 1942-1956.
18. Bianchi V.J, Fachinello J.C, Schuch M.W, 2003. RAPDs on genetic-molecular characterization and genetic variability study of plums. *Rev. Bras. Frutic.* , Jaboticabal - SP, v. 25, n. 2, p. 272-274.
19. Botstein D, White R.L, Skolnick M, Davis R.W, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32:314-331.
20. Bouhadida M, Martín J.P, Eremin G, Pinochet J, Moreno M.Á, Gogorcena Y, 2007. Chloroplast DNA diversity in *Prunus* and its implication on genetic relationships. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132: 670-679.
21. Bozhkova V, 2014. Chemical Composition and Sensory Evaluation of Plum Fruits. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 15(1): 31-35.
22. Bussel J.D, (1999). The distribution of random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) diversity among populations of *Isotoma petraea* (Lobeliaceae). *Molecular ecology*, (8): 775-789

23. Butac M, Bozhkova V, Zhivondov A, Milošević N, Bellini E, Nencetti V, Blazek J, Balsemin E, Lafarque B et al., 2013. Overview of plum breeding in Europe. *Acta Hort.* 981:91–98.
24. Byrne D, Cisneros-Zevallos L, Ramming D, 2008. Cardiovascular health benefits of peaches and plums. *California Tree Fruit Agreement*, 65–85.
25. Çalışkan M, 2012. Genetic Diversity in Plants. *InTech*. P 10.
26. Cao G, Sofic E, Prior R.L, 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Rad. Biol. Med.*, 22, 749–760.
27. Cevallos-Casals B.A, Byrne D, Okie W.R, Cisneros-Zevallos L, 2006. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chem.*, 96, 273–280.
28. Choudhary D, Mehta A, 2010. *Fruit Crops*. Oxford Book Company.
29. Caillavet H, 1991. Variétés anciennes de pruniers domestiques. BRG et INRA, P 20-23.
30. Carrasco B, Díaz C, Moya M, Gebauer M, García-González R, 2012. Genetic characterization of Japanese plum cultivars (*Prunus salicina*) using SSR and ISSR molecular markers. *Cienc Investig Agrar.* 39: 533-543.
31. Culley T.M, Wolfe A.D, 2000. Population genetic structure of the cleistogamous plant species *Viola pubescens* Aiton (Violaceae), as indicated by allozyme and ISSR molecular markers. *Heredity*, 86:545-556.
32. Cummins J.N, Aldwinckle H.S, 1983. Rootstocks breeding. In: Moore, J.N., Janick, J. (Eds.), *Methods in Fruit Breeding*. Purdue University Press, West Lafayette, pp. 294–327.
33. Crisosto C.H, Garner D, Crisosto G.M, Bowerman E, 2004. Increasing ‘Blackamber’ plum (*Prunus salicina* Lindley) consumer acceptance. *Postharvest Biology and Technology*, 34: 237-244.
34. Crossa J, Hernandez C.M, Bretting P, Eberhart S.A, Taba S, 1993. Statistical genetic considerations for maintaining germplasm collections. *Theor Appl Genet*, 86: 673–678.
35. Das B, Ahmed N, Singh P, 2011. *Prunus* diversity early and present development: a review. *Int. J. Biodivers. Conserv.*, 3, 721–734, <http://dx.doi.org/10.5897/ijbcx11.003>.

36. De Riek J, Calsyn E, Everaert I, Van Bockstaele E, De Loose M, 2001. AFLP-based alternatives for the assessment of distinctness, uniformity and stability of sugar beet varieties. *Theor. Appl. Genet.*, 103: 1254-1265.
37. Diaz-Mula H.M, Zapata P.J, Guillen F, Castillo S, Martinez-Romero D, Valero D, and Serrano M, 2008. Changes in physiochemical and nutritive parameters and bioactive compounds during development and on-tree ripening of eight plum cultivars: a comparative study. *J. Sci Food Agr.* 88: 2499–2507.
38. Dimkova S, Ivanova D, Stefanova B, Marinova N, Todorova S, 2018. Chemical and Technological Characteristic of Plum Cultivars of *Prunus domestica* L. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24 (Suppl. 2): 43-47.
39. Dozier, W.A, Knowles J.W, Carlton C.C, 1984. Survival, growth, and yield of peach trees as affected by rootstocks. *HortScience*, 19, 26–30.
40. Dragan N, Dragan M, 2010. Examining self-compatibility in plum (*Prunus domestica* L.) by fluorescence microscopy. *Genetika*, V 42, Issue 2, Pp: 387-396.
41. Dubois F, Gilles X.A, Hamilton J.K, Rebecs P.A, Smith F, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, Vol 28, pp. 350-356.
42. Earl D.A, von Holdt, B.M, 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4: 359-361.
43. Engels J.M.M, 2003. Stratégies de gestion et de conservation des ressources phylogénétiques : problèmes et progrès. *Acta Horticulturae*, 634(623). 10.17660/ActaHortic.2003.623.19
44. Ertekin C, Gozlekci S, Kabas O, Sonmez S, Akinci I, 2006. Some physical, pomological and nutritional properties of two plum (*Prunus domestica* L.) cultivars. *J. Food Engin.*, 75, 508–514.
45. Evanno G, Regnaut S, Goudet J, 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14 (8): 2611-2620.
46. Fadón E, Herrera S, Guerrero B.I, Guerra M.E, Rodrigo J, 2020. Chilling and Heat Requirements of Temperate Stone Fruit Trees (*Prunus* sp.). *Agronomy*, 10, 409.

47. Falush D, Stephens M, Pritchard J.K, 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164: 1567–1587
48. Fang N, Yu S, Prior R.L, 2002. LC/MS/MS characterization of phenolic constituents in dried plums. *J. Agricult. Food Chem.*, 50, 3579–3585.
49. FAO, 2016. ROYAUME DU MAROC. Rapport résumé sur l'état de la biodiversité pour l'agriculture et l'alimentation au Maroc. Juillet.
50. FAOSTAT, 2018. FAOSTAT Crops. <http://faostat.fao.org/beta/en/#data/QC>. Accédé le 11 Mai 2020.
51. Faust M, Surányi D, 1999. Origin and dissemination of plums. *Hort. Rev.* 23, 179–231.
52. Fennane M, 2004. Propositions de Zones Importantes pour les Plantes au Maroc (ZIP Maroc), Rabat.
53. Ferranti P, 2016. Preservation of Food Raw Materials. Reference Module in Food Science. Elsevier Inc. doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.03445-4
54. Francis C, Yang R, 1999. Popgene version 1.31.
55. Fukuda T, Ito H, Yoshida T, 2003. Antioxidative polyphenols from walnuts (*Juglans regia* L.). *Phytochem*, 63 :795-801.
56. Gharbi O, Wunsch A, Rodrigo J, 2014. Characterization of accessions of 'Reine Claude Verte' plum using *Prunus* SRR and phenotypic traits. *Scientia Horticulturae* 169: 57-65.
57. Gil M.I, Tomas-Barberan F.A, Hess-Pierce B, Kader A.A, 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J. Agricult. Food Chem.*, 50, 4976–4982.
58. Gilbert J.E, Lewis R.V, Wilkinson M.J, Langride P, 1999. Developing and appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections. *Theor Appl Genets*, 98:1125-1131.
59. Glišić I, Karaklajić-Stajić Z, Paunović S.A, Lukić M, 2016. Plum cultivars Zlatka and Pozna Plava (*Prunus domestica* L.) bred at the Fruit Research Institute in Čačak. *Hort. Sci. (Prague)*, 43: 10–16.

60. Glišić I, Milatovic D, Cerović R, Radičević S, Đorđević M, Milošević N, 2017. Examination of self-compatibility in promising plum (*Prunus domestica* L.) genotypes developed at the Fruit Research Institute Čačak. *Scientia Horticulturae*. 224:156–162.
61. Głowacka A, Rozpara E, 2017. Evaluation of several dessert cultivars of plum, new under climatic conditions of Poland. *Hort. Sci. (Prague)*, 44: 126–132.
62. Grushin A.A.A, Sidnin A.S, 2017. The study of biochemical composition of fruits of plum in conditions of the lower volga region. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. V 178, 2, 48-55.
63. Guerra M.E, Wunsch A, Lopez-Corrales M, Rodrigo J, 2011. Lack of fruit set caused by ovule degeneration in Japanese plum. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 136,375–381.
64. Guerra M.E, Rodrigo J, 2015. Japanese plum pollination: A review. *Scientia Horticulturae*, 197:674-686.
65. Hamrick J.L, Godt M.J.W, Sherman-Broyles S.L, 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New EW Forest*, 6: 95-125.
66. Hansmann C.F, Combrink J.C, 2003. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*.
67. Hartmann W, Neumüller M, 2009. Plum breeding. In: Jain SM, Priyadarshan PM (eds) *Breeding plantation tree crops: temperate species*, 1st edn. Springer Science+Business Publishing, NY, USA, pp 161–231.
68. Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, Okuda T, 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 2090–2097.
69. Hedrick U.P, 1911. *The Plums of New York* Lyon J. B., Albany.
70. Heo J.H, Kim J.Y, Chung D, Kim O.D, 2007. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chem*, 104(1):87–92.
71. Horvath A, Balsemin E, Barbot J-C., Christmann H, Manzano G, Reynet P, Laigret F, Mariette S, 2011. Phenotypic variability and genetic structure in plum (*Prunus domestica* L.), cherry plum (*P. cerasifera* Ehrh.) and sloe (*P. spinosa* L.). *Scientia Horticulturae*, 129: 283-293.
72. Hummer K.E, Janick J, 2009. Rosaceae: Taxonomy, Economic Importance, Genomics. In: Kevin M F, Susan E G (eds) *Genetics and genomics of Rosaceae*. Springer, New York, 2009, pp. 1-19.

73. Igwe E.O, Charlton K.E, 2016. A Systematic Review on the Health Effects of Plums (*Prunus domestica* and *Prunus salicina*). *Phytotherapy Research*. 30: 701–731
74. Ilgin M, Kafkas S, Ercisli S, 2009. Molecular characterization of plum cultivars by AFLP markers. *Biotechnology and Biotechnological. Equipment*. 23, 1189–1193.
75. Ionica M.E, Nour V, Trandafir I, Cosmulescu S, Botu M, 2013. Physical and Chemical Properties of Some European Plum Cultivars (*Prunus domestica* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, Vol. 41(2), pp. 499-503.
76. IPCC. *Climate Change, 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, IPCC, Geneva, Switzerland.
77. Iezzoni A.F, Pritt M.P, 1991. Application of principal component analysis to horticultural research. *Hort. Sci.* 26: 334-338.
78. IPGRI (International Board for Plant Genetic Resources) and CEC (Commission of European Communities 1984. Committee on disease resistance breeding and use of genebanks, Descriptor list for plum and allied species. (Eds. Cobianchi D, Watkins R), pp. 31.
79. Jabeen Q, Aslam N, 2011. The pharmacological activities of prunes: The dried Plums. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 5(9), pp. 1508-1511.
80. Jaenicke H, Beniest J. 2003. *La Multiplication Végétative des Ligneux en Agroforesterie*. World Agroforestry Centre (ICRAF).
81. Jaiswal R, Karakose H, Ruhmann S, Goldner K, Neumuller M, 2013. Identification of Phenolic Compounds in Plum Fruits (*Prunus salicina* L. and *Prunus domestica* L.) by High-Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry and Characterization of Varieties by Quantitative Phenolic Fingerprints. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61, 12020 – 12031.
82. Jakobsson M, Rosenberg N.A, 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23(14): 1801–1806.
83. Jia Z.S, Tang M.C, Wu J.M, 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64:555 – 559.

84. Jiménez S, Pinochet J, Gogorcena Y, Betran J, Moreno M.A, 2007. Influence of different vigour cherry rootstocks on leaves and shoots mineral composition. *Sci. Hortic.* 112 (1):73–79.
85. Jacob, D., 2010. *Temperate Horticulture Current Scenario*. Oxford Book Company. pp 113-125.
86. Kabiri G, Bouda S, Elhansali M, Haddioui A, 2019. Genetic diversity and structure of walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from middle and high atlas mountains of Morocco as investigated by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) markers. *Australian journal of crop science*, 13(12):1983-1991.
87. Kader A.A, 2011. Maturation and maturity indices. In: *Postharvest technology of horticultural crops*. Edition of third edition. University of California. Publication 3529. pp.55–62.
88. Kahl G, 2001. *The Dictionary of Gene Technology*. Wiley- VCH, Weinheim.
89. Kaplan J, Delpech M, 1993. *La cartographie du génome humain*. Biologie moléculaire et médecine, Paris, Flammarion, 234-269.
90. Karimi H.R, Zamani Z, Ebadi A, Fatahi M.R, 2008. Morphological diversity of pistacia species in Iran. *Genetic Resource Crop*, 44, 76-81.
91. Karp D, 2015. Luther Burbank’s plums. *Hortscience*, 50, 189–194.
92. Karasawa K, Miyashita R, Otani H, 2012. Anti-allergic properties of a fruit extract of prune (*Prunus domestica* L.) in mitesensitized BALB/c mice. *Food Sci Technol Res*, 18: 755–760.
93. Khanizadeh S, Cousineau J, 2014. *Our Plums*. Agriculture and Agri-Food Canada Research Station.
94. Khadivi-Khub A, Barazandeh M, 2015. A Morphometric Study of Autochthonous Plum Genotypes Based on Multivariate Analysis. Springer. DOI 10.1007/s10341-015-0247-5.
95. Kim D.O, Jeong, S.W, Lee C.Y, 2003a. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81, 321–326.
96. Kim D.O, Chun O.K, Kim Y.J, Moon H.Y, Lee C.Y, 2003b. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agricult. Food Chem.*, 51, 6509–6515.

97. Kiralan M, Kayahan M, Kiralan S.S, Ramadan M.F, 2018. Effect of thermal and photo oxidation on the stability of cold-pressed plum and apricot kernel oils. *Eur. Food Res. Technol.*, 244:31–42.
98. Kishor, D.S.,Woon-Ho Song, Yoonji Noh, Gung Pyo Lee, Younghoon Park, Jin-Kee Jung, Eun-Jo Shim, Sang-Min Chung, 2020. Development of SNP markers and validation assays in commercial Korean melon cultivars, using Genotyping-by-sequencing and Fluidigm analyses. *Scientia Horticulturae*.Vol 263, 109113.
99. Klabunde G.H.F, Dalbó M.A, Nodari R.O, 2014. DNA fingerprinting of Japanese plum (*Prunus salicina*) cultivars based on microsatellite markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 14: 139-145.
100. Konarska A, 2015. Characteristics of Fruit (*Prunus domestica L.*) Skin: Structure and Antioxidant Content. *International Journal of Food Properties*, 18:2487–2499.
101. Kozłowski T.T, Pallardy S.G, 1997. *Physiology of Woody Plants*. Academic Press, San Diego, CA.
102. Kumar D, Srivastava K. K, Singh S.R, 2018. Morphological and horticultural diversity of plum varieties evaluated under Kashmir conditions. *Tropical plant research*, 5(1): 77–82.
103. Kwon J.H, Eun-Young Nam, Ji-Hae Jun, Kyeong-Ho Chung, Seok-Kyu Yun, Sung-Jong Kim, Yun-Soo Do. 2018. Asian Plum Diversity Based on Phenotypic Traits in Republic of Korea. *Korean Journal of Plant Resources*. 31(3): 254-267.
104. Laabassi ML, Laroussi BF, 2010. Bulletin trimestriel d'information du centre régional de la recherche agronomique de Tanger. Maroc.
105. Layne R.E.C, 1987. Peach rootstocks. In: Rom, R.C., Carlson, R.F. (Eds.), *Rootstocks for Fruit Crops*. John Wiley and Sons, NY, pp. 185–216.
106. Leong, L.P., Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.*, 76, 69–75.
107. Lespinasse J.M, Leterme E, 2005. De la taille à la conduite des arbres fruitiers. Ed.Rouergue- par saint Joseph.France, pp104.
108. Linder C, Kehrli P, Kuske S, 2018. Guide Arbo d'Agroscope. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, Vol. 50 (1): 42-45.

109. Li-Wang L, Wang Y, Gong Y, Zhao T, Liu G, Li X.Y, Yu F.M, 2007. Assessment of genetic purity of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) hybrid using molecular markers. *Sci. Hortic.*, 115, 7–12.
110. Li Y, Schellhorn H.E. 2007. New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *Journal of Nutrition*, 137(10):2171-84.
111. Liu W, Liu D, Zhang A, Feng C, Yang J, Yoon J., Li S, 2007. Genetic diversity and phylogenetic relationships among plum germplasm resources in China assessed with inter-simple sequence repeat markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(5): 619-628.
112. Lombardi-boccia G, Lucarini M, Lanzi S, Aguzzi A, Cappelloni M, 2004. Nutrients and Antioxidant Molecules in Yellow Plums (*Prunus domestica* L.) from Conventional and Organic Productions: A Comparative Study. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 90–94.
113. Lopez G, DeJong T.M, 2007. Spring temperatures have a major effect on early peach fruit growth. *J. Hort. Sci. Biotech.*, 82 (4): 507-512.
114. Lopez G, Johnson R.S, DeJong T.M, 2007. High spring temperatures decrease peach fruit size. *Calif. Agr.* 61:31–34.
115. Lozano M, Vidal-Aragón M.C, Hernández M.T, Ayuso M.C, Bernalte M.J, García J, Velardo B, 2009. Physicochemical and nutritional properties and volatile constituents of six Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars. *Europ. Food Res. Technol.*, 228, 403–410.
116. Maglakelidze E, Bobokashvili Z, Maghradze D, 2017. Biological and Agronomical Characteristics of Local and Introduced Plum (*Prunus domestica* L.) Cultivars in Georgia. *International Journal of Horticultural Science and Technology*. Vol. 4, No. 2; pp 157-166.
117. Mahhou A, Raquib A, 2006. Régulation de la production du prunier japonais *Prunus salicina* Lind L. à l'aide du cyanamide d'hydrogène "Dormex" dans la région de Rabat au Maroc | INRA. *Al Awamia*. 3: 118–135.
118. Maire R, 1980. Flore de l'Afrique du nord. Vol:15, P 84-86.
119. Manco R, Basile B, Capuozzo C, Scognamiglio P, Forlani M, Rao R, Corrado G, 2019. Molecular and Phenotypic Diversity of Traditional European Plum (*Prunus domestica* L.) Germplasm of Southern Italy. *Sustainability*. 11, 4112, 1-14.

120. Manganaris G.A, Vicente A.R, Crisosto C.H, 2008. Effect of pre-harvest and post-harvest conditions and treatments on plum fruit quality. *Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*; 3, No. 009.
121. Mantel N.A, 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res*, 27:209–220.
122. Marsh K.A, Munn E.A, Baines S.K, 2013. Protein and vegetarian diets. *The Medical Journal of Australia*; 199 (4): S7-S10. doi: 10.5694/mja11.11492.
123. Mariotti F, Tomé D, Mirand P.P, 2008. Converting Nitrogen into Protein Beyond 6.25 and Jones' Factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48(2):177-84.
124. Marti A, Saski C.A, Manganaris G.A, Gasic K, Crisosto C.H, 2018. Genome Sequencing in Japanese Plum (*Prunus salicina* lindl.) mutants provide a new model for Rosaceae Fruit Ripening Studies. *Frontiers in Plant Science*, V 9, A 21.
125. Merioua S.M, 2018. Manuel pratique des pépinières du Nord Algérie, Institut des Sciences Et Technologies, Centre Universitaire el Wancharissi-Tissemsilt.
126. Milosevic T, Glisic I, Milosevic N, 2009. Dense planting effect on the productive capacity of some plum cultivars. *Acta Horticulturae* 825: 485–490.
127. Milosevic T, Milosevic N, Mratinic E, 2010. Morphogenic variability of some autochthonous plum cultivars in western Serbia. *Braz Arch Biol Tech* 53(6):1293–1297.
128. Milošević N, 2013. Degree of fertilization and biological traits of new plum cultivars (*Prunus domestica* L.). PhD thesis, Faculty of Agriculture, Belgrade-Zemun (in Serbian)
129. Milošević T, Milošević N, Glišić I, 2013. Agronomic properties and nutritional status of plum trees (*Prunus domestica* L.) influenced by different cultivars. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3), 706-714.
130. Milošević T, Milošević N, 2012. The physical and chemical attributes of plum influenced by rootstock. *Acta Aliment*, 41(3):293–303
131. Milošević T.N, Glišić S.I, Lukić M, Đorđević M, Stajić Ž.K, 2016. Properties of some late season plum hybrids from Fruit Research Institute Čačak. *Agric Consp Sci* 81(2):65–70.

132. Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural, des Eaux et Forêts (MAPMDREF), 2017. Situation de l'Agriculture Marocaine. septembre 2017, N° 12.
133. Mišić P, 2006. Plum. Partenon, Belgrade, Serbia (in Serbian).
134. Mohan Jain S, Häggman H, 2007. Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Springer.
135. Nei M, 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 70:3321–3.
136. Nei M, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89:583-590.
137. Nergiz C, Yildiz H, 1997. Research on chemical composition of some varieties of European plums (*Prunus domestica*) Adapted to the Aegean District of Turkey. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45: 2820-2823.
138. Neumüller M, 2011. Fundamental and applied aspects of plum (*Prunus domestica*) Breeding. Fruit, vegetable and cereal science and biotechnology 5 (Special Issue 1), pp 139-156, Global Science Books.
139. Nisar H, Maqsood A, Sajjad H, Muhammad A.A, 2015a. Biodiversity in morpho-physiological characteristics of indigenous plum germplasm from Azad Jammu and Kashmir, Pakistan. Zemdirbyste-Agriculture, vol. 102, No. 4, p. 423–430 DOI 10.13080/z-a.2015.102.054.
140. Nisar H, Ahmed M, Akbar Anjum M, Hussain S, 2015b. Genetic diversity in fruit nutritional composition, anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity of plum (*Prunus domestica*) genotypes. Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus, 14(1), 45-61.
141. Noratto G, Martino H.S.D, Simbo S, Byrne D, Mertens-Talcott S.U, 2015. Consumption of polyphenol-rich peach and plum juice prevents risk factors for obesity-related metabolic disorders and cardiovascular disease in Zucker rats. J Nutr Biochem, 26: 633–641.
142. Ogawa J.M, Zehr E.I, Bird G.W, Richie D.F, Urio K, Uyemoto J. K, 1995. Compendium of Stone Fruit Diseases. eds. American Phytopathological Society Press,
143. Oh T.J, Gorman M., Cullis C.A, 2000. RFLP and RAPD mapping in flax (*Linum usitalissimum*). Theor. Appl. Genet., 101:590-593.

144. Okie W.R, Ramming D.W, 1999. Plum breeding worldwide. Hort Technology, 9(2):162–176.
145. Okie W.R, Hancock J.F, 2008. Plums, Hancock J.F, (Eds) Temperate Fruit Crop Breeding: Germplasm to Genomics. Springer.337-357.
146. Ortiz A, Renaud R, Calzada I, Ritter E, 1997. Analysis of plum cultivars with RAPD markers. J Hort Sci. 72:1-9.
147. Ough C.S, Amerine M.A, 1988. Methods Analysis of Musts and Wines, 2nd Ed. John Wiley, New York, USA.
148. Oukabli A, Mamouni A, 2005. Transfert de technologie en agriculture. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA.
149. Peller J.R, 1998. Exploring Chemistry; Laboratory Experiments in General, Organic and Biological Chemistry. Prentice Hall: New Jersey, p.163–173.
150. Pennington, J.A.T, 2002. Food Composition Databases for Bioactive Food Components. J Food Comp. Anal., 15: 419–434.
151. Pesson P, Louveaux J, 1984. Pollinisation et productions végétales. Paris : Inra. P 363.
152. Petróczy M.H, 2009. Appearance of *Monilinia fructicola* and *Monilia polystroma* in Hungary and newer possibility of the protection. Doctoral School of Horticultural Science. Corvinus University, Budapest.
153. Pirkhezri M, Fatahi Mogadam M.R, Ebadi E, Hassani D, Abdoosi V, 2014. Morphopomological study of some new Japanese plum (*Prunus Salicina* Lindl) cultivars grown in Iran. International Journal of Biosciences. Vol. 5, No. 8, p. 180-187.
154. Potter D, 2012. Basic Information on the Stone Fruit Crops. In: Kole C, Abbott A.G, (eds) Genetics, Genomics and Breeding of Crop Plants. CRC Press, Taylor & Francis Group. PP 1-22.
155. Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A, 1996. The utility of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Mol Breed, 2: 225-238.
156. Pritchard J.K, Stephens M, Donnelly P, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155: 945-959.
157. Ramming D.W, Cociu V, 1991. PLUMS (PRUNUS). Acta Horticulturae 235-290.

158. Ranganna S, 1955. Handbook of Analysis and Quality control For Fruit and vegetable Products, Second edition, Tata McGraw-Hills Publishing Company Limited, New Delhi.
159. Rato E.A, Agulheiro C.A, Barroso M.J, Riquelme F, 2008. Soil and rootstock influence on fruit quality of plums (*Prunus domestica* L.). *Sci Hort*, 118(3):218–222.
160. Rhoif F, 1998. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system Version 2.02. Applied Biostatistics.
161. Roldàn-Ruiz I, Dendauw J, Van Bockstaele E, Depicker A, De Loose M, 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular breeding*. 6(2):125–134.
162. Rop O, Jurikova T, Mlcek J, Kramarova D, Sengee Z, 2009. Antioxidant activity and selected nutritional values of plums (*Prunus domestica* L.) typical of the White Carpathian Mountains. *Scientia Horticulturae*, 122 , 545–549.
163. Rosenberg N.A, 2004. DISTRUCT: a program for the graphical display of population. *Molecular Ecology Notes*, 4: 137–138.
164. Ruck J.A, 1963. Chemical methods for analysis of fruit and vegetable products. Research Station, Summerland, Contribution No. B7. Research Branch, Canada Department of Agriculture, Ottawa.
165. Rupasinghe V. H.P, Jayasankar S, Lay W, 2006. Variation in total phenolics and antioxidant capacity among European plum genotypes. *Scientia Horticulturae*, 108, 243–246.
166. Saidi S, 2007. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture (RPGAA). INRA, Rabat.
167. Sarigu, M., Oscar Grillo, Marisol Lo Bianco, Mariano Uccesu, Guy d'Hallewin, Maria Cecilia Loi, Gianfranco Venora, Gianluigi Bacchetta. 2017 .Phenotypic identification of plum varieties (*Prunus domestica* L.) by endocarps morpho-colorimetric and textural descriptors. *Computers and Electronics in Agriculture*, 136, 25-30.
168. Sarkhosh A, Olmstead M, Miller E.P, Andersen P.C, Williamson, J.G, 2018. Growing Plums in Florida. Series of the Horticultural Sciences Department, UF/IFAS Extension. HS895.

- 169.Šafářová D, Navrátil M, Paprštejn F, Candresse T, Marais A, 2013. Cherry virus a infecting cherries and plums in the Czech Republic - Short communication. Hort. Sci., 40 (1):37-39.
- 170.Savic I, Gajic I.S, Gajic D, 2020. Physico-Chemical Properties and Oxidative Stability of Fixed Oil from Plum Seeds (*Prunus domestica* Linn.). Biomolecules. 10(2):294.
- 171.Sedaghatthoor S, Ansari R, Allahyari M.S, Nasiri E, 2009. Comparison of morphological characteristics of some plum and prune cultivars of Iran. Scientific Research and Essay, 4: 992-996.
- 172.Sehic J, Nybom H, Hjeltnes S.H, Gasi F, 2015. Genetic diversity and structure of Nordic plum germplasm preserved ex situ and on-farm. Scientia Horticulturae, 190:195–202.
- 173.Shannon C.E, 1948. A mathematical theory of communication. Mathematical Reviews, 27:379-423 and 623-656.
- 174.Sidhu L.S, Kaundal G.S, 2005. Effect of planting density on fruit yield, foliar nutrient content and root distribution of plum (*Prunus salicina* Lindl.) cv. Satluj Purple. Acta Horticulturae, 696: 299–302.
- 175.Simsek M, 2010. Determination of Walnut genotypes with high fruit bearing and quality in Dicle, Hani, Egil and Kocaköy Townships. GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi, 27(1):85-93.
- 176.Singleton V.L, Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M, 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Meth. Enzy- mol., 299, 152–178.
- 177.Slatkin M, 1985. Gene flow in natural population. Annu Rev Ecol Evol Syst, 16:393-430.
- 178.Slimestad, R., Vangdal E, Brede C, 2009. Analysis of Phenolic Compounds in Six Norwegian Plum Cultivars (*Prunus domestica* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57, 11370–11375.
- 179.Smith P., Gregory P.J. Climate change and sustainable food production. Proc. Nutr. Soc. 2013; 72:21–28.
- 180.Stacewicz-Sapuntzakis M, Bowen P.E, Hussain E.A, Damayanti-Wood B.I, Farnsworth N.R, 2001. Chemical composition and potential health effects of prunes: a functional food? Crit Rev Food Sci Nutr 41(4):251–286

181. Tejero I.F.G, Zuazo V.H.D, 2018. Water Scarcity and Sustainable Agriculture in Semiarid Environment, Chapitre 5: Agronomical Effects of Deficit Irrigation in Apricot, Peach, and Plum Trees. Academic Press is an imprint of Elsevier.
182. Temel S, Pehlivan M, 2015. Evaluating orchard and poplar leaves during autumn as an alternative fodder source for livestock feeding. *Cien. Inv. Agr.*, 42(1):27-33.
183. Tiwari S.C, Husain N, 2017. Biological activities and role of flavonoids in human health, a review. *Indian J.Sci.Res.*, 12 (2): 193-196.
184. Torrecillas A, Corell M, Galindo A, Pérez-López D, Memmi H, Rodríguez P, Cruz Z N, Centeno A, Intrigliolo D.S, Moriana A, 2018. Agronomical Effects of Deficit Irrigation in Apricot, Peach, and Plum Trees. In: Tejero I.F.G and Zuazo V.H.D (eds) *Water Scarcity and Sustainable Agriculture in Semiarid Environment*. pp 87-109.
185. Treutter D, Diwei Wang, Mohamed A. Farag, Giselle D. Argueta Baires, Susanne Ruhmann, Michael Neumuller. 2012. Diversity of Phenolic Profiles in the Fruit Skin of *Prunus domestica* Plums and Related Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 60, 12011 – 12019.
186. United Nations. *World Population Prospects: The 2012 Revision*. New York: United Nations; 2013.
187. UPOV 2002. International Union for the protection of new varieties of plants, Prunier Européen, TG/41/5(proj.), Genève, pp.39.
188. UPOV 2010. International Union for the protection of new varieties of plants, Prunier Japonais, TG/84/4(proj.4), Genève, pp.45.
189. Urrestarazu J, Errea P, Miranda C, Santesteban L.G, Pina A, 2018. Genetic diversity of Spanish *Prunus domestica* L. germplasm reveals a complex genetic structure underlying. *PLOS ONE* , 13(4): e0195591.
190. USDA Agricultural Research Service, 2018. High ORAC foods may stall aging. Accessed le 3 Mai, 2020 from <http://www.ars.usda.gov/is/pr/1999/990208.htm>.
191. Usenik V, Štampar F, Veberic R, 2009. Anthocyanins and fruit colour in plums (*Prunus domestica* L.) during ripening. *Food Chemistry*, 114, 529–534
192. Veličković, D. T., Mihailo S. Ristić, Ivana T. Karabegović, Saša S. Stojičević, Nada Č. Nikolić, Miodrag L. Lazić, 2016. Plum (*Prunus domestica*) and Walnut (*Juglans regia*): volatiles and fatty oils. *Advanced technologies*, 5(1), 10-16.

193. Vursavus K, Kelebek H, Selli S, 2006. A study on some chemical and physico-mechanic properties of three sweet cherry varieties (*Prunus avium* L.) in Turkey. *J. Food Engin.*, 74, 568–575.
194. Walali L.D.M, Skiredj A, 2003. Transfert de technologie en agriculture. *Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA*.
195. Walkowiak-Tomczak D, Reguła J, Łysiak G, 2008. Physico-chemical properties and antioxidant activity of selected plum cultivars fruit. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 7, 15–22.
196. Wang H, Cao G, Prior R.L, 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric. Food Chem.*, 44: 701-705.
197. Watkins R, 1995. Cherry, plum, peach, apricot and almond: *Prunus* spp. (Rosaceae). In: Smart J, Simmonds NW (eds) *Evolution of crop plants*, 2nd ed. Longman Scientific & Technical, Harlow, pp 423–429.
198. Wolfe D.E, John Strang, Daniel Becker, Shawn Wright, 2019. Rootstocks for Kentucky Fruit Trees. University of Kentucky College of Agriculture, Food and Environment Cooperative Extension Service. Horticulture, HO-82.
199. World Bank. *World Development Report 2008: Agriculture for Development*. Washington, DC: World Bank; 2008.
200. Wu W, Chen F, Yeh K, Chen J, 2018. ISSR Analysis of Genetic Diversity and Structure of Plum Varieties Cultivated in Southern China. *Biology* 2019, 8, 2.
201. Wu Z. Y., Raven P.H, Hong D.Y, eds. 2003. *Flora of China*. Vol. 9 (Pittosporaceae through Connaraceae). Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. pp 403.
202. Xiang-he Y., ZHANG Qiu-ping, LIU Wei-sheng, SUN Meng, LIU Ning, ZHANG Yu-ping, XU Ming. 2011. Genetic Diversity Analysis of Morphological and Agronomic Characters of Chinese plum (*Prunus salicina* Lindl.) Germplasm. *Journal of Plant Genetic Resources*. Vol. 12, No. 3.
203. Xu H-X, Chen J-W, 2011. Commercial quality, major bioactive compound content and antioxidant capacity of 12 cultivars of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits. *J Sci Food Agric*, 91: 1057 – 1063
204. Yaqeen Z, Naqvi N-U-H, Sohail T, Rehman Z, Fatima N, Imran H, Rehman A, 2013. Screening of solvent dependent antibacterial activity of *Prunus domestica*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26(2):409-14.

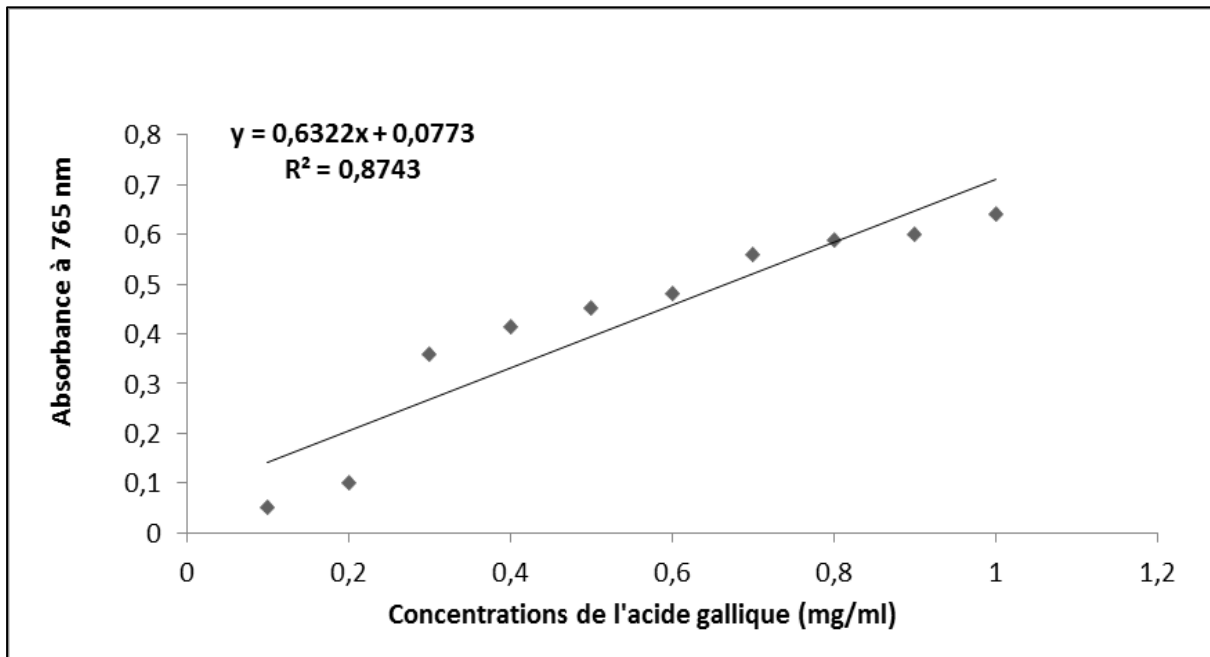
205. Yilmaz K.U, Ercisli S., Asma B.M, Dogan Y., Kafkas S, 2009. Genetic Relatedness in Prunus Genus Revealed by Inter-simple Sequence Repeat Markers. HortScience 44(2):293–297.
206. Yoshida M, 1987. The origin of fruits. 2: plums. Fruit Japan 42, 49–53.
207. Zarrouk O, Gogorcena Y, Gomez-Aparisi J, Betran J.A, Moreno M.A, 2005. Influence of peach almond hybrids rootstocks on flower and leaf mineral concentration, yield and vigour of two peach cultivars. Sci. Hortic. 106, 502–514.
208. Zhebentyayeva T, Shankar V, Scorza R, Callahan A, Ravelonandro M, Castro S, DeJong T, Sasaki A.C, Dardick C, 2019. Genetic characterization of worldwide Prunus domestica (plum) germplasm using sequence-based genotyping. Horticulture Research, 6:12.
209. Zohary D, Hopf M, Weiss E, 2012. Domestication of plants in the old world, 4th edn. Oxford University Press, Oxford.

ANNEXES

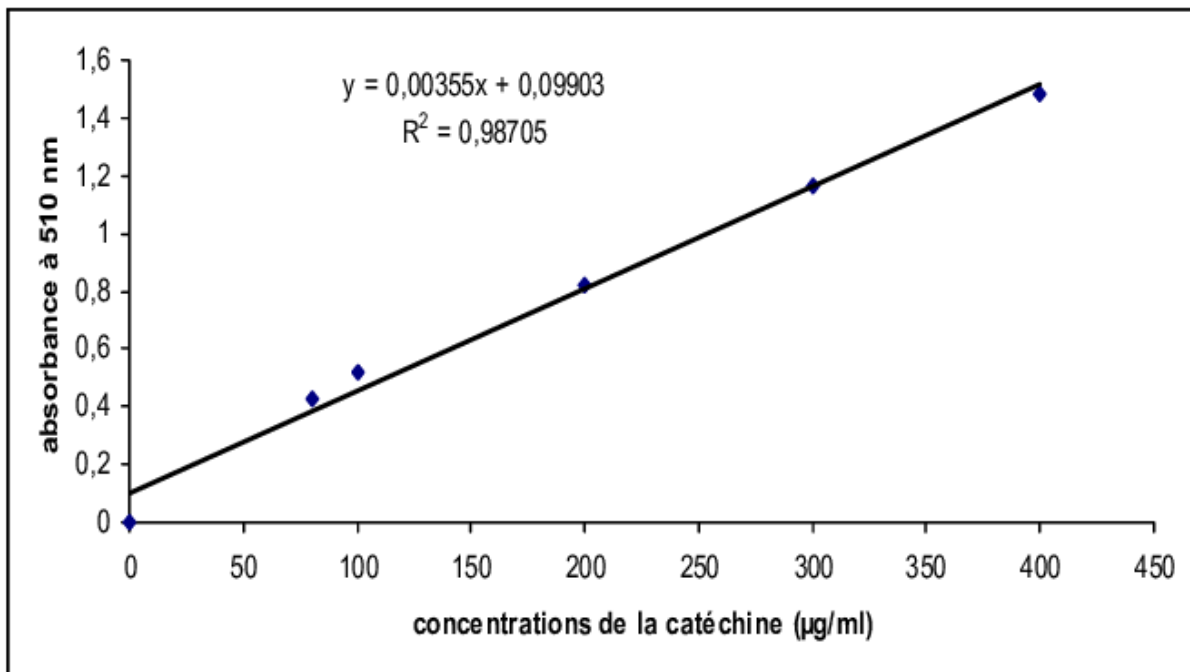
Annexe 1: Tableau de lecture du degré Brix (Teneur en solides solubles totaux) (Ruck 1963)

Tempera- ture	Percentage of dry substance													
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
	Subtract from dry-substance percentages													
15° C.	.29	.31	.33	.34	.34	.35	.36	.37	.37	.38	.39	.39	.40	.40
16	.24	.25	.26	.27	.28	.28	.29	.30	.30	.30	.31	.31	.32	.32
17	.18	.19	.20	.21	.21	.21	.22	.22	.23	.23	.23	.23	.24	.24
18	.13	.13	.14	.14	.14	.14	.15	.15	.15	.15	.16	.16	.16	.16
19	.06	.06	.07	.07	.07	.07	.08	.08	.08	.08	.08	.08	.08	.08
Add to dry-substance percentages														
21	.07	.07	.07	.07	.08	.08	.08	.08	.08	.08	.08	.08	.08	.08
22	.13	.14	.14	.15	.15	.15	.15	.15	.16	.16	.16	.16	.16	.16
23	.20	.21	.22	.22	.23	.23	.23	.23	.24	.24	.24	.24	.24	.24
24	.27	.28	.29	.30	.30	.31	.31	.31	.31	.31	.32	.32	.32	.32
25	.35	.36	.37	.38	.38	.39	.40	.40	.40	.40	.40	.40	.40	.40
26	.42	.43	.44	.45	.46	.47	.48	.48	.48	.48	.48	.48	.48	.48
27	.50	.52	.53	.54	.55	.55	.56	.56	.56	.56	.56	.56	.56	.56
28	.57	.60	.61	.63	.63	.64	.64	.64	.64	.64	.64	.64	.64	.64
29	.66	.68	.69	.71	.72	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73
30	.74	.77	.78	.79	.80	.80	.81	.81	.81	.81	.81	.81	.81	.81

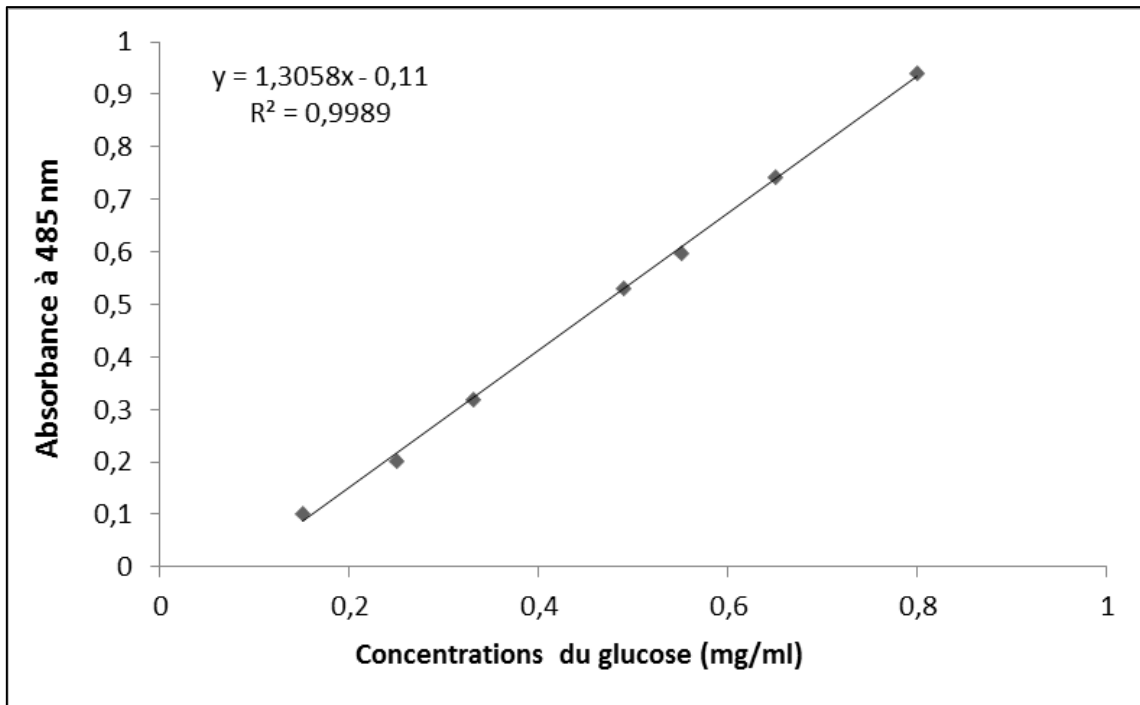
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage



Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.



Courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes.



Courbe d'étalonnage du glucose pour le dosage des sucres.

Annexe 3 : Matrice binaire des marqueurs ISSRs

Amorce	SAR	BLA	FOR	STA	ROD	ANG	HAM1	HAM2	HAM3	DLH	TAB	LBY1	LBY2	LBI	LBA	SAF1	SAF2	SAF3	SAF4	SARK	LMO	FRI	GOJ	
UBC 810	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	
	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	
	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	
	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0
	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0
	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	
1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
UBC 818	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	
	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	
	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	
UBC 825	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	
	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	
UBC 827	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	
	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	
	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
UBC 841	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	
	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	

	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0
	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1
UBC 844	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
UBC 845	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	
	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1
	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
ISSR 848	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1
	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0
ISSR 853	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0
	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ISSR 855	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

ISSR 857	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	
	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
ISSR 861	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	
	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	
	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	
ISSR 868	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	
	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
ISSR 889	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0		
	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
ISSR 889	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	