



*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche*  
*Scientifique*



*Université Des Frères Mentouri Constantine 1*  
*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département de Biologie et Ecologie Végétale*

*N° d'ordre : 21/ DS / 2018*

*N° de Série : 02/ B Eco / 2018*

**THESE**

**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
DOCTORAT EN SCIENCES**

*Spécialité*  
*Biologie Végétale*

**Option : Biodiversité et Production Végétale**

**Thème :**

**Application des marqueurs moléculaires à la gestion des ressources  
génétiques d'une accession de blé dur algérien (*Triticum durum* Desf.).**

**Présenté par : Rima BELATTAR**

**Soutenue publiquement le 15/2/2018**

**Jury :**

<b>Président :</b>	<b>M'barak BAKA</b>	Professeur	Univ. Des Frère Mentouri - Constantine 1
<b>Rapporteur :</b>	<b>Leila BOUDOUR</b>	Professeur	Univ. Des Frère Mentouri - Constantine 1
<b>Examineurs :</b>	<b>Amar BENMAHAMMED</b>	Professeur	Univ. Ferhat Abbas -Sétif 1
	<b>Mohamed Mourad SNOUSSI</b>	Professeur	Univ. Larbi Ben M'hidi-Oum El Bouaghi
	<b>Yahia ABDELOUAHAB</b>	Professeur	Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf - Mila
	<b>Ghania CHAIB</b>	M.C.A	Univ. Des Frère Mentouri - Constantine 1

**Année Universitaire 2017 /2018**

Each time I think I've reached a limit, there's a door, it opens, and the limit is  
gone.

-Herbert Nitsch-

Louange à « Allah ».

" Alhamdulillah wa shukrulillah"

A mes deux étoiles Mohamed Iyed et Adem, à qui je dédie ce travail...

## *Remerciements*

Mes vifs remerciements sont adressés premièrement à Madame Leila BOUDOUR, Professeur à l'Université des Frères Mentouri - Constantine 1, pour avoir accepté de diriger et de suivre ce travail avec disponibilité, patience et bienveillance. Je tiens à lui exprimer ma très grande gratitude et ma reconnaissance la plus sincère.

Mes respects et mes remerciements à Monsieur le Professeur M'barak BAKA de l'Université des Frères Mentouri - Constantine 1, de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury et d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens à remercier énormément Monsieur le Professeur Amar BENMAHAMMED de l'Université Sétif 1 pour son aide, son soutien moral et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur Mohamed Mourad SNOUSSI, Professeur à l'Université Larbi Ben M'hidi d'Oum - El- Bouaghi pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit.

Je tiens aussi à remercier Monsieur Yahia ABDELOUAHAB, Professeur à Université de Mila, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également Mme Ghania CHAIB, Maître de conférences à l'Université des Frères Mentouri - Constantine 1, pour son aide précieuse, ses encouragements, ses conseils et pour lire et examiner ce travail.

Je remercie du fond du cœur, Mme Karima BOUCHTAB, Maitre-assistante à l'Université des Frères Mentouri - Constantine 1, elle a toujours pris soin de m'écouter et de suivre mon travail avec finesse et perspicacité.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail : Dr. Ahmed Abdel-Mawgood, Professeur en Biologie Moléculaire, Vice-doyen de la Recherche Scientifique et des Etudes Supérieures à l'Institut d'études supérieures et de recherche environnementale, Université Damanhour en Egypte de m'avoir accueillie dans son laboratoire et de m'avoir permis d'effectuer des travaux de biologie moléculaire. De même que Monsieur Brini faiçal, Maître Assistant au Centre de Biotechnologie de Sfax (CBS. Tunisie).

Je tiens également à remercier profondément toutes mes amies qui n'ont jamais cessé de m'encourager et m'ont toujours soutenue dans les moments les plus difficiles.

## **Thème :** Application des marqueurs moléculaires à la gestion des ressources génétiques d'une accession de blé dur algérien (*Triticum durum* Desf.).

### **Résumé**

Dans ce travail, nous avons étudié une accession du blé dur cultivé en Algérie comprenant deux variétés : *leucomelon* et *reichenbachi*, sur lesquelles des caractères phénologiques, morpho-physiologiques et moléculaires ont été mesurés. Les différents résultats obtenus ont permis d'identifier plusieurs groupes distincts au sein de cette accession.

Les paramètres phénologiques et morpho-physiologiques ont mis en évidence une certaine variabilité intra et inter variétale. C'est ainsi que la plupart des génotypes de la variété *reichenbachi* se sont avérés plus performants pour les paramètres morphologiques et physiologiques, alors que de nombreux génotypes de la variété *leucomelon* ont donné un meilleur rendement.

Sur l'ensemble de l'accession, 50 génotypes sélectionnés appartenant aux deux variétés ont été analysés par les marqueurs moléculaires RAPD et ISSR.

Pour les marqueurs RAPD, sur 10 amorces utilisées, 2 ont mis en évidence des bandes monomorphes et un pourcentage de polymorphisme élevé de 92,10%. Par ailleurs le Dendrogramme a réparti les différents génotypes en deux clusters distincts de similarité située entre 71,2 et 100%.

Parmi ces 50 génotypes, 20 sont retenus pour les marqueurs RAPD et analysés en utilisant 2 autres amorces qui ont générés 19 marqueurs polymorphes avec un fort pourcentage de polymorphisme égal à 95%.

Pour les marqueurs ISSR, les 10 amorces utilisées pour les 50 génotypes sélectionnés se sont révélées polymorphes avec un total de 32 bandes reproductibles dont 22 sont polymorphes (68,7%). Le Dendrogramme des marqueurs moléculaires ISSR a révélé deux clusters hétérogènes distincts de similarité légèrement inférieure à 68%.

Par ailleurs la classification hiérarchique des deux marqueurs RAPD et ISSR des 50 génotypes étudiés a permis de distinguer deux principaux groupes avec une similarité située entre 33 et 97,4%. L'évaluation de la diversité génétique à l'aide des deux marqueurs moléculaires RAPD et ISSR utilisés est plus discriminante pour les RAPD qui ont montré un polymorphisme génétique inter variétale important. Nous avons constaté que la répartition des 50 génotypes testés s'est faite en fonction de leur variété botanique.

En conclusion, l'étude des paramètres phénologiques, morpho-physiologiques, rendement et moléculaire analysés par les différentes techniques et méthodes, a mis en évidence une certaine variabilité inter variétale mais au sein de chacune des deux variétés les génotypes se sont avérés génétiquement proches.

**Mots clés :** *Triticum durum*, phénologie, morphologie, physiologie, diversité génétique, marqueurs moléculaires ISSR, RAPD et polymorphisme.

**Theme:** Application of molecular markers to the management of the genetic resources of an accession of Algerian durum wheat (*Triticum durum* Desf.).

## **Abstract**

In this work, we studied an accession of durum wheat grown in Algeria with two varieties: *leucomeulon* and *reichenbachi*, on which phenological, morpho-physiological and molecular characteristics were measured. The different results obtained made it possible to identify several distinct groups within this accession.

The phenological and morpho-physiological parameters revealed a certain intra- and inter-varietal variability. Thus, most genotypes of the *reichenbachi* variety proved to be more effective for morphological and physiological parameters, whereas many genotypes of the *leucomelon* variety gave a better yield.

Across the accession, molecular markers RAPD and ISSR analyzed 50 selected genotypes belonging to the two varieties.

For the RAPD markers, on 2 primers used, 2 showed monomorphic bands and a high percentage of polymorphism of 92.10%. Moreover, the dendrogram divided the different genotypes into two large distinct clusters of similarity located between 71, 2 and 100%.

Of these 50 genotypes, 20 were retained and analyzed using 2 other primers which generated 19 polymorphic markers with a high percentage of polymorphism equal to 95%.

For the ISSR markers, the primers used for the 50 selected genotypes were found to be polymorphic with a total of 32 reproducible bands of which 22 were polymorphic (68.7%). The dendrogram of molecular markers ISSR revealed two distinct heterogeneous groups of similarity slightly less than 68%.

Furthermore, the hierarchical classification of the two RAPD and ISSR markers of the 50 genotypes studied made it possible to distinguish between two main groups with a similarity between 33 and 97.4%.

The evaluation of genetic diversity using the two molecular markers RAPD and ISSR used is more discriminating for RAPD, which showed an important inter-varietal genetic polymorphism. We found that the distribution of the 50 genotypes tested was based on their botanical variety.

In conclusion, the study of the phenological, morpho-physiological, yield and molecular parameters analyzed by the various techniques and methods revealed certain inter varietal variability, but within each of the two varieties, the genotypes were genetically close.

**Key words:** *Triticum durum*, phenology, morphology, physiology, genetic diversity, molecular markers ISSR, RAPD and polymorphism.

## العنوان: تطبيق المعلومات الجزيئية على تسير الموارد الوراثية لمجموعة من القمح الصلب المنزرع بالجزائر (*Triticum durum* Desf.)

### الملخص

الهدف من العمل هو دراسة خصائص مجموعة من القمح الصلب المنزرعة بالجزائر و المشتمة على صنفين *leucomeulan* و *reichenbachi* وذلك بقياس الخصائص الفينولوجية، المورفولوجية، الفسيولوجية، المردود والجزيئية .

سمحت مختلف النتائج المتحصل عليها من تحديد عدة مجموعات متميزة ضمن هذه المجموعة المختارة. كشفت القياسات الفيزيولوجية والمورفوفيزيولوجية عن بعض التباين داخل و بين الصنفين و كذلك أثبتت معظم الأنماط الجينية من صنف *reichenbachi* أن تكون أكثر فعالية للقياسات المورفولوجية والفيزيولوجية، في حين اعطت العديد من الأنماط الجينية للصنف *leucomelan* مردودا أفضل.

تم اختيار 50 نمطا وراثيا من بين المجموعة المنتمية إلى الصنفين للتحليل الجزيئي RAPD و ISSR .

بالنسبة لمؤشرات RAPD ، فمن بين 10 معلومات المستعملة، كشف اثنان منها عن حزمة وحيدة ونسبة عالية من التنوع قدرت بنسبة 92.10%، في حين بينت شجرة قرابة مختلف الأنماط الجينية مجموعتين كبيرتين متقاربتين بنسبة تشابه متراوحة بين 71.2% و 100%. من بين 50 نمط تم اختيار 20 وتحليلها باستخدام كاشفين آخرين و اللذان كشفا عن 19 حزمة متعددة الأشكال و نسبة عالية من التنوع تساوي 95%.

بالنسبة لمؤشرات ISSR ، كشفت العشرة كاشفات المستعملة ل 50 نمطا وراثيا عن مجموع 32 حزمة منها 22 كانت متعددة الأشكال بنسبة (68.7%).

بينت شجرة القرابة للمعلومات الجزيئية ISSR عن مجموعتين كبيرتين معيرة عن نسبة تشابه أقل من 68%. في حين سمح تصنيف الكاشفين الجزيئيين RAPD و ISSR للخمسين نمطا وراثيا المدروسة عن تمييز مجموعتين رئيسيتين بتشابه قدر بنسبة 33% إلى 97.4%.

إن تقييم التنوع الوراثي باستخدام المعلمين الجزيئيين RAPD و ISSR كان أكثر تمييزا للمعلم RAPD ، الذي أظهر تعددا معتبرا للأشكال الوراثية بين الأصناف. بين توزيع الأنماط الجينية الخمسين قد اسندت إلى تنوعها النباتي.

في الختام، كشفت دراسة المعايير الفينولوجية والمورفوفيزيولوجية، المردود ، والمعلومات الجزيئية التي تم تحليلها بواسطة التقنيات والطرق المختلفة عن التباين بين الأصناف، وأظهرت أن الأنماط الجينية التابعة لصنفين *leucomeulan* و *reichenbachi* تشكل مجموعات قريبة وراثيا داخل نفس الصنف.

**الكلمات المفتاحية:** *Triticum durum*، الفينولوجية، المورفولوجية، الفيزيولوجية، التنوع الجيني، المعلومات الجزيئية ISSR RAPD ، تعدد الأشكال.

# SOMMAIRE

Résumés.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des figures.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction générale.....	1

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

<b>1. Synthèse Bibliographique</b> .....	3
<b>1.1 Généralités sur le blé</b> .....	3
1.1.1 Culture du blé dur ( <i>Triticum turgidum</i> L. var. <i>durum</i> ) .....	3
1.1.2 Historique sur l'évolution génétique des blés .....	3
1.1.3 Phylogénie et positionnement taxonomique .....	5
1.1.4 Génétique d'association : approche de détection de la variation génotypique .....	8
<b>1.2 Ressources génétiques</b> .....	9
1.2.1 Importance des ressources génétiques.....	9
1.2.2 Diversité des ressources génétiques.....	10
1.2.3 Erosion des ressources génétiques .....	10
1.2.4 Conservation des ressources génétiques .....	10
<b>1.3 Paramètres phéno-morpho- physiologiques et rendement</b> .....	14
<b>1.3.1 Paramètres phénologiques : date d'épiaison</b> .....	14
<b>1.3.2 Paramètre morphologique</b> .....	14
1.3.2.1 Hauteur de la plante .....	14
1.3.2.2 Longueur des barbes .....	15
1.3.2.3 Longueur du col de l'épi .....	15
1.3.2.4 Longueur de l'épi .....	16
1.3.2.5 Feuille étendard .....	16
<b>1.3.3 Composants du rendement</b> .....	16
<b>1.3.4 Paramètres physiologiques</b> .....	17
1.3.4.1 La teneur relative en eau (TRE) .....	17
1.3.4.2 Teneur en chlorophylle totale (TCHT) .....	18
<b>1.4 Marqueurs moléculaires</b> .....	18

1.4.1 Types des marqueurs moléculaires .....	19
1.4.1.1 Marqueurs codominants révélés par la technique RFLP .....	19
1.4.1.2 Marqueurs codominants révélés par les techniques : STS en CAPS ou PCR/RFLP .....	19
1.4.1.3 Marqueurs codominants révélés par les techniques : STS en PCR-SSCP .....	19
1.4.1.4 Marqueurs microsatellites.....	20
1.4.1.5 Marqueurs dominants .....	20
1.4.1.5.1 Technique RAPD .....	21
1.4.1.5.2 Technique ISSR .....	22
1.4.1.5.3 Technique AFLP .....	23
1.4.2 Utilisations des marqueurs .....	25
<b>1.5 Évolution de la diversité moléculaire de blé .....</b>	<b>25</b>

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>2. Matériel et méthodes .....</b>	<b>28</b>
<b>2.1 Matériel végétal .....</b>	<b>28</b>
<b>2.2 Site d'expérimentation .....</b>	<b>28</b>
2.2.1 Localisation .....	28
2.2.2 Pluviométrie et température .....	29
2.2.3 Les caractéristiques physico-chimiques du sol .....	30
<b>2.3 Mise en place de l'essai .....</b>	<b>31</b>
<b>2.4 Paramètres mesurés .....</b>	<b>31</b>
2.4.1 Paramètre phénologique : durée d'épiaison .....	31
2.4.2 Paramètres morphologiques .....	31
2.4.3 Paramètres physiologiques .....	32
2.4.4 Les composantes du rendement .....	32
<b>2.5 Analyse moléculaire .....</b>	<b>32</b>
2.5.1 Méthode PCR /RAPD. Tunisie .....	33
2.5.1.1 Extraction d'ADN .....	33
2.5.1.2 Analyse PCR/ RAPD .....	33
2.5.2 Méthode PCR /RAPD et PCR /ISSR. Egypte.....	34

2.5.2.1 Isolement de l'ADN .....	36
2.5.2.2 Quantification de l'ADN .....	36
2.5.2.3 Qualité d'ADN .....	36
2.5.2.4 Optimisation des volumes et des conditions PCR /RAPD et PCR /ISSR.....	36
2.5.2.5 Amplification d'ADN en utilisant RAPD amorces .....	37
2.5.2.6 Amplification en utilisant des amorces ISSR.....	39
2.5.2.7 Identification des bandes amplifiées reproductibles .....	40
2.5.2.8 Electrophorèse sur gel .....	41
<b>2.6 Analyses statistiques des résultats obtenus .....</b>	<b>41</b>
2.6.1 Etude phéno- morpho-physiologique .....	41
2.6.2 Analyse des données moléculaires .....	41

## **Chapitre III : Résultats et Discussion**

<b>3. Résultats et Discussion .....</b>	<b>43</b>
<b>3.1 Paramètre phénologique : la date d'épiaison (DE) .....</b>	<b>43</b>
<b>3.2 Paramètres morphologiques .....</b>	<b>46</b>
3.2.1 Hauteur de la plante (HT) .....	46
3.2.2 Longueur du col de l'épi ( LCE) .....	48
3.2.3 Longueur de l'épi (LE) .....	51
3.2.4 Longueur des barbes (LB) .....	53
3.2.5 Longueur et Largeur de la feuille étendard (LLFE) .....	55
<b>3.2.6 Conclusion.....</b>	<b>58</b>
<b>3.3 Paramètres physiologiques .....</b>	<b>58</b>
3.3.1 Chlorophylle totale (CHT) .....	58
3.3.2 Teneur relative en eau (TRE ) .....	60
<b>3.3.3 Conclusion.....</b>	<b>62</b>
<b>3.4 Composantes du rendement .....</b>	<b>62</b>
3.4.1 Nombre d'épis par plante (Nb Ep / E) .....	62
3.4.2 Nombre d'épillets par épi (Nb Epi / E) .....	64
3.4.3 Nombre des grains par épi (NG/ E) .....	66

3.4.4 Poids des grains par épi.....	69
<b>3.4.5 Conclusion.....</b>	<b>71</b>
<b>3.5 Etude de la variabilité .....</b>	<b>71</b>
3.5.1 La matrice des corrélations des variables .....	71
3.5.2 Etude des variables .....	72
3.5.3 Etude des individus .....	73
<b>3.5.4 Conclusion.....</b>	<b>76</b>
<b>3.6. Analyse des marqueurs moléculaires .....</b>	<b>77</b>
3.6.1 Analyse du marqueur RAPD .....	77
3.6.1.1 Analyse des marqueurs RAPD pour cinquante génotypes.....	77
3.6.1.2. RAPD pour vingt génotypes.....	89
3.6.2 L'analyse du marqueur ISSR.....	96
3.6.3 La classification hiérarchique des deux marqueurs .....	108
<b>3.6.4 Conclusion.....</b>	<b>112</b>
<b>Conclusion générale et perspectives .....</b>	<b>113</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>116</b>
<b>Annexes .....</b>	

## Liste des abréviations

**R** : la variété *reichanbachi*

**L** : la variété *leucomelan*

**DEP** : la date d'épiaison

**HP** : La hauteur de la plante

**LC** : La Longueur du Col de l'épi

**LE** : La Longueur de l'épi

**LB** : La Longueur des barbes

**LOF** : La Longueur de la feuille étendard

**LAF** : La Largeur de la feuille étendard

**CHT** : La Chlorophylle totale

**TE** : La Teneur en eau

**EP** : Le Nombre d'épis par plante

**NE** : Le Nombre d'épillets par épi

**NG** : Le Nombre des grains par d'épis

**PG** : Le Poids de grains par épi

**EDTA**: Ethylen-diamin-tetracetic acide

**RNase**: Ribonuclease

**Tris**: Tris (hydroxymethyl) aminomethane

**SDS**: Sodium dodecyl sulphate

**TE**: Tris EDTA

**CTAB**: Cetyl trimethylammonium bromide

**DNA**: Acide désoxyribonucléique

**TBE**: Tris, Borate, EDTA

**bp** : base pairs (paire de base)

**RAPD**: Random Amplification of Polymorphic DNA

**ISSR**: inter simple sequence repeat

**dNTPs**: Deoxynucleotide

**PCR**: Polymerase chain reaction

**ng:** Nanogram

**QS :** Abréviation latine pour quantum satis-dire le montant qui est nécessaire

**KCl:** Chlorure de potassium.

**PAST** program: PAleontological Statistics.

**Logiciel SPSS:** Statistical Package for the Social Sciences.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Classification GrainTax Pour les différentes espèces et sous espèces de blé appartenant aux genres <i>Triticum</i> et <i>Aegilops</i> et leurs génomes correspondants (Charles,2010).....	7
<b>Tableau 02</b> : Comparaison des six marqueurs moléculaires les plus utilisés chez l'orge et le blé (Mebarek, 2010).....	24
<b>Tableau 03</b> : Caractéristiques des variétés et nombre d'individus par variété (Boudour, 2004 - 2006).....	28
<b>Tableau 04</b> : Pluviométrie et température mesurées à EL KHroub en 2008/2009 (ITGC).....	29
<b>Tableau 05</b> : Caractéristiques physico-chimiques du sol (ITGC,2008).....	30
<b>Tableau 06</b> : Codes des amorces, leurs séquences et leurs pourcentages en GC.....	33
<b>Tableau 07</b> : Préparation des échantillons (volume finale de 50 µl) .....	34
<b>Tableau 08</b> : Equipements utilisés pour l'analyse de marqueur d'ADN.....	34
<b>Tableau 09</b> : Liste des produits chimiques utilisés dans l'isolement de l'ADN et l'analyse PCR (RAPD /ISSR).....	35
<b>Tableau 10</b> : Quantités des différents constituants chimiques du mélange de réaction PCR.....	37
<b>Tableau 11</b> : Séquences et les températures de fusion des amorces RAPD utilisées dans l'étude....	38
<b>Tableau 12</b> : Optimiser les conditions de PCR pour différents Amorces RAPD.....	38
<b>Tableau 13</b> : Séquences et de fusion des températures des amorces ISSR utilisées dans l'étude.....	39
<b>Tableau 14</b> : Optimiser les conditions de PCR pour différents Amorces ISSR.....	40
<b>Tableau 15</b> : Test de Newman - Keuls de la hauteur de la variété <i>leucomelon</i> .....	46
<b>Tableau 16</b> : Test Newman - Keuls de la hauteur de la variété <i>reichenbachi</i> .....	46
<b>Tableau 17</b> : Test de Newman - Keuls de la hauteur des plante des deux variétés <i>leucomelen</i> et <i>reichenbachi</i> .....	48
<b>Tableau 18</b> : Test de Newman - Keuls de la longueur du col de la variété <i>leucomelon</i> .....	49
<b>Tableau 19</b> : Test de Newman - Keuls de la longueur du col de la variété <i>reichenbachi</i> .....	49
<b>Tableau 20</b> : Test de Newman - Keuls de la longueur du col des deux variétés <i>leucomelen</i> et <i>reichenbachi</i> .....	50
<b>Tableau 21</b> : Test de Newman - Keuls de la longueur d'épi de la variété <i>leucomelon</i> .....	51
<b>Tableau 22</b> : Test de Newman - Keuls de la longueur d'épi pour la variété <i>reichenbachi</i> .....	51
<b>Tableau 23</b> : Test de Newman - Keuls de la longueur d'épi des deux variétés <i>leucomelen</i> et <i>reichenbachi</i> .....	53
<b>Tableau 24</b> : Test de Newman - Keuls du nombre de grains par épi de la variété <i>leucomelen</i> .....	66
<b>Tableau 25</b> : Test de Newman - Keuls du nombre de grains par épi de la variété <i>reichenbachi</i> .....	67
<b>Tableau 26</b> : Test de Newman - Keuls du nombre de grains par épi des deux variétés <i>leucomelen</i> et <i>reichenbachi</i> .....	68

<b>Tableau 27</b> : Test de Newman - Keuls du pois des grains par épi de la variété <i>leucomelen</i> .....	<b>69</b>
<b>Tableau 28</b> : Test de Newman - Keuls du pois des grains par épi pour la variété <i>reichenbachii</i> .....	<b>69</b>
<b>Tableau 29</b> : Test de Newman - Keuls du pois des grains par épi des deux variétés <i>leucomelen</i> et <i>reichenbachii</i> .....	<b>70</b>
<b>Tableau 30</b> : Contribution à la variation totale des principaux axes.....	<b>71</b>
<b>Tableau 31</b> : Matrice des corrélations entre les variables.....	<b>71</b>
<b>Tableau 32</b> : Analyse PCR/RAPD des 50 génotypes de blé dur générés par dix amorces.....	<b>84</b>
<b>Tableau 33</b> : Nombre et le type de l'ADN amplifié et le pourcentage du polymorphisme génér par dix amorces RAPD dans une accession de cinquante génotypes de blé dur.....	<b>85</b>
<b>Tableau 34</b> : Matrice de la similarité génétique des deux variétés <i>reichenbachii</i> et <i>leucomelan</i> basées sur la variation PCR/RAPD.....	<b>88</b>
<b>Tableau 35</b> : Analyse RAPD-PCR des 20 génotypes de blé dur générés par les deux amorces DuPw004 et DuPw023.....	<b>89</b>
<b>Tableau 36</b> : Tableau récapitulatif du nombre des bandes pour chaque génotype avec deux amorces DuPw004 et DuPw023.....	<b>91</b>
<b>Tableau 37</b> : Nombre et le type de l'ADN amplifié et le pourcentage du polymorphisme généré par deux amorces dans une accession de vingt génotypes de blé dur.....	<b>91</b>
<b>Tableau 38</b> : Matrice de la similarité génétique de la variété <i>reichenbachii</i> basée sur la variation PCR/RAPD.....	<b>94</b>
<b>Tableau 39</b> : Matrice de la similarité génétique de la variété <i>leucomelan</i> basée sur la variation PCR/RAPD.....	<b>93</b>
<b>Tableau 40</b> : Matrice de la similarité génétique des deux variétés <i>reichenbachii</i> et <i>leucomelan</i> basées sur la variation PCR/RAPD.....	<b>95</b>
<b>Tableau 41</b> : Analyse PCR/ISSR des 50 génotypes de blé dur générés par dix amorces.....	<b>103</b>
<b>Tableau 42</b> : Nombre et le type de l'ADN amplifié et le pourcentage du polymorphisme génér par dix amorces ISSR dans une accession de cinquante génotypes de blé dur.....	<b>104</b>
<b>Tableau 43</b> : Matrice de la similarité génétique de cinquantes génotypes des deux variétés <i>reichenbachii</i> et <i>leucomelan</i> basée sur la variation PCR/ISSR.....	<b>107</b>
<b>Tableau 44</b> : Matrice de la similarité génétique de cinquantes génotypes des deux variétés <i>reichenbachii</i> et <i>leucomelan</i> basée sur la variation PCR/RAPD et PCR/ISSR.....	<b>111</b>

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Diagramme schématique des relations entre les génomes du blé avec l'histoire et la généalogie de la polyploïdisation. (Mayer <i>et al.</i> , 2014).....	<b>6</b>
<b>Figure 02</b> : Principe de l'ISSR. (Santoni <i>et al.</i> , 2000).....	<b>22</b>
<b>Figure 03</b> : Comparaison des principales techniques de marquage moléculaire (Najimi <i>et al.</i> , 2003).....	<b>24</b>
<b>Figure 04</b> : Image satellitaire de la parcelle de l'essai à EL-Baraouia EL-Khroub Constantine. (36,2765°Nord ; 6,6870°Est).....	<b>28</b>
<b>Figure 05</b> : Diagramme ombrothermique de la campagne agricole 2008/2009.....	<b>30</b>
<b>Figure 06</b> : Nombre de jours de gelées/mois (ITGC, 2008).....	<b>30</b>
<b>Figure 07</b> : Dispositif de l'expérimentation.....	<b>31</b>
<b>Figure 08 (A,B)</b> : durée d'épiaison des 139 génotypes de la variété <i>leucomelan</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>44</b>
<b>Figure 09 (A,B)</b> : Hauteur de la plante des 139 génotypes de la variété <i>leucomelan</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>47</b>
<b>Figure 10 (A,B)</b> : Longueur du col des 139 génotypes de la variété <i>leucomelan</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B) 139 génotypes de la variété <i>leucomelon</i> .....	<b>50</b>
<b>Figure 11 (A,B)</b> : longueur d'épi des 139 génotypes de la variété <i>leucomelon</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>52</b>
<b>Figure 12 (A,B)</b> : Longueur de la barbe des 139 génotypes de la variété <i>variété leucomelon</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>54</b>
<b>Figure 13 (A,B)</b> : Longueur de la feuille étendard des 139 génotypes de la variété <i>variété leucomelon</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>56</b>
<b>Figure 14 (A,B)</b> : Largeur de la feuille étendard des 139 génotypes de la variété <i>leucomelon</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>57</b>
<b>Figure 15 (A,B)</b> : Chlorophylle totale des 139 génotypes de la variété <i>leucomelon</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>59</b>
<b>Figure 16 (A,B)</b> : Teneur relative en eau des 139 génotypes de la variété <i>leucomelon</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>61</b>
<b>Figure 17 (A,B)</b> : Nombre d'épis / plantes des 139 génotypes de la variété <i>leucomelon</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>63</b>
<b>Figure 18 (A,B)</b> : Nombre d'épillet /épi des 139 génotypes de la variété <i>leucomelon</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>65</b>

<b>Figure 19 (A,B) :</b> Nombre de grain/épi des 139 génotypes de la variété <i>leucomelon</i> (A) et 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>67</b>
<b>Figure 20 (A,B) :</b> Poids des grains/épi des 139 génotypes de la variété <i>leucomelon</i> (A) et des 76 génotypes de la variété <i>reichenbachi</i> .(B).....	<b>70</b>
<b>Figure 21 :</b> Cercles de corrélations des variables de L'ACP formé par axes, dans le plan 1-2 (A),le plan 1-3(B) et le plan 1-4(C).....	<b>72</b>
<b>Figure 22 :</b> Représentation graphique des polygones de dispersion des 215 génotypes (2variétés) sur les axes 1et 2 (plan 1,2) dans une ACP.....	<b>73</b>
<b>Figure 23 :</b> Représentation graphique des génotypes des 2variétés dans le plan 1-3.....	<b>74</b>
<b>Figure 24 :</b> Représentation graphique des génotypes des 2 variétés dans le plan 1-4.....	<b>75</b>
<b>Figure 25 :</b> Electrophorèse D'ADN génomique de 50 génotypes de blé dur. L; <i>leucomelan</i> , R; <i>rechenbachi</i> .....	<b>78</b>
<b>Figure 26 :</b> Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes (deux variétés rechenbachi et leucomelan) de blé dur générés par les dix amorces (A,B,C,D,E,F,G,H,I).....	<b>79</b>
<b>Figure 27 :</b> Dendrogramme des marqueurs RAPD basé sur la distance Euclidienne des cinquante génotypes de blé dur.....	<b>87</b>
<b>Figure 28 :</b> Electrophorèse D'ADN génomique de 20 génotypes de blé dur. L: <i>leucomelan</i> , R: <i>rechenbachi</i> .....	<b>89</b>
<b>Figure 29 :</b> Diagramme électrophorétique RAPD des 20 génotypes de blé dur générés par les deux amorces ( <b>DuPw004</b> , <b>DuPw023</b> ).....	<b>90</b>
<b>Figure 30 :</b> Dendrogramme des marqueurs RAPD basé sur la distance Euclidienne des génotypes de la variété <i>leucomelan</i> .....	<b>93</b>
<b>Figure 31 :</b> Dendrogramme des marqueurs RAPD basé sur la distance Euclidienne des génotypes de la variété <i>leucomelan</i> .....	<b>94</b>
<b>Figure 32 :</b> Dendrogramme des marqueurs RAPD basé sur la distance Euclidienne des 20 génotypes étudiés ( <i>reichenbachi</i> et <i>leucomelan</i> ).....	<b>95</b>
<b>Figure 33 :</b> Diagramme électrophorétique ISSR des 50 génotypes ( deux variétés <i>reichenbachi</i> (R) et <i>leucomelan</i> (L)) de blé dur générés par les dix amorces (A,B,C,D,E,F,G,H).....	<b>97</b>
<b>Figure 34 :</b> Dendrogramme des marqueurs ISSR basé sur la distance Euclidienne des cinquante génotypes de blé dur.....	<b>106</b>
<b>Figure 35 :</b> Dendrogramme des marqueurs RAPD-ISSR basé sur la distance Euclidienne des cinquantes génotypes de blé dur.....	<b>110</b>

# *Introduction*

### Introduction

Depuis la découverte et la domestication des céréales par les premiers cultivateurs des anciennes civilisations, le blé a toujours été au centre d'enjeux politiques, économiques et sociaux de premiers rangs, car il constitue la première ressource privilégiée pour l'alimentation humaine et animale de nombreux pays pour son apport en protéines et pour ses multiples applications industrielles.

Les cultivars de blé moderne se réfèrent généralement à deux espèces : le blé tendre hexaploïde (*Triticum aestivum*) et le blé dur tétraploïde (*Triticum durum*).

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* Desf.), une des céréales la plus ancienne, est la plus cultivée dans le monde avec plus de 17 millions d'hectares (Nazco *et al.*, 2012). Il représente le plus grand marché d'importation dans le bassin méditerranéen, du fait de sa grande consommation et de son adaptation à des environnements arides et semi-arides.

Le blé dur prend mondialement, la cinquième place après le blé tendre, le riz, le maïs et l'orge avec une production de plus de 30 millions de tonnes (Sisson, 2008). Contrairement au blé tendre utilisé pour la fabrication du pain, des noodles et beaucoup d'autres produits, le blé dur est le préféré pour la fabrication de pâte, par sa forte teneur en protéines et sa force en gluten permettant l'obtention d'une pâte ferme avec une bonne texture qui garde après cuisson un aspect non collant et intègre.

En Algérie, les blés et particulièrement le blé dur constitue la principale culture céréalière. Cependant, sa production demeure irrégulière et faible, car il est surtout cultivé en zone semi-aride où il se trouve confronté à diverses contraintes climatiques qui rendent le rendement en grains insuffisant pour satisfaire la demande d'une population de plus en plus croissante. Pour faire face à cette situation, le pays recourt à des importations devenues au fil des années excessivement onéreuses.

Ces contraintes abiotiques souvent mises en cause dans notre pays sont la sécheresse, les hautes températures terminales et le gel. La sélection variétale pratiquée jusqu'à ces dernières années sur la base des programmes d'amélioration nous a permis de sélectionner de nouvelles variétés performantes et adaptées à la grande diversité agro-écologique d'une part et aux besoins spécifiques des agriculteurs d'autre part. Cette amélioration repose en grande partie sur la gestion et l'exploitation de la variabilité agromorphologique et particulièrement génétique qui reste très prometteuse.

En Algérie, la sélection du blé dur s'est faite en puisant fortement dans des centres internationaux de la recherche agronomique, d'où les variétés obtenues réussissent bien dans les plaines intérieures et sur le littoral, mais dans les hautes plaines les niveaux de rendements en grains restent très variables et souvent faibles.

L'éventail de la variabilité génétique des blés cultivés, résultat de 10.000 ans de culture a considérablement diminué ces dernières années en raison d'importation des espèces exotiques (espèces étrangères au dépend des espèces locales traditionnelles) et de l'introduction des techniques scientifiques modernes non adaptées pour les besoins de la sélection.

La nécessité de conserver les ressources génétiques est devenue un enjeu politique et économique à traiter avec beaucoup d'attention, car la production agricole actuelle et future dépend en grande partie de la diversité génétique disponible pour l'amélioration des plantes. La mise en valeur de l'apport des ressources phytogénétiques dans l'amélioration des blés cultivés ne peut être réalisée qu'après une

étude phéno-morpho-physiologique et génétique et pour mieux décrire la diversité spécifique on fait appel à différents marqueurs moléculaires.

En effet, dans la littérature, les marqueurs moléculaires ne sont pas influencés par les fluctuations de l'environnement et sont indépendants de l'organe analysé et du stade de développement de la plante, comparés aux paramètres morpho physiologiques qui varient en fonction des conditions environnementales.

Les marqueurs moléculaires sont des outils puissants dans l'étude de la diversité génétique, la description du génotype et la structure génétique des populations ; ils deviennent aujourd'hui un outil essentiel utilisé dans le domaine de l'amélioration des plantes.

Chez le blé, les marqueurs largement utilisés sont les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeat), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), l'AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) et la RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA).

Parmi ces marqueurs les RAPD et ISSR sont les plus utilisés pour l'analyse de la diversité et l'identification des génotypes particulièrement chez le blé dur, en raison de leur simplicité, de leur rapidité et de la fiabilité des résultats. Il est à noter que les marqueurs RAPD sont les plus dominants largement utilisés dans la cartographie génétique et l'identification des loci liés à différents traits.

Des études ont révélé que les marqueurs ISSR fournissent un polymorphisme suffisant et des profils d'empreintes reproductibles pour évaluer la diversité génétique des génotypes de blé.

Notre travail de thèse s'inscrit dans ce contexte ayant pour objectif la valorisation des ressources phytogénétiques des blés durs cultivés en Algérie par l'analyse de la variation phéno-morpho-physiologique, rendement et du polymorphisme des marqueurs moléculaires.

Une première étude consiste à comparer et à caractériser les différents génotypes de deux variétés *leucomelan* et *reichanbachi* du blé dur cultivé en Algérie en se basant sur des caractères phénologiques, morpho-physiologiques et rendement. Ceux-ci nous permettent de mettre en évidence dans une certaine mesure, les différences pouvant exister entre ces génotypes et de sélectionner les plus performants et les plus intéressants pour une étude moléculaire.

Le but de la partie moléculaire est d'identifier et d'évaluer le polymorphisme génétique d'un groupe de génotypes de blé dur sélectionnés provenant de deux variétés en utilisant principalement la technique RAPD et la technique ISSR afin de mettre en évidence d'éventuelles différences génétiques entre nos génotypes et de mieux orienter l'approche de la conservation « In Situ » conduite dans le pays pour le maintien de la variabilité génétique existante.

Ce travail est agencé comme suit :

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique.
- Le deuxième chapitre décrit le matériel végétal considéré dans cette étude et les différentes méthodes d'analyse utilisées.
- Le chapitre 3 concerne la présentation, l'analyse des résultats obtenus à l'aide des statistiques multivariées et enfin une conclusion générale avec des perspectives.

*Chapitre I*  
*Synthèse*  
*Bibliographique*

# 1. Synthèse Bibliographique

## 1.1 Généralités sur le blé

### 1.1.1 Culture du blé dur (*Triticum turgidum L. var. durum*)

Historiquement le blé dur (*Triticum turgidum L. var. durum*) a été toujours cultivé dans les régions à climat de type méditerranéen telles que l'Afrique du nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Egypte), le sud de l'Europe (Espagne, France, Italie, Grèce), et le Moyen Orient (Turquie, Syrie, Palestine). Il est bien adapté aux régions à climat relativement sec, où il fait chaud le jour et frais la nuit durant la période végétative (Hannachi *et al.*, 2013). Les semences peuvent lever à un peu plus de 2 °C, même si la température optimale est de 15°C (Bozzini, 1988).

La plus grande partie du blé dur produit dans le monde est constituée de blé de printemps toutefois, il existe des variétés de blé dur d'hiver qui ont besoin de vernalisation pour amorcer la transition de la phase végétative à la phase reproductrice. Ces variétés ont été évaluées en vue de la production dans le Sud des États-Unis (Donmez *et al.*, 2000).

Le blé dur réputé tolérant aux stress hydrique et thermique, est cultivé en Amérique dans les régions ouest des Dakota et du Montana aux USA et dans le Saskatchewan et l'Alberta au Canada (Hannachi *et al.*, 2013).

La culture du blé dur s'est étendue plus au nord en Europe où elle est cultivée en Russie, au Kazakhstan, en Inde et en Asie. Sa production mondiale avoisine les 36 millions de tonnes, soit près de 5% de la production mondiale totale des blés (IGC., 2012). L'essentiel de blé dur présent sur le marché mondial à l'exportation vient du Canada, qui est un des plus grands producteurs au monde (IGC (Conseil international des céréales), 2012).

### 1.1.2 Historique sur l'évolution génétique des blés

L'intérêt économique d'un grand nombre d'espèces de *Poaceae* en a fait une famille assez étudiée en génomique. Les premières études comparatives ont montré une bonne conservation des gènes et de leur ordre à l'échelle des chromosomes, on parle alors de synténie (Moore *et al.*, 1995).

Elles ont aussi montré que les espèces de cette famille ont divergé d'un ancêtre commun il y a environ 70 millions d'années (Moore *et al.*, 1995 ; Prasad *et al.*, 2005). Les dates de divergence de plusieurs espèces de *Poaceae* ont été estimées sur la base de comparaison des séquences des gènes orthologues d'acetyl-CoA carboxylase (*Acc-1* et *Acc-2*) présents généralement en une seule copie dans les *Poaceae* (Huang *et al.*, 2002 ; Chalupska *et al.*, 2008).

La divergence entre les *Panicoideae* (maïs / sorgho) et les *Ehrhartoideae* (riz), estimée à 60 millions d'années, a servi de référence pour calibrer la divergence moléculaire et calculer les divergences entre les espèces de *Poaceae*. Chalupska *et al.*, (2008) ont ainsi estimé la divergence du blé avec le riz à 50 millions d'années, l'avoine à 31 millions d'années, l'orge à 11,6 millions d'années et le seigle à

6,7 millions d'années . Il est généralement admis que les différentes espèces du blé portant les génomes A, B et D, ont divergé il y a 2,5-4 Ma (Huang *et al.*, 2002 ; Chalupska *et al.*, 2008).

L'évolution du blé s'est produite dans de nombreux écosystèmes, de manière relativement indépendante jusqu'au XIXe siècle, où l'amélioration génétique du blé par choix dans les populations cultivées et par hybridation, s'est développée aboutissant à un brassage important des différentes origines du blé.

Les outils pour étudier la génétique ont beaucoup évolué au cours du 20<sup>ième</sup> siècle, la méthode d'analyse nucléaire de génome basée sur l'observation, sur des plaques en verre, des appariements des chromosomes dans les hybrides interspécifiques (Kihara, 1919 ; Sax, 1922) a donné des informations sur la constitution de génome, la phylogénie et l'évolution des espèces des genres *Triticum* et *Aegilops* (Lilienfield, 1951).

Dans les années 30, le commencement de l'étude des aneuploïdes de blé a déclenché l'ère de traçage cytogénétique et d'analyse des gènes des différents chromosomes de blé (Sears et Sears, 1978).

Dans les années 70, des techniques de coloration modernes ont été employées pour analyser les structures chromosomiques des céréales, et un caryotype cytogénétique de blé a été développé (Cox, *et al.*, 1991).

Dans les débuts des années 80, des méthodes non-isotopiques *in situ*, sur des plaques en verre sont utilisées pour ordonner l'ADN des chromosomes (hybridation *in situ*), ce qui a permis de construire un caryotype du blé (Rayburn et Gill, 1985). Ces méthodes cytogénétiques et moléculaires ont considérablement facilité l'analyse cytogénétique du génome de blé et les espèces qui leur sont apparentés.

Puis peu après, les techniques d'analyse moléculaire font leur apparition et des cartes génétiques de blé tendre, blé dur et deux espèces ancêtres ont été développées (Dubcovsky *et al.*, 1990 ; Van Deynze *et al.*, 1995 ; Marino *et al.*, 1996).

Le séquençage complet des génomes de plusieurs espèces de *Poaceae* a permis une meilleure compréhension de l'évolution de leurs génomes. Les génomes complets d'une espèce de riz (*Oryza sativa* : International Rice Genome Sequencing Project 2005), de sorgho (*Sorghum bicolor* : Paterson *et al.*, 2009).

Le 20<sup>ième</sup> siècle a fini par le développement des cartes physiques des 21 chromosomes du blé, en se basant sur 5 marqueurs moléculaires (Delaney *et al.*, 1995). Ces cartes physiques préparent le terrain pour tracer et cloner certains gènes agronomiquement significatifs dans les blés polyploïdes.

De manière intéressante, l'état actuel du projet de séquençage du génome de blé montre qu'en 2013, les séquences de deux des génomes diploïdes ont été publiées : celui de *Triticum urartu* (génome A) et de *Aegilops tauschii* (génome D). Le génome diploïde ancêtre du génome B n'est toujours pas séquencé (Choulet, 2014).

Les chercheurs de l'IWGSC (consortium international de séquençage du génome de blé) estiment que le séquençage complet du génome du blé pourra être réalisé en trois ans. L'accès de séquençage du génome du blé pourra être utilisé pour visionner les séquences afin d'identifier de gènes d'intérêt, puis faire la sélection assistée par marqueurs et le croisement orienté afin d'augmenter le rendement.

### 1.1.3 Phylogénie et positionnement taxonomique

Selon Charles, (2010) le genre *Triticum* appartient à la tribu des Triticées, la sous famille des *Pooideae* au sein de la famille des Poacées et plus largement au groupe des angiospermes monocotylédones . Les espèces cultivées les plus proches des Triticées sont le maïs (*Zea mays*), le sorgho (*Sorghum bicolor*) et le riz (*Oryza* sp.). Parmi les céréales, les blés sont couramment regroupés en un groupe polyphylétique comprenant des Poacées (blé, orge, avoine, maïs) mais aussi une Polygonacée (Sarrasin), une Chénopodiacee (Quinoa) et une Pédaliacee (Sésame).

Les Poacées comptent plus de 600 genres et 10 000 espèces, poussant sous des latitudes et des climats diversifiés. Le genre *Triticum* regroupe de nombreuses espèces présentant une large gamme de diversité morphologique et agroécologique, notamment des espèces de ploïdies variées : des espèces diploïdes telles que l'Engrain (*Triticum monococcum*), des espèces tétraploïdes comme l'amidonnié (*Triticum dicoccum*) ou le blé dur (*Triticum durum*) et enfin des espèces hexaploïdes telles que le blé tendre (*Triticum aestivum*) (Kellogg, 2001).

Il apparait que la polyploïdisation a joué un rôle majeur dans l'évolution de la famille des Poacées (Salse *et al.*, 2008 ; Bolot *et al.*, 2009). En effet, il existe de nombreuses classifications différentes, basées sur des critères botaniques ou génétiques. La classification GrainTax a été créée dans le but d'unifier et de compiler les informations des différentes classifications existantes. Elle s'appuie sur 12 classifications antérieures et est utilisée comme référence. Certaines espèces ont plusieurs appellations venant de méthodes de classification différentes (Tab. 1).

On obtient alors 6 espèces (19 sous-espèces) de blé du genre *Triticum* et 24 espèces du genre *Aegilops*. Comme pour d'autres espèces, les génomes du blé sont classifiés et désignés par des lettres différentes de l'alphabet (A, B, C, D...). Les génomes des espèces très proches sont symbolisés par la même lettre.

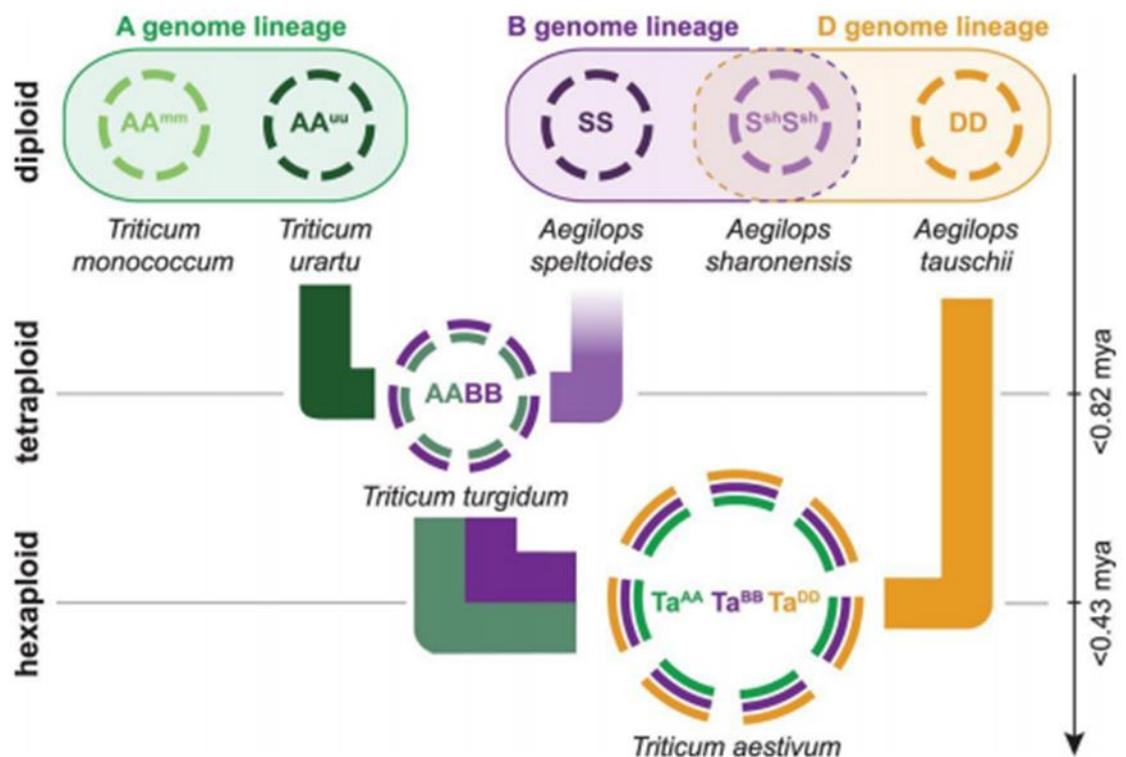
La détermination de l'origine de chacun des génomes du blé est difficile du fait de l'évolution des espèces. La connaissance actuelle concernant l'origine des génomes des blés a été acquise grâce à des études cytologiques, mais le développement des outils moléculaires a permis d'affiner et de compléter ces connaissances (Rayburn et Gill, 1985 ; Picard, 1988).

Le blé dur appartient à la famille des *Poaceae*, au genre *Triticum*, espèce *Triticum turgidum* L. var. *durum*.

La classification du blé dur, selon APG III (Mark *et al.*, 2009) est la suivante :

Clade	Angiospermes
Clade	Monocotylédones
Clade	Commélinidées
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i>

Cette espèce allo tétraploïde ( $2n = 4x = 28$ ) possède sept paires de chromosomes homologues associées à deux génomes différents A et B et dont la taille de 17 000 Mb (Mégabase) représente cinq fois celle du génome humain et 40 fois le génome du riz (Berges, 2010). Le génome A vient du blé sauvage *Triticum urartu*, plus connu sous le nom de *einkorn* (*Triticum monococcum*) de constitution génomique diploïde AA. Par contre le génome B vient de l'espèce sauvage, diploïde, *Aegilops speltoides* Tausch (Schuhwerk, *et al.*, 2011 ; Mayer *et al.*, 2014 ) (Fig.1).



**Figure 1** : Diagramme schématique des relations entre les génomes du blé avec l'histoire et la généalogie de la polyploïdisation (Mayer *et al.*, 2014).

**Tableau 1.** Classification GrainTax (des différentes espèces et sous espèces de blé appartenant aux genres *Triticum* et *Aegilops* et leurs génomes correspondants Charles, 2010).

<b>Triticum</b>			<b>Aegilops</b>		
Espèce	Génome	Autre appellation	Espèce	Génome	Autre appellation
Diploïdes :					
<b><i>Triticum monococcum</i></b>			<b><i>Aegilops markgrafii</i></b>	C	<i>Aegilops caudata</i>
<i>ssp. monococcum</i>	A <sup>m</sup>	<i>Triticum monococcum</i>	<b><i>Aegilops tauschii</i></b>	D	
<i>ssp. aegilopoides</i>	A <sup>n</sup>	<i>Triticum boeoticum</i>	<b><i>Aegilops comosa</i></b>	M	
<b><i>Triticum urartu</i></b>	A <sup>n</sup>		<b><i>Aegilops uniaristata</i></b>	N	
Tétraploïdes :					
<b><i>Triticum turgidum</i></b>			<b><i>Aegilops speltoides</i></b>	S	
<i>ssp. durum</i>	BA <sup>n</sup>	<i>Triticum durum</i>	<b><i>Aegilops bicornis</i></b>	S <sup>b</sup>	
<i>ssp. dicoccoides</i>	BA <sup>n</sup>	<i>Triticum dicoccoides</i>	<b><i>Aegilops longissima</i></b>	S <sup>l</sup>	
<i>ssp. dicoccon</i>	BA <sup>n</sup>	<i>Triticum dicoccon</i>	<b><i>Aegilops sharonensis</i></b>	S <sup>sh</sup>	
<i>ssp. carthlicum</i>	BA <sup>n</sup>	<i>Triticum carthlicum</i>	<b><i>Aegilops searsii</i></b>	S <sup>s</sup>	
<i>ssp. turanicum</i>	BA <sup>n</sup>	<i>Triticum turanicum</i>	<b><i>Aegilops umbellulata</i></b>	U	
<i>ssp. polonicum</i>	BA <sup>n</sup>	<i>Triticum polonicum</i>	Tétraploïdes :		
<i>ssp. paleocochlicum</i>	BA <sup>n</sup>	<i>Triticum karamyschevii</i>	<b><i>Aegilops triuncialis</i></b>	UC	
<b><i>Triticum timopheevii</i></b>			<b><i>Aegilops cylindrica</i></b>	CD	
<i>ssp. timopheevii</i>	GA <sup>n</sup>	<i>Triticum timopheevii</i>	<b><i>Aegilops ventricosa</i></b>	DN	
<i>ssp. armeniacum</i>	GA <sup>n</sup>	<i>Triticum araraticum</i>	<b><i>Aegilops crassa</i></b>	D <sup>m</sup>	
Hexaploïdes :					
<b><i>Triticum aestivum</i></b>			<b><i>Aegilops biuncialis</i></b>	UM	
<i>ssp. aestivum</i>			<b><i>Aegilops columnaris</i></b>	UM	
<i>ssp. compactum</i>	BA <sup>n</sup> D	<i>Triticum aestivum</i>	<b><i>Aegilops kotschy</i></b>	US	
<i>ssp. macha</i>	BA <sup>n</sup> D	<i>Triticum compactum</i>	<b><i>Aegilops peregrina</i></b>	SU	<i>Aegilops variabilis</i>
<i>ssp. spelta</i>	BA <sup>n</sup> D	<i>Triticum macha</i>	<b><i>Aegilops geniculata</i></b>	MU	<i>Aegilops ovata</i>
<i>ssp. sphaerococcum</i>	BA <sup>n</sup> D	<i>Triticum spelta</i>	Hexaploïdes :		
<i>ssp. vavilovii</i>	BA <sup>n</sup> D	<i>Triticum sphaerococcum</i>	<b><i>Aegilops crassa</i></b>	D <sup>DM</sup>	
<b><i>Triticum zhukovskyi</i></b>	GA <sup>m</sup> A <sup>u</sup>	<i>Triticum vavilovii</i>	<b><i>Aegilops trivialis</i></b>	DMS	
			<b><i>Aegilops juvenalis</i></b>	DMU	
			<b><i>Aegilops vavilovii</i></b>	DMS	
			<b><i>Aegilops neglecta</i></b>	UMN	<i>Aegilops recta</i>

Les lettres (A,B,D,G) pour les espèces du genre *Triticum* et (C,D,M,N,S) pour celles du genre *Aegilops* représentent les génomes diploïdes correspondants. Dans le cas des polyplôïdes, la (les) lettre(s) représentant le génome maternel est (sont) indiquée(s) en premier. Une lettre supplémentaire, en exposant, peut être utilisée pour préciser l'espèce associée au génome. Les deux espèces les plus cultivées, *T. aestivum* et *T. turgidum. durum*, sont soulignées.

### 1.1.4 Génétique d'association : approche de détection de la variation génotypique

L'amélioration génétique sera facilitée chez le blé si des connaissances sont acquises sur le déterminisme génétique de caractères d'intérêt agronomique. Parmi les nouvelles méthodologies permettant d'étudier de tel traits, l'utilisation de méthodes d'association phénotype/génotype au niveau populationnel parait une voie intéressante (Thornsberry *et al.*, 2001).

Dans la littérature anglo-saxonne, le terme « étude d'association » revêt ainsi plusieurs expressions : « association study », « association mapping », « gene mapping », « LD-mapping » ou encore « fine mapping ». Ces notions sont souvent utilisées de manière interchangeable.

D'une manière générale, l'étude d'association" désigne toute approche dont le but est de détecter et/ou de localiser des variants génétiques impliqués dans la variation d'un caractère d'intérêt à l'aide d'un échantillon d'individus pour lesquels l'information généalogique n'est pas exploitable (les relations d'apparentement étant trop "lâches" pour être valorisées).

Cette approche a été développée au début des années 1990 pour la recherche médicale, qui ne dispose pas de populations construites pour identifier les zones du génome impliquées dans le contrôle de maladies génétiques à déterminisme simple ou complexe.

En résumé, l'étude d'association consiste, en alternative au développement de populations entièrement contrôlées en ségrégation et à l'exploitation de la liaison physique entre marqueurs et localisations éventuelles de QTL impliqués dans des caractères agronomiques, à exploiter à partir d'un panel de génotypes.

Chez les plantes, deux approches générales sont utilisées pour identifier les variantes naturelles liées au phénotype :

- la première est la cartographie de liaison ou *linkage mapping* (Mackay *et al.*, 2009), qui utilise des populations expérimentales (*familles*) constituées à partir de croisements entre un nombre limité de parents (2 généralement).
- la seconde approche plus récente, est la cartographie d'association basée sur des populations (ou *population-based association mapping*). Cette dernière utilise des collections de populations diverses, constituées d'individus dont les relations ne sont pas souvent connues *a priori*.

La cartographie d'association basée sur des populations exploite un nombre d'événements de recombinaison davantage plus grand que ce qui peut être obtenu avec n'importe laquelle des populations de cartographie de liaison ciblées. Ces recombinaisons sont le résultat d'une accumulation au cours de l'histoire évolutive des collections de populations utilisées par la cartographie d'association qui conduisent à une résolution supérieure dans la localisation des régions génomiques associées au phénotype. Le nombre d'allèles disponible au sein de ces populations est également plus large que ce qui peut être représenté au sein de familles biparentales (Yu and Buckler, 2006). Ces avantages ont fortement motivés, depuis une décennie, le développement de cette méthodologie chez les plantes.

### 1.2 Ressources génétiques

#### 1.2.1 Importance des ressources génétiques

Une "Ressource Génétique" ou "Ressource Biologique" est définie par la Convention sur Diversité Biologique (CDB) comme du "matériel d'origine végétale, animale, microbienne ou autre, contenant des unités fonctionnelles de l'hérédité". Une ressource génétique est également définie par la CDB comme un « matériel génétique ayant une valeur effective ou potentielle » ; sont incluses les ressources génétiques conservées *in situ* et *ex situ* donc sur le terrain ou en collections (Cirad,2015).

Les ressources phytogénétiques ont toujours servi à l'homme comme matériel de départ pour répondre aux besoins nutritionnels, médicaux et d'habitat immédiat. Tout lui venait au départ de la cueillette, et c'est par la suite qu'il a commencé à opérer un choix au sein de la multitude d'espèces que lui offrait la nature.

C'est ainsi que l'homme a commencé par privilégier certaines espèces en les éjectant de leur environnement naturel et en les plaçant de plus en plus près de lui et dans des conditions de plus en plus particulières, d'où la naissance de l'agriculture et des semences agricoles.

Les paysans ont domestiqué les plantes et les animaux, inventé l'agriculture, affiné leurs connaissances et leur savoir-faire, bâti des systèmes durables depuis des siècles en utilisant les ressources génétiques locales. Ainsi donc, le rôle des pratiques agricoles traditionnelles qui utilisent une gamme très variée de ressources génétiques locales a été et demeure encore déterminant dans les processus de la sélection et de l'amélioration variétale, de même que dans la production de semences et le développement agricole.

L'identification phénotypique basée sur la description des caractères morphologiques et agronomiques sont largement utilisées pour l'évaluation de la diversité génétique des géotypes de blé (Lee et Kaltsikes, 1973; Cecarelli *et al.*, 1987, Van Hintum et Elings, 1991). Cependant les traits de caractères morphologiques ont de nombreuses limites telles qu'un faible polymorphisme, une faible héritabilité, une expression tardive du caractère pouvant être contrôlée par des gènes à effets épistatique et pleiotropique (Nakamura, 2001).

Actuellement, les ressources génétiques en blé sont d'une importance majeure, elles incarnent un éventail de diversité génétique nécessaire pour augmenter et maintenir le potentiel de rendement du blé et fournissent de nouvelles sources de résistance et de tolérance face aux différents stress biotiques et abiotiques.

#### 1.2.2 Diversité des ressources génétiques

Les centres de ressources génétiques ont pour but de décrire, maintenir, et conserver la diversité parmi les différentes espèces de céréales à paille. Ces ressources sont le patrimoine héréditaire disponible auprès des différents utilisateurs (chercheurs, sélectionneurs privés ou publics, agriculteurs, associations...). C'est également un outil précieux pour les chercheurs qui travaillent dans l'amélioration des plantes et la création variétale.

Les ressources génétiques ont été classées par catégorie, bien que cette catégorisation ne soit pas suivie par tous les centres impliqués dans la conservation et l'utilisation des ressources génétiques, ces catégories sont (Frankel, 1977 ; FAO, 1983) :

- cultivars modernes dont l'utilisation est courante ;
- cultivars désuets, souvent les cultivars d'élite du passé et souvent trouvés dans les pedigrees des cultivars modernes ;
- variétés autochtones ;
- parents sauvages de la tribu de Triticeae ;
- stocks génétiques et cytogénétiques ;
- lignées de multiplication.

### 1.2.3 Erosion des ressources génétiques

Depuis 1900, on a perdu les trois-quarts environ de la diversité génétique des plantes cultivées (Braun *et al.*, 1998). Indéniablement, les merveilles de l'amélioration de production ont eu comme conséquence l'érosion de la diversité génétique de beaucoup de récoltes, y compris le blé à cause du remplacement de cultivars autochtones par les cultivars modernes à haut rendement.

En plus, le déboisement, l'urbanisation, la destruction des terres humides et la mise en culture des terres sèches ont détruit les habitats d'un grand nombre de progéniteurs sauvages des plantes cultivées (Braun *et al.*, 1998).

Selon le Centre de Recherches Agricoles en Zones Sèches au Proche Orient, l'ampleur du déboisement et une utilisation médiocre des terres et de l'eau ont provoqué des pertes massives d'habitat naturel, beaucoup d'espèces végétales des terres sèches sont particulièrement affectées.

Des régions qui abritaient jadis de précieuses réserves génétiques de blé sauvage sont devenues des déserts (Hawkes, 1991 ). Selon cette même source, il est possible qu'on voie disparaître d'ici 2025 jusqu'à 60.000 espèces de plantes (soit 25 % du total mondial). La future sécurité alimentaire pourrait dépendre en partie de nouveaux moyens permettant de conserver des régions à riche diversité de plantes cultivées et d'élargir les collections de plasma germinatif (germoplasme) que renferment les banques de semences et les services de cultures tissulaires.

### 1.2.4 Conservation des ressources génétiques

Le développement agricole a conduit à des variétés très performantes mais s'est accompagné d'une réduction sensible de la diversité génétique. Il est donc nécessaire de constituer une "réserve génétique", comprenant des ressources très diversifiées susceptibles de répondre aux besoins futurs de l'homme. Ces ressources sont matérialisées sous forme de variétés, anciennes et modernes, de populations ou écotypes locaux et espèces sauvages proches des plantes cultivées.

A ce jour, les principales banques de gènes conserveraient environ 2,5 millions d'accessions. Par ordre décroissant d'importance, on citera les céréales qui représentent la moitié du matériel, les

légumineuses à graines, les espèces fourragères, les plantes légumières et les plantes à tubercules, sans oublier les espèces industrielles.

Depuis la création du centre international pour les ressources phytogénétiques IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources) en 1974, un effort considérable a été fait pour la prospection et la conservation des plantes cultivées pour l'alimentation, ayant une importance économique, mais menacées d'érosion génétique.

La conservation des ressources génétiques a été organisée par l'IBPGR en un réseau de collections de base: il y aurait environ 60 banques de gènes détenant du matériel original en quantité, réparties dans une quarantaine de pays représentant différentes zones géographiques et pays en développement.

Les centres internationaux de recherche agronomique (CIRA), et certains centres nationaux ont été largement impliqués. Neuf des treize CIRA ont développé comme activité prioritaire la conservation, l'évaluation et l'utilisation des ressources génétiques et détiennent près de 500 000 échantillons.

Il n'y a que 15% des pays associés aux CIRA qui réalisent des programmes internationaux de ressources génétiques par manque de moyens, d'infrastructures et d'équipes qualifiées, d'où l'importance des programmes coopératifs internationaux (Charrier et Eskes, 1997).

Les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture (RPGA) constituent la base biologique de la sécurité alimentaire mondiale et fournissent des moyens de subsistance à tous les habitants de la planète. Ces ressources sont la matière première la plus importante pour le sélectionneur et l'intrant le plus essentiel à l'agriculteur. C'est pour cette raison que, la conservation, l'utilisation durable et le partage juste et équitable des avantages tirés de l'utilisation des ressources phytogénétiques, sont à la fois une préoccupation et un impératif sur le plan international.

Après plus de trois ans d'existence, le projet Safe PGR (Sécurisation des Ressources Génétiques Végétales) arrive à son terme, il a démarré en février 2012 et s'achèvera à la mi-mai 2015. Ce projet avait pour dessein l'amélioration des méthodes de diagnostic viral pour sécuriser les collections de ressources génétiques végétales. Les CRB, ou Centres de Ressources Biologiques, sont les principaux acteurs concernés par ce projet qui ont pour fonction de préserver les collections de matériel biologique ; les ressources végétales d'intérêt agricole dont ils ont la gestion dans le cas présent (Reteau, 2015).

Le Protocole de Nagoya sur l'accès aux ressources génétiques et le partage juste et équitable des avantages découlant de leur utilisation à la convention sur la diversité biologique, plus communément appelé Protocole de Nagoya sur l'accès et le partage des avantages (APA), est un accord international sur la biodiversité. Il a été adopté par la dixième réunion de la Conférence des Parties à la Convention sur la diversité biologique des Nations unies, le 29 octobre 2010 à Nagoya au Japon, et est entré en vigueur le 12 octobre 2014.

Le protocole porte sur l'utilisation des ressources génétiques de la planète, les connaissances traditionnelles associées à ces ressources génétiques et aux bénéfices ou avantages découlant de leur

utilisation, et est présenté comme « historique » par l'ONU (Organisation des Nations Unies), avec en outre le projet de « la création d'un mécanisme multilatéral mondial qui opérera dans les zones transfrontières ». Il accorde aux communautés autochtones et locales une reconnaissance des connaissances, innovations et pratiques qu'elles ont développé et « un droit reconnu d'accorder l'accès à certaines ressources génétiques » (Cirad, 2015).

Les cas d'utilisation des RPGA (Ressources Phytogénétiques pour l'Agriculture), sont nombreux aussi bien dans l'amélioration variétale, que dans les approches de solutions aux problèmes agronomiques et socio-économiques.

Durant les années 1960, par exemple, quand une épidémie de rouille du blé a éclaté aux Etats-Unis, ce sont des gènes provenant d'un blé sauvage de Turquie qui ont apporté la résistance. Plus étonnant encore, quand un fléau violent a dévasté le sixième des cultures de maïs aux 17 Etats-Unis, en 1970, les sélectionneurs ont trouvé deux ancêtres du maïs moderne au Mexique. Une fois développées, ces deux variétés de maïs sauvage ont donné une résistance contre sept graves maladies du maïs cultivé. Ce qui est remarquable, c'est que les seuls progéniteurs qu'on ait pu trouver étaient quelques plantes dans une petite parcelle qui allait être développée (Hawkes, 1991).

A la fin des années 1960, la conservation des ressources génétiques des espèces végétales est devenu un enjeu économique mondial (Pernés, 1984). Dans un premier temps, de nombreuses prospections ont abouti à la constitution d'importantes collections de plantes (Boudour, 2006).

En résumé, la sauvegarde de la diversité biologique des plantes cultivées est nécessaire pour : - conserver ce patrimoine génétique - rendre disponible les ressources génétiques - disposer d'un réservoir permettant d'affronter des problèmes qui pourraient surgir dans le futur. - assurer la continuité des améliorations génétiques des cultures alimentaires.

Les ressources génétiques peuvent être conservées dans leur milieu naturel (conservation *in situ*) ou en dehors de leur habitat d'origine, de manière statique (conservation *ex situ*) ou dynamique :

- **Conservation *in situ***

La conservation des ressources génétiques dans leur milieu s'est longtemps limitée aux espèces difficiles à conserver comme les plantes à semences récalcitrantes ou celles qui ne peuvent pas être régénérées en dehors de leurs habitat naturel.

Les ressources génétiques d'espèces sauvages se conservent de préférence dans leur milieu naturel. Ce mode de gestion permet de maintenir les potentialités d'adaptation et d'évolution, face aux variations du milieu. Pour les espèces d'intérêt agricole *et* alimentaire, la gestion *in situ* est surtout utilisée pour les espèces sauvages apparentées aux espèces cultivées.

La conservation *in situ* nécessite une étude écogéographique sur les différents taxons (IBPGR, 1985). Ces dernières pouvant donner des informations sur la différenciation floristique et écologique des

habitats pour leurs variations phénotypiques ou agronomiques. Selon Olivier et Chauvet, (1992), la conservation *in situ* doit avoir deux grands objectifs :

- Le maintien d'un nombre suffisant d'individus sur un site précis, pour permettre la conservation des allèles rares ou la création d'une nouvelle variété.
- Le maintien d'une grande diversité des habitats, qui favorise de nouveaux caractères sélectionnés et la fréquence des caractères adaptatifs.

En ce qui concerne la conservation *in situ* d'espèces apparentées au blé, deux exemples peuvent être donnés, celui du programme (Ammiad) de conservation des populations de l'espèce (*T. diccoides*) en Israël, et celui du programme Turc de conservation *in situ*, qui s'intéresse en particulier aux espèces du genre *Aegilops*.

Un projet financé par l'union européenne est destiné à rassembler, évaluer et conserver les ressources génétiques régionales. Le projet a commencé en 1977 sur une période de deux ans : 139 accessions ont été rassemblées, parmi lesquelles 3 de blé dur, 12 de blé tendre et 12 de blé (*T. dicocccum*) (Silveri *et al.*, 2001 ; boudour, 2006) .

- **Conservation *ex situ***

Les ressources génétiques peuvent être conservées de manière stable en dehors de leur habitat d'origine : - sous forme de semences — par exemple, grains de blé de différentes lignées ;  
- sous forme d'organes ou de plants *in vitro* — par exemple, méristèmes de caféier en tubes ;  
- sous forme de plantes rassemblées en collection conservatoire au champ - par exemple, verger de pommiers. On parle alors de conservation *ex situ*.

Les conditions de conservation sont strictes avec des températures voisines de +4C°. Des tests de fiabilités sont effectués tous les 5 ans (FAO/IPGRI, 1994).

Leistrumaitė, (2001) a établi une étude sur les ressources génétiques des céréales à l'Institut d'agriculture Lituanien, en se basant sur les caractères morphologiques et les qualités agronomiques. Quarante-trois accessions de la récolte ont été placées sous conservation à long terme avec 10.000 graines par accessions. Trente-huit d'entre elles ont été placées en collection de sécurité au niveau de la banque de gène Nordique.

- **Conservation dynamique**

Pendant des millénaires, les agriculteurs ont utilisé leurs propres semences, ou celles de leurs voisins. Leurs variétés évoluaient ainsi en permanence. Cette conservation à la ferme perdure dans certaines régions du monde. En France, elle n'est plus pratiquée pour la plupart des espèces. Pour certaines espèces sélectionnées, on peut recréer des situations analogues en soumettant des populations composites à des pressions de sélection proches de celles de leurs milieux naturels. On parle de gestion dynamique, l'objectif étant de conserver la capacité de l'espèce à évoluer dans le temps et à s'adapter aux variations du milieu.

### 1.3 Paramètres phéno-morpho- physiologiques et rendement

#### 1.3.1 Les paramètres phénologiques : date d'épiaison

Le timing des événements phénologiques représente un facteur important pour l'adaptation dans un environnement donné (Richards, 1991 ; Shorter *et al.*, 1991) . La phénologie intervient dans l'adaptation parce qu'elle aide à un meilleur ajustement du cycle de développement de la plante pour l'assortir au climat de l'environnement de production (Mekhlouf *et al.*, 2006).

La phénologie rythme le développement de la plante et ajuste le cycle végétatif de manière à l'assortir aux conditions optimales de croissance de l'environnement de production (Oudjani,2009).

C'est cette difficulté pratique d'appréciation qui a conduit certains généticiens à chercher à la précocité un autre critérium, plus sûr et plus aisément décelable, et à choisir, pour cela, la date d'épiaison, phénomène susceptible d'être saisi avec beaucoup plus de netteté ( Miège,1927).

Dans les conditions semi-arides méditerranéennes, la précocité à l'épiaison et celle à maturité sont souvent utilisées comme critère de sélection et citées comme mécanismes importants dans l'esquive ou l'échappement à des contraintes climatiques (Wardlaw *et al.*, 1995). Il s'agit d'éviter les périodes critiques du cycle de développement (hautes températures, déficit hydrique) en les situant en dehors des moments de risque de survenue d'accidents climatiques.

D'après Papadakis, (1983), la précocité d'un génotype par rapport à un autre se matérialise par le nombre de jours à réaliser jusqu'à l'épiaison lorsqu'ils sont semés à la même date. De ce fait l'utilité de la sélection se basant sur la précocité dans la date d'épiaison est plus à même de répondre aux soucis d'éviter à la plante des contraintes liées aux froids tardifs et surtout la sécheresse et les hautes températures de fin de cycle (Van oosteram *et al.*,1993).

Selon Worland *et al.*, (1994), la précocité à l'épiaison et par conséquent celle à maturité, est déterminée par un ensemble complexe de gènes. La durée de remplissage est légèrement plus courte chez les variétés européennes (38 jours contre 42 jours).

#### 1.3.2 Paramètres morphologiques

En milieu variable, les caractères morphologiques peuvent jouer des rôles assez importants qui réduisent la variabilité des rendements en grains (Harrath, 2003).

Dans les zones arides et semi-arides de la méditerranée, la possibilité et la faculté des plantes à avoir un tallage fertile en conditions de stress hydrique est l'un des facteurs qui influence directement le rendement en grains (Nachit *et al.*, 1992).

##### 1.3.2.1 Hauteur de la plante

La hauteur de la plante apparaît comme un critère de sélection important. Plusieurs hauteurs trouvent une liaison positive et significative entre le rendement et la hauteur de la paille. Ceci s'expliquerait par le fait qu'une paille haute s'accompagne souvent d'un système racinaire profond ce qui conférerait à la plante une capacité d'extraction de l'eau supérieure (Bagga *et al.*,1970).

Fisher et Maurer, (1978) mentionnent que les blés hauts ont un indice de sensibilité à la contrainte hydrique plus faible comparativement aux blés nains et semi – nains.

Il a été admis que les variétés de céréales les plus tolérantes à la sécheresse sont celles qui se caractérisent par une paille haute. Cette tolérance résulterait de l'aptitude à remplir correctement le grain en phase terminale du cycle grâce aux quantités d'assimilats stockées au niveau du col de l'épi (Blum, 1988).

Selon Bahlouli *et al.*, (2008) dans des conditions défavorables les meilleurs géotypes sont ceux qui maintiennent l'activité photosynthétique et qui augmentent le taux de remplissage grâce à l'utilisation des assimilats stockés dans la tige.

### 1.3.2.2 Longueur des barbes

Selon Teich, (1982) les géotypes barbus sont recherchés surtout dans les zones où le climat est sec et chaud, alors que les géotypes sans barbes sont prédominants dans les régions tempérées et humides.

Nemmar, (1980) mentionne que la présence des barbes chez les céréales augmente la possibilité d'utilisation de l'eau et l'élaboration de la matière sèche lors de la phase de maturation. Lors de la phase de remplissage du grain, la photosynthèse est moins sensible à l'action inhibitrice des hautes températures chez les géotypes barbus comparativement aux géotypes glabres (Fokar *et al.*, 1998).

La longueur des barbes est un paramètre morphologique qui semble également étroitement lié à la tolérance au déficit hydrique terminal tout au moins chez le blé dur (Hadjichristodoulou, 1985). Les barbes, par leur port dressé et leur position au voisinage immédiat de la graine, conditionnent sa formation (Gate *et al.*., 1992) .

Les barbes augmentent chez les céréales la possibilité d'utiliser les assimilats lors de la phase de maturation des graines. Elles arrivent à contribuer pour environ 15% au remplissage du grain du fait qu'à ce moment, elles sont les seuls organes qui restent photo synthétisants (Grignac, 1965).

Selon Blum, (1988) l'activité photosynthétique est moins affectée par les hautes températures de fin de cycle de la feuille étendard. Grignac, (1965) indique que les blés barbus sont plus résistants que les blés faiblement aristés lors d'un déficit hydrique.

### 1.3.2.3 Longueur du col de l'épi

Ce paramètre constitue un bon indicateur de tolérance au déficit hydrique (Fisher *et al.*, 1978). Le rôle de ce paramètre s'expliquerait par la quantité d'assimilats stockée par les organes susceptibles d'un transfert vers le grain en cas de déficit terminal (Gate *et al.*, 1990).

Un col de l'épi long constitue une protection contre la contamination de l'épi par les spores de *Septoria* à partir des dernières feuilles (Oudjani, 2009).

### 1.3.2.4 Longueur de l'épi

Les caractéristiques de l'épi contribuent également à une limitation des pertes en eau (Febrero *et al.*, 1990). L'épi assure une activité photosynthétique importante au cours du remplissage du grain et sa contribution à la photosynthèse de la plante serait comprise entre 13 et 76%, en cas de déficit hydrique, la photosynthèse de l'épi participe relativement plus au remplissage que la feuille étendard (Biscope *et al.*, 1975).

Abbad *et al.*, (2004) ont montré l'importance du rôle photosynthétique de l'épi dans l'élaboration du rendement par rapport de celui de la feuille étendard non seulement aux conditions de la sécheresse mais aussi en absence du stress .

### 1.3.2.5 Feuille étendard

De part son âge, sa position, la feuille étendard joue un rôle primordial dans le remplissage du grain. La durée de vie de la feuille étendard estimée par l'évolution de sa surface verte apparaît comme un révélateur du niveau de fonctionnement de l'appareil photosynthétique en présence de déficit hydrique (Clarke, 1987 ; Monneveux, 1991). Selon Boyer, (1970) et Hsiao, (1973), lors du déficit hydrique, la plante réagit par la diminution de la biomasse aérienne, en particulier la surface de sa dernière feuille. Alors que Johnson *et al.*, (1983) suggèrent que les plantes à surface foliaire plus grande peuvent tolérer la déshydratation et maintenir un potentiel hydrique élevé.

Kirkham *et al.*, (1980) proposaient qu'une surface foliaire réduite puisse être avantageuse, du fait qu'elle réduit effectivement la perte en eau totale de la plante.

D'après Planchon, (1976) l'assimilation nette potentielle de la dernière feuille dépend de : sa surface foliaire, nombre de stomates, teneur en chlorophylle et l'âge de la feuille.

Cependant certains travaux soulignent une relation entre les capacités photosynthétiques de l'unité de surface de la feuille et la production agricole d'une plante ; c'est le cas chez le blé, où les variétés modernes à fort rendement ont une photosynthèse par unité de surface plus faible, mais ont une surface assimilatrice plus grande que les variétés peu productives (Dunstone, 1970 ; Malet et Gunarde, 1981).

Mossad *et al.*, (1995) trouvent que les génotypes, qui émettent rapidement plus de talles par surface et développent une grande surface foliaire, donnent de forts rendement.

### 1.3.3 Composants du rendement

Selon Ceccarelli *et al.*, (1992) le rendement est un caractère quantitatif complexe, sa variation est sous le contrôle polygénique de nature non additive et plus soumis à la variation environnementale.

L'amélioration du rendement dépend de l'amélioration d'une ou de plusieurs composantes du rendement.

Chez le blé dur, le rendement en grains est la résultante de plusieurs paramètres et des conditions environnementales dans lesquelles la plante est cultivée.

Certains chercheurs (Engledow et wadham, 1993) définissent le rendement comme étant l'ensemble des composantes : nombre de plantes par unité de surface, nombre d'épis /plante, nombre de grains /épi et poids de mille grains.

Simane *et al.*, (1993) signalent que l'une des raisons principales de la lenteur de l'amélioration des rendements dans les environnements où l'eau est limitante, est l'effet de compensation qui s'instaure entre elles en fonction de la disponibilité de l'humidité. L'effet de compensation entre les composantes du rendement est un mécanisme de développement important qui est à même de reconstituer le rendement en grains lors de la reprise après stress (Blum, 1996).

Selon Wardlaw, (2002) c'est la durée de remplissage du grain qui a le plus grand effet sur le poids moyen du grain. Le taux de remplissage par grain explique mieux les différences de poids moyen du grain que les différences de durée des phases (Abbassenne et al., 1997).

Simane *et al.*, (1993) trouvent que tous les effets directs des composantes du rendement sont positifs, chaque effet direct aboutit à une augmentation du rendement.

La taille et le poids moyen du grain participent à la stabilité de la production d'un cultivar donné. Ils dépendent des conditions de croissance post-anthèse (vitesse de transfert), de l'activité photosynthétique durant le remplissage du grain (durée de vie de la feuille étendard) et du nombre de cellules formées par l'endosperme (Benlaribi, 1984 ; Bouzerzour *et al.*, 1998).

### 1.3.4 Paramètres physiologiques

Les outils de physiologie appliqués à la sélection trouvent des difficultés dues à la complexité des mécanismes des plantes et leur comportement vis-à-vis des conditions abiotiques de l'environnement. Parmi les paramètres phénologiques que nous avons considéré dans ce travail sont :

#### 1.3.2.6 Teneur relative en eau (TRE)

La teneur relative en eau ou turgescence cellulaire figure parmi les nombreux critères d'évaluation de la tolérance au stress hydrique. Cette caractéristique liée en premier au génotype, permet à la plante de maintenir un statut hydrique foliaire capable de garantir la continuité de l'activité métabolique dont entre autres la photosynthèse.

La TRE dépend de 3 facteurs à savoir : La capacité d'extraction de l'eau du sol, le contrôle des pertes de l'eau par les surfaces foliaires et les possibilités d'ajustements osmotiques (Araus *et al.*, 1991).

La teneur relative en eau figure parmi les différents critères d'évaluations de la tolérance de sécheresse proposés par plusieurs auteurs (Clarcke et Caig, 1982 ; Sechonfled *et al.*, 1988). Ces

auteurs ont montré que les variétés de blé qui ont une teneur relative en eau importante sont plus tolérantes à la sécheresse.

Le maintien d'un niveau élevé de la TRE serait probablement lié à une bonne capacité d'ajustement osmotique permettant la préservation de l'intégrité structurale et fonctionnelle des tissus (Blum, 1988).

Rascio, (1985) mentionne que les génotypes qui maintiennent une teneur relative en eau élevée sont les plus résistantes à la sécheresse.

Pour Semiani, (1997) le maintien d'une TRE élevée chez une variété de blé tendre en conditions sèches s'explique par sa haute capacité à accumuler des solutés et/ou à une faible élasticité des tissus. Il conclut également que la chute de la teneur relative en eau en fonction du niveau de stress est un caractère dépendant du génotype.

Fellah *et al.*,(2002) notent des différences génotypiques dans le temps mis par les stomates pour se fermer sous stress.

### 1.3.2.7 Teneur en chlorophylle totale (TCHT)

La teneur en chlorophylle est l'un des indices de l'activité photosynthétique (Larcher, 1995). Elle est d'une importance particulière car considérée comme un indicateur de l'activité photosynthétique.

D'autres auteurs comme Planchon, (1976) ont rapporté l'existence d'une étroite corrélation entre la couleur de l'épi et la teneur en chlorophylle a. De même, il note que l'assimilation nette mesurée par un éclaircissement saturant est liée à la chlorophylle totale et la chlorophylle a.

Aussi, Guettouche, (1990) indique que les variétés tolérantes sont celles qui ont un rapport Chlorophylle (a)/Chlorophylle (b) élevé avec une coloration pâle du feuillage.

## 1.4 Marqueurs moléculaires

En biologie végétale, le terme marqueur s'applique à plusieurs concepts, parfois très différents. Il est, par exemple, possible de définir des marqueurs physiologiques et des marqueurs génétiques. Les premiers correspondent à tout type de molécules, facilement repérables, dont la présence renseigne sur un stade de développement ou un état physiologique, situations complexes faisant intervenir de nombreux paramètres en interaction. Les marqueurs génétiques sont, quant à eux, toujours synonymes de locus marqueurs. Un locus marqueur est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte et/ou sur les génotypes des locus voisins. Les marqueurs génétiques sont par définition des caractères héréditaires.

D'après Bretting et Widrlechner,(1995) les marqueurs moléculaires doivent réunir les caractéristiques idéales suivantes : être des caractères mendéliens à hérédité simple ; avoir plusieurs allèles ; être codominants ; ne pas avoir d'effet pléiotropique ou épistatique ; être dispersés le long du génome ; ne

pas être liés entre eux ; être insensibles au milieu ; être stables à tous les stades du développement ; ne pas avoir d'effet sur la croissance ou la reproduction sexuée ; être sélectivement neutres ; être facilement observables et sans ambiguïté.

Les marqueurs largement utilisés à ce jour concernent directement l'information portée par les acides nucléiques ou les produits de la traduction des gènes. On distingue les marqueurs biochimiques, issus de l'expression des gènes, y compris les produits du métabolisme secondaire, et les marqueurs moléculaires, directement issus du polymorphisme existant au niveau de l'ADN.

Les marqueurs sont utilisés pour décrire la variabilité génétique et sa répartition au sein de populations et d'espèces, ils servent aussi à préciser les mécanismes évolutifs des populations qui rendent compte de cette description. Le choix des marqueurs dépend de l'objectif précis fixé et des moyens des utilisateurs.

### 1.5.1 Types des marqueurs moléculaires

#### 1.5.1.1 Marqueurs codominants révélés par la technique RFLP

Les RFLP furent les premiers marqueurs utilisés pour analyser la variabilité génétique inter et intra-spécifique au niveau génomique. Cependant, la détection des RFLP est un processus coûteux, qui ne se prête pas à l'automatisation et il est actuellement, considéré comme obsolète. Les variations d'ADN peuvent être mises en évidence en comparant le profil d'ADN digéré de différents échantillons des espèces ou des variétés (Scarano et Rao, 2014).

Cette technique implique de réaliser les manipulations suivantes : l'ADN génomique total extrait est purifié en quantité assez importante à partir de chaque génotype, puis soumis à une digestion par une enzyme de restriction. Les fragments générés sont séparés selon leur taille par une électrophorèse sur gel.

#### 1.5.1.2 Marqueurs codominants révélés par les techniques STS en CAPS ou PCR/RFLP

La technique CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*) ou PCR/RFLP consiste à digérer le fragment amplifié avec une ou plusieurs enzymes de restriction à site de reconnaissance tétranucléotidique et à révéler le polymorphisme des sites de restriction par électrophorèse classique en gel d'agarose ou d'acrylamide non dénaturant. Chez les graminées, par exemple, cette technique a été utilisée pour convertir certaines sondes RFLP en marqueurs STS (Williams *et al.*, 1991).

La technique de PCR/RFLP est cependant surtout utile lorsque peu de marqueurs doivent être manipulés sur un grand nombre de plantes, comme dans le cas de marqueurs liés à des gènes de résistance aux parasites. Elle autorise un crible rapide sur des populations importantes (Saiki, 1988).

#### 1.5.1.3 Marqueurs codominants révélés par les techniques STS en PCR-SSCP

La technique de SSCP (*Single Strand Conformation Polymorphism*,) s'applique à l'analyse de produits d'amplification PCR. Lorsqu'un fragment d'ADN double brin est dénaturé par chauffage à

95 °C, puis rapidement refroidi, les molécules simple brin n'ont pas le temps de se réassocier entre elles mais forment une structure secondaire stable par des réassociations intramoléculaires au niveau de zones de séquences complémentaires.

Les différences de séquences peuvent entraîner des différences de conformation qui sont décelées par une migration en conditions non dénaturantes dans un gel d'acrylamide. Cent pour cent des différences de séquences sont théoriquement décelables dans des fragments d'ADN de taille inférieure à 200 pb. Ce pourcentage diminue lorsque la longueur du fragment augmente, mais la technique reste assez performante pour des fragments de 800 à 1 000 pb. Chez un individu homozygote, deux bandes sont en général observables, car deux molécules d'ADN simple brin complémentaires ont des conformations secondaires différentes (Fukuoka *et al.*, 1994 ; Bodenes *et al.*, 1996) .

Le procédé SSCP est potentiellement très intéressant car il ne nécessite pas de digestion, comme les CAPS et peut concerner n'importe quelle séquence. Il est utile pour le crible rapide des variants des produits d'amplification lorsque la connaissance précise des substitutions en cause n'est pas nécessaire. Cette technique est cependant encore assez peu utilisée en raison surtout de certaines difficultés dans la maîtrise des conditions d'électrophorèse (Nasernakhaei *et al.*., 2014).

### 1.5.1.4 Marqueurs microsatellites

Les séquences microsatellites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) sont constituées de répétitions en tandem de motifs mono, di, tri ou tétranucléotidiques. Les plus courantes sont (A)<sub>n</sub>, (AT)<sub>n</sub>, (GA)<sub>n</sub>, (GT)<sub>n</sub>, (TAT)<sub>n</sub>, (GATA)<sub>n</sub>, etc... La valeur de n pouvant aller de quelques unités à plusieurs dizaines. De tels motifs sont très abondants dans le génome des organismes eucaryotes. Chez les végétaux supérieurs, les premières estimations indiquent qu'il y aurait en moyenne un microsatellite dinucléotidique tous les 30 à 100 kb (Morgante et Olivieri, 1993) .

Une banque génomique de riz a été criblée par hybridation en utilisant comme sondes des motifs microsatellites. Les motifs poly (GA)<sub>n</sub> et poly (GT)<sub>n</sub> sont, par exemple, respectivement présents environ 1 360 et 1 230 fois dans le génome de cette céréale (Panaud *et al.*, 1995) .

Des séquences microsatellites ont également été identifiées dans le génome chloroplastique de diverses espèces d'Angiospermes et de Gymnospermes ( Vendramin,*et al.*, 1996) .

### 1.5.1.5 Marqueurs dominants

Par rapport aux techniques décrites précédemment qui, toutes, visent à révéler le polymorphisme dans ou au voisinage d'une séquence particulière (technique spécifique de locus), les techniques décrites ici, regroupées sous l'appellation MAAP (*Multiple Arbitrary Amplicon Profiling*), toutes fondées sur la PCR, ne « ciblent » pas une région particulière du génome fixée à l'avance. Presque toujours, elles révèlent simultanément plusieurs locus (jusqu'à plus d'une centaine), ce qui permet souvent, en peu d'expériences, de caractériser sans ambiguïté un génotype. Elles sont naturellement utilisées pour réaliser du génotypage rapide (ou *fingerprinting*/ empreintes génétiques) mais servent également pour la cartographie génétique (Williams *et al.*, 1990).

### 1.5.1.5.1 Technique RAPD

Le principe des RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) consiste à réaliser une réaction PCR sur l'ADN de l'individu étudié en utilisant une amorce courte, de 10 nucléotides en général, de séquence arbitraire. L'amorce va s'hybrider chaque fois que se trouvera dans l'ADN une séquence qui lui est complémentaire (ou comportant un nombre limité de mésappariements). Si deux sites d'hybridation sont proches l'un de l'autre (à moins de 3 000 pb) et en direction opposée, c'est-à-dire dans une configuration permettant la PCR, l'amplification aura lieu. Si un de ces deux sites est absent dans un autre individu, il n'y aura pas d'amplification. Les produits d'amplification obtenus en RAPD, dont le nombre dépasse rarement la dizaine, sont en général séparés par électrophorèse sur gel d'agarose (Williams *et al.*,1991).

Dans la majorité des cas, le polymorphisme révélé par la technique RAPD est de type présence/absence. Dans ces conditions, les homozygotes pour l'allèle « absence de bande » sont repérés sans ambiguïté, tandis que la présence de bande ne permet pas de trancher entre l'hétérozygote et l'homozygote pour l'allèle « présence de bande ». Ces marqueurs sont donc qualifiés de « dominants ». Lors d'analyses de populations en ségrégation, il est cependant possible de repérer des bandes d'amplification d'allèles qui diffèrent par leur taille. Les marqueurs ainsi générés sont donc codominants. On peut considérer que 10 à 15 % des marqueurs RAPD sont codominants (Rieseberg, 1996).

La cartographie des marqueurs RAPD montre parfois que certaines bandes sont présentes dans les génotypes de la descendance alors qu'elles sont absentes des plantes parentales. Ces marqueurs sont des produits d'amplification issus de la formation de molécules d'ADN (Hallden *et al.*,1996).

Les marqueurs RAPD, marqueurs anonymes qui ne ciblent pas une séquence donnée, doivent être prudemment transférés à une espèce végétale autre que celle où ils ont été établis. Les marqueurs sont caractérisés par une taille de fragment, ce qui n'implique en aucun cas l'homologie de séquence des fragments amplifiés de même taille qui sont observés chez des individus différents (Rieseberg, 1996).

Lorsqu'un marqueur RAPD a été repéré au voisinage d'un gène intéressant, par exemple un gène qu'il est utile de suivre au cours des générations dans un schéma de sélection, il est possible de le convertir en un marqueur révélé individuellement spécifique du locus considéré. Pour cela, la bande d'amplification RAPD intéressante est extraite du gel. L'ADN est alors cloné et séquencé. Des amorces d'une vingtaine de bases sont ensuite définies afin d'amplifier de façon spécifique le locus marqueur, il devient alors un marqueur SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*). Les diverses techniques de révélation du polymorphisme à l'intérieur des produits d'amplification STS pourront dès lors être mises en œuvre.

Mahjoub *et al.*, (2012) ont distingué et évalué des différents génotypes d'*Aegilops* et de *Triticum* en utilisant les marqueurs RAPD. Chez treize populations d'*Aegilops geniculata* et trois variétés de blé dur, ces auteurs ont prouvé que les marqueurs RAPD pourraient être un outil puissant pour étudier la variation génétique et pour détecter la structuration génétique des populations à différents niveaux hiérarchiques.

Une étude de la variation moléculaire de 16 variétés de blé dur a été évaluée par Cifci et Yagdi ,(2012) à l'aide de marqueurs RAPD. Sur la base de l'analyse PCR/RAPD en utilisant 45 amorces, 17 ont été trouvées polymorphes, la similarité génétique est entre 0,32 et 0,86.

D'après Abdellatif et Abouzeid,(2011) un polymorphisme de 86,67 % et 100% est détecté chez 40 génotypes de blé en utilisant 17 amorces. Le dendrogramme et la matrice de similarité génétique basées sur la variation moléculaire montre une forte corrélation entre les variétés de blé d'Égypte et celles de la Grèce.

### 1.5.1.5.2 Technique ISSR

Une exploitation plus simple des marqueurs microsatellites consiste à les révéler en masse, en s'inspirant du principe de la RAPD. Pour cela, on utilise une amorce constituée pour partie d'une séquence de microsatellite et pour partie de bases arbitraires. Deux types d'amorces sont concevables, selon les positions relatives de ces deux parties. La PCR va amplifier des fragments flanqués de motifs microsatellites (figure .2).



**Figure 2.** Principe de l'ISSR (Santoni *et al.* ,2000).

Si les bases arbitraires de l'amorces sont du côté 5' du microsatellite, on obtiendra le produit d'amplification A, si elles sont du côté 3', le produit B.

Dans des conditions d'amplification adaptées, la technique ISSR (*Inter SSR-PCR*,) permet de produire plusieurs dizaines de produits qui sont visualisés soit sur des gels d'agarose, soit sur des gels d'acrylamide. Le polymorphisme révélé est essentiellement de type présence/absence, comme pour les RAPD, mais correspondant parfois à des différences de longueur de fragment, comme pour les microsatellites. Les marqueurs ISSR se sont révélés très polymorphes et permettent de distinguer des variétés génétiquement très proches (Prevost et Wilkinson,1999 ).

Hajiyev *et al.*, (2015), ont évalué la diversité génétique de 110 génotypes de blé dur de l'Azerbaïdjan par des marqueurs ISSR. Un total de 107 fragments ont été déterminés, allant de 9 à 18 par locus. Les amorces ISSR ont révélé un niveau élevé de polymorphisme (moyenne 82%) entre les différentes variétés de blé dur. Les marqueurs ISSR utilisés dans l'étude ont été très instructifs. L'analyse typologique basée sur des données ISSR a classé les accessions en 11 grands groupes.

Gradzielewska *et al.*, (2014), ont étudié la similitude génétique entre les espèces *Dasypyrum*, *Secale* et *Triticum* avec RAPD et ISSR. Pour afficher un niveau de similitude entre les espèces, 12 populations de *Dasypyrum* (11 *D. villosum* et 1 *D. breviaristatum*), ainsi que 12 accessions appartenant à 3 espèces *Secale* et 12 accessions de 4 espèces de *Triticum* ont été utilisés. Les distances génétiques et les valeurs bootstrap ont été calculées pour présenter les relations entre les espèces.

Razmjoo *et al.*, (2015), ont évalué la diversité génétique de 25 génotypes de blé dur (23 lignées, 2 variétés locales) des marqueurs ISSR ont été utilisés pour étudier la diversité génétique des génotypes testés utilisant 10 amorces. Le dendrogramme et la Matrice de la similarité génétique basées sur la variation moléculaire montre une forte corrélation entre les génotypes étudiés (entre 0,38 et 0,90). Les résultats ont révélé que les marqueurs ISSR pourraient être efficacement utilisés pour évaluer la variation génétique entre les génotypes de blé dur.

### 1.5.1.5.3 Technique AFLP

La technique AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) est fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de site de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires. Elle a été mise au point par la société néerlandaise Keygene pour une utilisation initiale en amélioration des plantes et elle est couverte par un brevet. L'ADN génomique purifié est d'abord coupé par deux enzymes de restriction (généralement *EcoRI* et *MseI*) ayant des sites de reconnaissance respectivement de 6 et 4 bases (Santoni *et al.*, 2000).

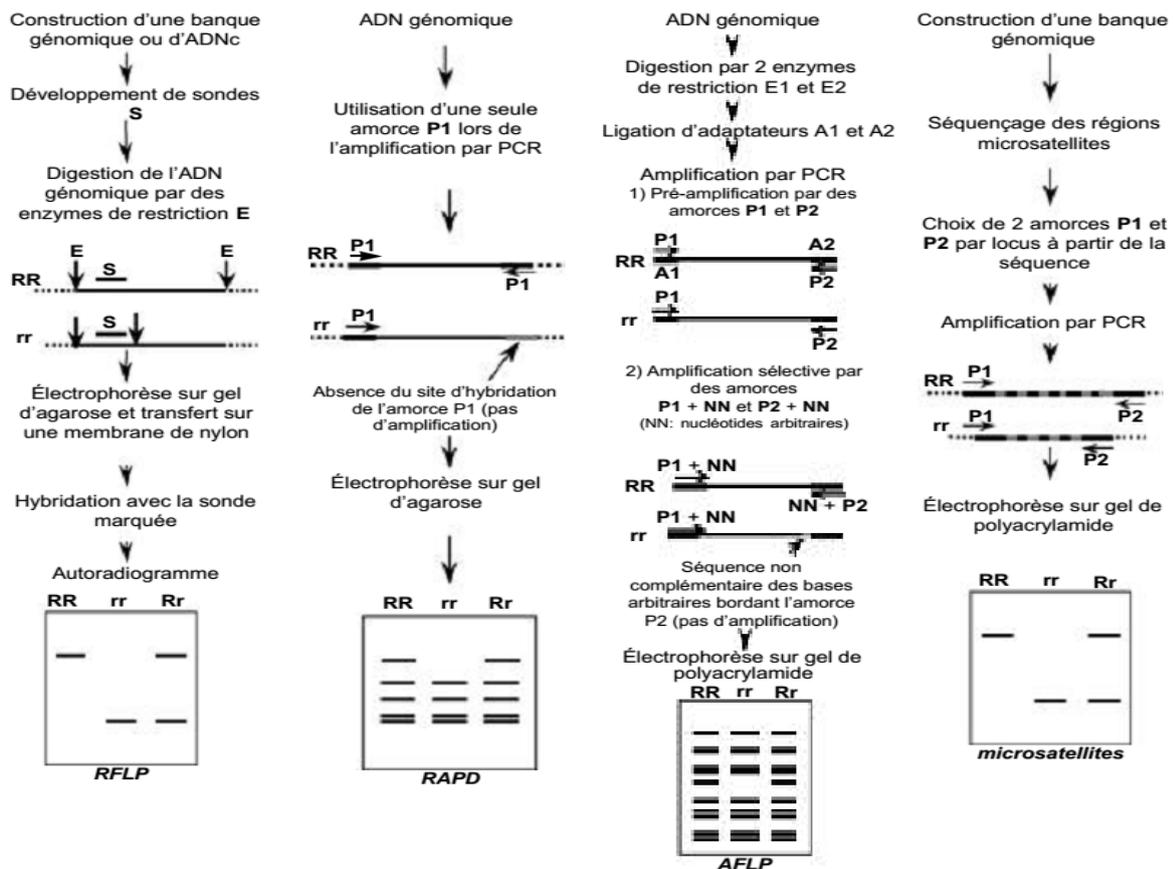
Des adaptateurs de séquence connue de 10 à 15 bases, adaptés aux extrémités cohésives des sites de restriction, sont ajoutés aux extrémités des fragments d'ADN par une réaction de ligation. Une première amplification, dite présélective, amplifie les fragments d'ADN à l'aide d'amorces correspondant à la séquence des adaptateurs et du site de restriction additionné en 3' d'une base définie arbitrairement.

La comparaison des principales techniques de marquage moléculaire est illustrée dans (Tab 2. fig 3). Chaque technique de marquage moléculaire présente des avantages et des inconvénients mais toutes, excepté les SSR, restent mal adaptées aux utilisations à grande échelle. Ainsi, la conversion des marqueurs de type RFLP, AFLP et RAPD en marqueurs PCR de type SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) (Paran, Michelmore, 1993) ou STS (Sequence Tagged Site) (Olson *et al.*, 1989) devient nécessaire. En effet, cette nouvelle classe de marqueurs (SCAR/STS) correspond à des marqueurs simples, rapides, reproductibles, co-dominants, non radioactifs et peu coûteux qui pourraient favoriser l'utilisation et l'intégration des marqueurs moléculaires dans les programmes d'amélioration des plantes dans un avenir proche (Hernandez *et al.*, 1999).

Plusieurs études basées sur l'étude de la diversité génétique, y compris le blé diploïde, tétraploïde et hexaploïde ont été décrites par plusieurs auteurs pour élucider la divergence phylogénétique basée sur le statut de ploïdie (Castagna *et al.*, 1997, Nagaoka et Ogihara, 1997, Pujar *et al.*, 1999, Pujar *et al.*, 2002, Barcaccia *et al.*, 2002, Teshale *et al.*, 2003, Mantzavinou *et al.*, 2005, Thomas *et al.*, 2006, Aliyev *et al.*, 2007, Grewal *et al.*, 2007; Anand *et al.*, 2008; Cenkci *et al.*, 2008; Sawalha *et al.*, 2008; Tahir, 2008; Carvalho *et al.*, 2009; Saleh 2012).

**Tableau 2.** Comparaison des six marqueurs moléculaires les plus utilisés chez l'orge et le blé (Mebarek,2010)

	RFLP	SSR	RAPD	AFLP	SNP	DArT
-Quantité d'ADN (µg)	10	0,05	0,02	0,5-1,0	0,05	0,05
-Qualité d'ADN	Haute	Moyenne	Haute	Moyenne	Haute	Moyenne
-PCR	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
-Nombre de locus polymorphes analysés	1-3	1-3	1,5-50	20-200	1	>100
-Codominance	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Non
-Facilité d'usage	Difficile	Facile	Facile	Facile	Facile	Facile
-Automatisation	Faible	Grande	Moyenne	Moyenne	Grande	Grande
-Reproductibilité	Grande	Élevée	Faible	Élevée	Élevée	Élevée
-Coût de développement	Faible	Élevé	Faible	Moyen	Élevé	Élevé
-Coût par analyse	Élevé	Faible	Faible	Moyen	Faible	Faible



**Figure 3.** Comparaison des principales techniques de marquage moléculaire (Najimi *et al.*.,2003).

### 1.5.2 Utilisations des marqueurs

Les relations de proximité entre espèces ou populations sont abordées de deux façons différentes : La phénétique est fondée sur les distances génétiques entre les unités taxonomiques et aboutit à la construction de dendrogrammes.

La cladistique est fondée sur l'identification des mutations successives et repose sur le principe de parcimonie qui minimise le nombre d'événements pour décrire un arbre phylogénétique.

Les marqueurs utilisés doivent être neutres pour retracer correctement l'évolution des taxons. Plus les taxons sont proches génétiquement, plus les marqueurs utilisés doivent avoir un taux de mutation élevé pour révéler suffisamment de polymorphisme exploitable. Les relations entre les taxons sont fondées sur leur divergence qui est croissante au cours du temps.

Dans le cas de la phénétique, tout marqueur adapté à la construction d'une matrice de distances entre les unités taxonomiques analysées est utilisable pour la construction des dendrogrammes.

Les marqueurs dominants et anonymes comme les RAPD sont inadaptés à la construction d'arbres phylogénétiques fondés sur le principe de parcimonie, sauf situations très particulières (Backeljau *et al.*, 1995).

### 1.6 Évolution de la diversité moléculaire de blé

Il s'agit d'espèces pour lesquelles la sélection développe aujourd'hui des variétés de lignées pures. Le blé est sans doute l'espèce qui a été la plus et la mieux étudiée dans différents pays, surtout en Europe.

En passant des populations de France aux variétés lignées, une diminution de diversité est en général observée, Roussel *et al.*, (2004) montrent en se basant sur l'étude de 559 populations ou variétés françaises utilisées entre 1850 et 2000, une perte de 25 % de richesse allélique. Les populations contiennent de nombreux allèles spécifiques (à faible fréquence).

L'importance de cette perte serait due à l'élimination de gènes défavorables. Van de Wouw en 2010, par une méta-analyse regroupant une trentaine d'études, essentiellement européennes, pour des périodes allant de 1900 et 2000, montre que la diversité génétique passe par un minimum dans les années 1960-1970. Pour Reif *et al.*, (2005), ce minimum est plutôt vers 1985.

Goffaux *et al.*, (2011) avec 1104 variétés étudiées, observent aussi ce minimum dans la période 1960-1975, une perte progressive ce qui serait dû à un passage en transition des populations aux lignées, avec une structure intermédiaire, des lignées anciennes, génétiquement hétérogènes, suite au non renouvellement des semences par l'agriculteur. Le renouvellement des semences est devenu plus fréquent à partir des années 1965.

Le minimum de diversité observé correspond au début de l'intensification de l'agriculture, et serait dû à la fois à l'adoption des variétés homogènes et à la faible diversité entre variétés proposées à cette

époque, suite à l'introduction des gènes de nanisme (révolution verte) et au nombre limité de géniteurs résistants aux maladies ; il y avait alors peu de variétés performantes (Gallais, 2013).

D'autres études ne mettent pas en évidence de diminution de diversité dans les variétés commercialisées. Ainsi Donini *et al.*, (2000, 2005) en Grande-Bretagne n'observent pas de diminution de la diversité entre 1934 et 1995: la diversité intra-période reste assez comparable.

Manifesto *et al.*, (2001) arrivent aux mêmes conclusions en Argentine entre 1932 et 1995. Selon Goffaux *et al.*, (2011) sur 20 études pertinentes, 10 concluent à une stabilité et 10 concluent à une tendance à la diminution, mais aucune situation ne montre une diminution très significative sur les 50-60 dernières années, c'est-à-dire depuis le début de la sélection intensive.

Chez le blé dur Maccaferri *et al.*, (2003) sur un matériel de 1915 à 1995 d'Italie, d'Espagne, de France, de Tunisie et USA, ne montrent pas de diminution de la diversité génétique, avec même une augmentation dans les deux dernières décennies. Dans le matériel moderne, la présence de nombreux allèles rares atteste des introgressions ayant fait intervenir du matériel d'origine assez variée. De même Fu *et al.*, (2006) avec du matériel entre 1845 et 2004 au Canada, concluent à une tendance à la diminution de la diversité génétique, avec un passage d'un indice de diversité de 0,65 en 1910-1929 à 0,498 en 1990-2004 (dû à l'histoire de la sélection à partir de quelques génotypes de qualité ou de résistance). Cependant, 87 % des loci ne montrent pas de changement significatif de fréquence.

Depuis les premières applications des RFLP au règne végétal au début des années 1980, les marqueurs moléculaires sont de plus en plus utilisés pour étudier la diversité génétique des variétés cultivées par les agriculteurs. Les quelques exemples ci-dessous permettent de se rendre compte des résultats obtenus dans différentes situations.

Les variétés de la liste recommandée du Royaume Uni, orge de printemps depuis 1920, blé d'hiver depuis 1930 et colza depuis 1973 ont été analysées par AFLP ou RFLP ainsi que phénotypiquement. Les données de l'étude démontrent que l'amélioration moderne des plantes, le droit d'obtenteur et la liste recommandée n'ont conduit à aucun rétrécissement significatif du niveau général de diversité des cultures au Royaume Uni au cours des 60 à 70 dernières années.

Les résultats montrent qu'au cours des années 1970 il y a eu une gamme étroite de diversité à la disposition des agriculteurs, ce qui peut être expliqué par des changements dans les techniques culturales et les idéotypes variétaux comme les blés à paille courtes et le colza sans acide érucique. Cependant après un tel rétrécissement de la diversité on assiste à une nouvelle augmentation rapide par la mise à disposition de nouvelles variétés (Le buanec, 2010).

De nombreuses études sur des blés européens, américains et australiens ont été effectuées au cours des dernières années (Malysheva-Otto, 2007), Toutes ces études indiquent qu'il n'y a pas eu de perte significative de diversité au cours des périodes étudiées.

Au nord de l'Europe, 75 variétés de blé de printemps ayant fait l'objet d'un programme intense d'amélioration ont été analysées à l'aide de microsattellites, les résultats suggèrent que la diversité

génétique des blés de printemps nordiques a été augmentée par l'amélioration des plantes entre 1900 et 1940, puis une diminution entre 1940 et 1960 et de nouveau une augmentation à partir de 1960, toujours par le biais de l'amélioration des plantes.

On note cependant au cours des périodes une perte de certains allèles, compensée par l'introduction de nouveaux. Il faut cependant noter qu'une étude sur les blés de printemps canadiens montre en utilisant des microsattellites, une perte de diversité entre 1845 et 2004, perte attribuée à l'amélioration des plantes. De nombreux auteurs suggèrent que cette perte de diversité est due à une très forte pression de sélection, en particulier pour les aspects qualitatifs à la demande du marché, dans un matériel génétique étroit (Le Buanec, 2010).

*Chapitre II*  
*Matériel et Méthodes*

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué d'une accession de blé dur cultivé en Algérie, contenant 215 géotypes appartenant aux variétés *reichenbachi* et *leucomelan* (Boudour, 2006). Cette collection provient de différentes régions d'Algérie et est conservée à l'ITGC, El khroub-Constantine. Les caractéristiques sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3** : Caractéristiques des variétés et nombre des géotypes par variété (Boudour, 2004 - 2006).

Variétés	Nombre de géotypes	Caractéristiques				
		Epi	Grain	Compacité	Paille	Précocité
<i>leucomelan</i>	139	Blanc, glabre ou lisse, de forme pyramidale, triangulaire aplatie, parfois carré ou rectangulaire avec un noircissant sur le dos.	Ambré clair, gros, allongé et bossu.	compacte	creuse ou demi-creuse à $\frac{3}{4}$ creuse.	Demi précoce
<i>reichenbachi</i>	76	Blanc, glabre, fusiforme.	Ambré foncé (rouge), de taille moyenne et bossu.	compacte	creuse ou demi-creuse à $\frac{3}{4}$ creuse.	précoce

### 2.2 Site d'expérimentation

#### 2.2.1 Localisation

L'expérimentation a été réalisée à la station de recherche agronomique expérimentale de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) d'El-khroub, situé à 14Km au Sud - Est de Constantine, à une altitude de 640m. La station se trouve dans une région semi-aride, caractérisée par un climat méditerranéen (Fig.4).



**Figure 4:** Image satellitaire de la parcelle de l'essai à EL-Baraouia EL-Khroub Constantine.  
(36,2765°Nord ; 6,6870°Est).

### 2.2.2 Pluviométrie et température

La pluviométrie de la campagne 2008/2009 totalise un taux de 519.5mm entre septembre et mai, nettement supérieure à celle de la campagne précédente (2007/2008) où nous avons enregistré un cumul de septembre à fin juin de 394.5 mm, d'où un écart positif de plus de 125mm (Tab.4). Ces données sont fournies par l'ITGC en 2009 (station météorologie de Ain El Bey- Constantine).

Les températures moyennes mensuelles (Tab.4) ont été un peu fraîches (allant de 6,77 à 10,03 °C) durant l'hiver de cette année sans avoir d'effets néfastes sur les plantes, elles étaient au contraire bénéfiques en quelque sorte puisque les maladies ne se sont pas bien développées.

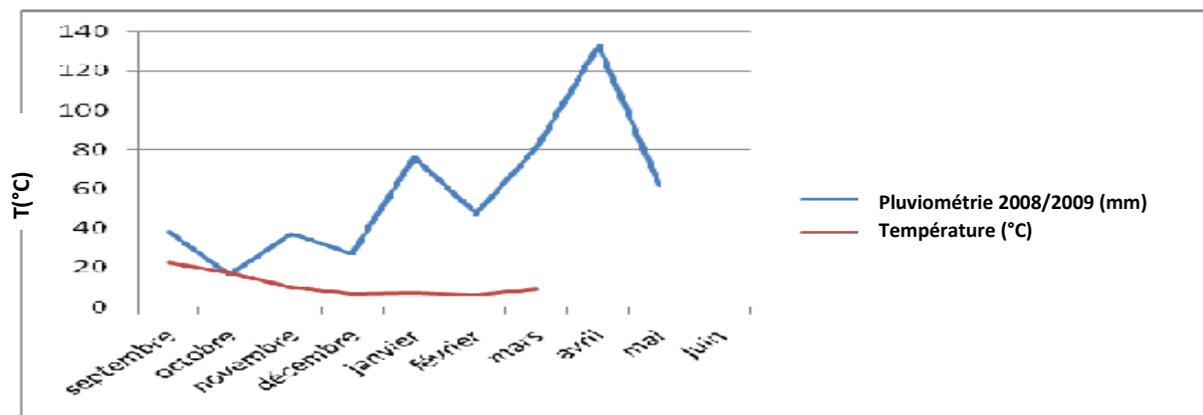
**Tableau 4 :** Pluviométrie et température mesurées à EL KHroub en 2008/2009 (ITGC)

Mois	Pluvio 2008/09 (mm)	T moyennes (°C)	T Maxi (°C)	T Mini(°C)	Nombre de jours des gelées
Septembre	38.3	22.53	30.3	16.99	
Octobre	16.60	17.54	23.71	11.38	
Novembre	37.6	10.03	15.64	5.08	01
Décembre	27	6.77	12.01	2.54	07
Janvier	76.24	7.29	12.45	2.98	08
Février	47.6	6.44	11.87	2.17	06
Mars	81.1	9.4	17.8	4	10
Avril	133				
Mai	62				
juin					
<b>Total</b>	<b>539.47</b>				<b>32</b>

Le début de campagne soit de septembre à fin décembre a été relativement sec, ce qui a permis aux agriculteurs de bien finir leur lit de semence et de faire une bonne installation des cultures. Il est à signaler que la plante n'a pas manqué d'eau depuis son apparition (levée) et ce jusqu'à la récolte. Il y avait suffisamment de pluie chaque mois et surtout de mars à fin mai où on a relevé un total de 276,1mm, durant donc le cycle végétatif et de la reproduction permettant une bonne croissance et un bon développement végétal.

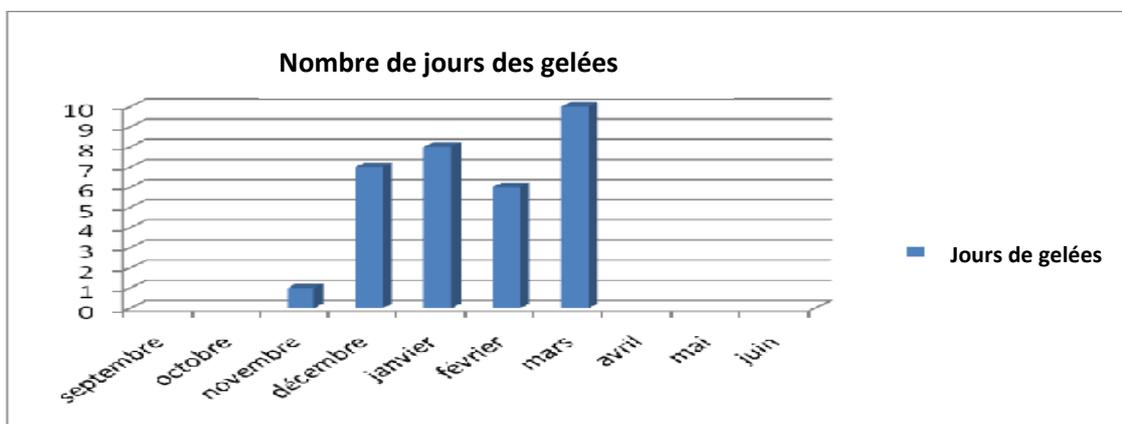
Notons que la pluviométrie du mois d'Avril a été prépondérante pour une bonne année, en effet, on a comptabilisé 133mm pour ce mois, une moyenne supérieure à toutes les moyennes des années précédentes.

La figure 5 montre la variabilité mensuelle moyenne de la pluviométrie et des températures durant la campagne 2008/2009.



**Figure 5 :** Diagramme ombrothermique de la campagne agricole 2008/2009.

Les jours de gelées cumulés sont de 32 jours ce qui s'avère de loin inférieurs à la moyenne annuelle et n'ont par conséquent, eu aucun effet sur le développement des plantes (Fig.6).



**Figure 6:** Nombre de jours de gelées/mois (ITGC,2009).

### 2.2.3 Caractéristiques physico-chimiques du sol

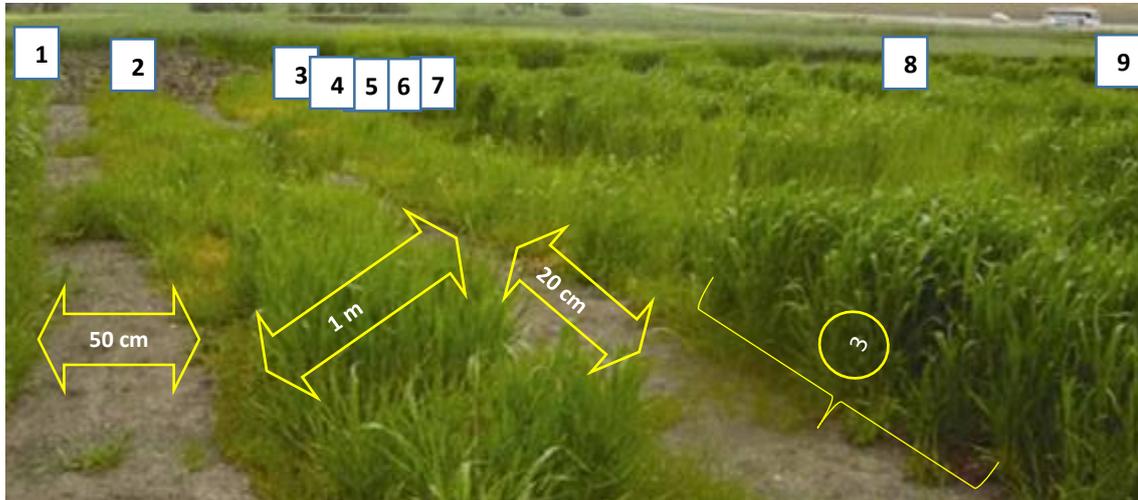
L'analyse des sols est réalisée régulièrement par le laboratoire de l'ITGC, les résultats de l'année 2008 sont groupés dans le tableau ci-dessous (Tab.5).

**Tableau 5 :** Caractéristiques physico-chimiques du sol (ITGC,2009).

Profondeur (cm)	0-30	30-60	60-90
Argile (%)	55	44	60
Limon fin (%)	29	3	6
Limon Grossier (%)	3	3	4
Sable fin (%)	11	11	18
Sable Grossier (%)	3	3	13
Matière organique (%)	1,49	1,45	1,37
pH	7,6	7,6	7,9
Conductivité électrique (mS/cm)	0,5	1,7	0,6
Densité réelle (g/cm <sup>3</sup> )	2,2	2,2	2,2

### 2.3 Mise en place de l'essai

Le semis est réalisé le 28/12/2008 sur une parcelle élémentaire de 9 rangs de 1m de long avec un espace inter-rang de 50cm et inter ligne de 20cm (Fig.7). Les graines sont semées manuellement à une profondeur de 3 à 5cm où chaque variété est séparée de l'autre par 2 lignes de seigle et chaque génotype contient 3 lignes (répétitions).



**Figure7** : Dispositif de l'expérimentation.

Le désherbage chimique fut réalisé dès le stade plein tallage en mars 2009 par un herbicide combinant un anti-dicotylédones et un anti-graminées (Topik+Zoom) à raison de 0.91gr/ha+120gr/ha, une semaine après, un engraissement d'entretien est réalisé par 120kg/ha d'urée à 46%.

### 2.4 Paramètres mesurés

Les mesures et les observations sont effectuées sur différents caractères durant le cycle de développement de la plante au cours de l'année 2008/2009 qui sont :

#### 2.4.1 Paramètre phénologique : durée d'épiaison

La durée des phases du cycle végétatif de la plante est comptée à partir du semis. La durée d'épiaison est notée lorsque 50% d'éléments étudiés (talle, épi...) de la parcelle élémentaire sont formés.

#### 2.4.2 Paramètres morphologiques

- la hauteur de la plante (HP cm) mesurée du sol jusqu'au sommet de l'épi (barbe non incluse).
- la longueur et la largeur de la feuille étendard (LonF, LarF en cm).
- la longueur de l'épi (LE cm) à la maturité, mesurée de la base de l'épi jusqu'au sommet (barbe non incluse).
- la longueur de la barbe (LB cm) mesurée à maturité à partir du tiers moyen de l'épi.
- la longueur du col (LC cm) mesurée à la maturité à partir du dernier nœud.

La surface est estimée par la formule :  $SFE (cm^2) = 0.607 (L \times l)$ , où SFE= surface moyenne de la feuille étendard ( $cm^2$ ), L = longueur moyenne de la feuille étendard (cm), l = largeur moyenne de la feuille étendard (cm), 0,607 = coefficient de régression de la surface estimée à partir du papier grammage sur celle déduite par le produit (L x l) (Spagnoletti-Zeuli et Qualset, 1990).

### 2.4.3 Paramètres physiologiques

- La chlorophylle totale (CHT %) (Spad chlorophylle)

Le dosage de la chlorophylle est effectué à partir de la feuille étendard à raison de 3 répétitions pour chaque génotype.

- La teneur relative en eau (TRE %)

La teneur relative en eau des feuilles (TRE) est l'un des principaux paramètres qui indique le niveau hydrique de la plante ou encore la turgescence cellulaire. La TRE est mesurée selon la méthode décrite par **Barrs, (1968)**.

La formule est :  $TRE \text{ en } \% = \frac{PF - PS}{PT - PS} \times 100$  (**Ladigues, 1975**).

**PF** : poids frais en mg. **PT** : poids de turgescence en mg. **PS** : poids sec en mg.

Pour chacune des 11 variables, 3 répétitions sont effectuées par génotype.

La récolte est faite manuellement le 21/06/2009.

### 2.4.4 Composantes du rendement

- le nombre d'épi par plante (NE/P).
- le nombre d'épillets par épi (NE/E).
- le nombre des grains par épi (NG/E) est déterminé par comptage du nombre de grains.
- le poids des grains par épi (PG).

### 2.5 Etude moléculaire

Cette étude a porté sur les génotypes les plus performants appartenant à deux variétés de blé dur (*reichenbachi* et *leucomelan*). Le travail a été réalisé au niveau de deux laboratoires où les techniques employées sont différentes :

- Le premier est le laboratoire de biotechnologie d'Alexandria en Egypte. Cinquante génotypes de blé dur sont analysés en utilisant les méthodes RAPD et ISSR, chaque variété est représentée par vingt-cinq génotypes.
- Le deuxième est le laboratoire de protection et d'amélioration des plantes au centre de biotechnologie de Sfax en Tunisie où vingt génotypes dont dix appartenant à *reichenbachi* et dix à la variété *leucomelan*, sont analysés à l'aide des marqueurs PCR/RAPD pour évaluer la variation génétique.

### 2.5.1 Méthode PCR /RAPD (en Tunisie)

#### 2.5.1.1 Extraction d'ADN

Cette extraction est faite suivant la méthode de Dellaporta *et al.*, (1983) à partir de feuilles de chaque variété et broyées en présence de l'azote liquide. Les broyats sont mis dans des tubes Eppendorf de 2ml, additionnés de 1ml de tampon d'extraction Tris-HCl, (100 mM Tris-HCl (pH8), 500 mM NaCl, 50 mM EDTA, 1,25% SDS). Le mélange obtenu est mis au bain marie à 65°C pendant 1h.

On centrifuge à 12000 tr/ min à 4°C pendant 15min, puis on additionne 1ml de chloroforme A /A (24/1), on laisse en agitation dans la roue pendant 15mn. Après centrifugation à 3000 tr/ min à 4°C pendant 15 min, le surnageant est transféré dans un nouveau tube eppendorf de 1,5 ml dans lequel on additionne 1ml d'éthanol absolu froid et on mélange puis on met au congélateur à -20°C pendant 20 à 30 mn pour la précipitation. Après on récupère l'ADN dans des nouveaux tubes avec cône jaune stérile, le surnageant est éliminé et le culot est lavé deux fois avec 500 µl d'éthanol à 70%. On centrifuge à 5000 tr/min à 4°C pendant 5 min, le surnageant est éliminé et le culot est séché pendant 30 min, puis on additionne 100 µl eau distillé et on laisse les tubes dans la chambre froide une nuit en agitation.

#### 2.5.1.2 Analyse PCR/ RAPD

L'analyse RAPD est effectuée à l'aide de deux amorces aléatoires (DuPw004 F, DuPw004 R et DuPw023 F, DuPw023 R) basée sur le marquage à l'extrémité 5'ou 3', comme indiqué dans le **tableau 6**.

**Tableau 6** : Codes des amorces, leurs séquences et leurs pourcentages en GC.

Nom d'amorce	Séquence	CG %
- DuPw004 F	- 5'-GGTCTGGTCGGAGAAGAAGC-3'	60%
- DuPw004 R	- 5'-TGGGAGCGTACGTTGTATCC-3'	55%
- DuPw023 F	- 5'-TTGCTCCGATGTAATAAGCG-3'	45%
- DuPw023 R	- 5'-GGCTAAGAACAGACTCATTCAACTG-3'	44%

La PCR est réalisée dans un volume final de 50 µl contenant : 1µl d' ADN, 5µl de Tampon 10x, 2 µl Dntp, 2 µl Amorce1 (10µM), 2µl Amorce 2 (10µM), 1 µl d'Enz(Taq) et 37 µl d eau.

L'amplification de l'ADN à l'aide de la technique PCR/RAPD est réalisée selon la méthode de Williams *et al.*, (1990) avec des modifications. Cette amplification comprend une phase de dénaturation initiale d'ADN de 2 min à 94°C, une phase de 40 cycles avec 1 min à 94°C pour la dénaturation de l'ADN, 1 min à 55°C pour l'hybridation des amorces, 1 min à 72°C pour l'élongation et une phase d'élongation finale de 10 min à 72°C (Tab.7).

**Tableau 7 :** Préparation des échantillons (volume finale de 50 µl)

- ADN	- 1µl
- Tampon 10×	- 5µl
- Dntp	- 2µl
- Amorce1 (10µM)	- 2µl
- Amorce 2(10µM)	- 2µl
- Enz(Taq)	- 1µl
- Eau	- 37µl

### 2.5.2 Méthode PCR /RAPD et PCR /ISSR (en Egypte)

Les équipements et les produits chimiques utilisés sont regroupés dans les tableaux 8,9 et 10. .

**Tableau 8:** Equipements utilisés pour l'analyse de marqueur d'ADN

S. No.	Equipements	Source
1	Système d'électrophorèse sur gel d'Agarose	Thermo Scientific / OWLa2
2	Autoclave	Hiclave HV 85
3	Congélateur (-20 ° C)	Arçelik et Beko
4	Congélateur (-80 ° C)	-80 °C Thermo Forma ULT Freezer
5	Double unité de distillation	Corporation humaine: Système de purification d'eau
6	Balance électronique	Sartorius LE 623 S
7	Système de documentation de gel	Thermoscientific
8	Four à air chaud	GALLENKAMP
9	Glace écaillage machine	Scotsman AF 100
10	Agitateur magnétique	Nuve MK 318
11	Micropipette	Eppendorf
12	Four micro-onde	Arçelik
13	Machine PCR	Eppendorf/Mastercycler gradient
14	pH mètre	Thermoelectron corporation
15	Centrifugeuse réfrigérée haute vitesse	Eppendorf /Minispin plus
16	Transilluminateur	Vilber Lourmat
17	Spectrophotomètre	NanoDrop ND1000
18	Torche UV	Vilber Lourmat
19	Bain marie	Nüve BM 402
20	Bloc chaud	LAB-LINE multi block heater

**Tableau 9:** Liste des produits chimiques utilisés dans l'isolement de l'ADN et l'analyse PCR (RAPD /ISSR)

S.No.	Produits chimiques	Source
1	Agarose	Prona
2	Acide borique	Merck
3	Chloroforme	Merck
4	CTAB	Applichem
5	dNTP	Thermo scientific
6	EDTA	Applichem
7	Ethanol	Applichem
8	Bromure d'éthidium	Sigma Aldrich
9	Echelle Generuler ADN de 100 pb plus	Thermo scientific
10	Acide acétique glacial 100%	Atabay
11	Acide hydrochlorique	Tekkim
12	Alcool isoamylique	Applichem
13	Isopropanol	Merck
14	Chargement colorant (6X)	Thermo scientific
15	Chlorure de magnesium	Thermo scientific
16	Agarose	Prona and Sigma
17	Phénol: chloroforme: isoamyle	Amresco
18	ARNase A	Fermentas
19	Acétate de sodium	Merck
20	Chlorure de sodium	Merck
21	Hydroxyde de sodium	Merck
22	Tampon Taq contenant du sulfate d'ammonium	Thermo scientific
23	Tampon Taq contenant du sulfate d'ammonium et chlorure de potassium	Thermo scientific
24	Tampon Taq contenant du chlorure de potassium	Thermo scientific
25	Taq ADN Polymerase	Thermo scientific
26	Tris (hydroxyméthyl aminométhane)	Amresco
27	Eau	Pfizer
28	$\beta$ -mercaptoethanol	Merck

### 2.5.2.1 Isolement de l'ADN

Les échantillons de semences sont semés dans des boîtes de pétri, puis transférés dans un système hydroponique pour obtenir les tissus frais des feuilles pour l'extraction de l'ADN. L'isolement de l'ADN a été effectué suivant la méthode CTAB de Doyle et Doyle, (1990) avec des modifications.

Environ 0,1 à 0,2 g de tissus de feuilles fraîches sont écrasés dans un mortier en présence de l'azote liquide pour obtenir une poudre fine, recueillie dans un tube eppendorf dans lequel est ajouté 750 µl CTAB et 7,5 µl de β-mercaptoéthanol. Ensuite, 10 µl de RNase A est ajoutée au mélange qui est maintenu sur une plaque chauffante à 65°C pour une incubation de 30 minutes.

Après incubation, 750 µl de : phénol, chloroforme et réactif de l'alcool isoamylique (25: 24: 1) est ajouté au mélange contenant l'échantillon de tissu puis centrifugé à 7000 tpm pendant 5 minutes à 4°C, le surnageant est ensuite recueilli dans un nouveau eppendorf. Dans le culot du mélange, on inclut 300 µl CTAB β-mercaptoéthanol et on centrifuge de nouveau à 15 000 tours par minute pendant 5 minutes à 25°C.

Le surnageant obtenu est mélangé avec le premier. En ajoutant et en secouant doucement, 0,6 volume d'isopropanol refroidi au surnageant total recueilli, on observe des brins d'ADN. Là encore, le mélange est centrifugé à 15000 tours / minute pendant 5 minutes à 25°C de telle sorte que le culot est recueilli au fond et la partie restante de l'isopropanol est éliminée. L'ADN lavé à l'aide de 1000 µl d'éthanol à 70% est centrifugé à 15 000 tpm à 25°C pendant 5 minutes. On ajoute 100µl d'une eau libre DNase RNase à l'ADN séché pour le dissoudre et plus tard le stocker dans le congélateur à -20°C.

### 2.5.2.2 Quantification de l'ADN

La quantité et la clarté de l'ADN extrait est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre Nanodrop en mesurant l'absorbance à 260, 280 et 230 nm. La pureté est vérifiée à 260/280 et 260/230 nm et des solutions d'ADN purs sont diluées pour compenser 50 ng/µl de concentration pour les réactions PCR.

### 2.5.2.3 Qualité d'ADN

Les 50 ng/µl d'ADN sont chargés sur 1% d'un gel d'agarose dans un tampon TBE 1X en présence de Bromure d'Ethidium (10ml).

### 2.5.2.4 Optimisation des volumes et des conditions RAPD et ISSR PCR

L'optimisation des réactions RAPD et ISSR sont exécutées en suivant les protocoles fixés de Williams *et al.*, (1990) et Zietkiewicz *et al.*, (1994). D'autres protocoles, y compris ceux de Bibi *et al.*, (2009), Baghizadeh et Khosravi,(2011) (pour RAPD) et Nagaoka et Ogihara, (1997) (pour ISSR) sont également préconisés pour optimiser les concentrations de divers composants chimiques de la PCR. Les températures d'hybridation et le nombre de cycles pour chacune des amorces individuelles ont été optimisés.

**2.5.2.5 Amplification d'ADN**

L'analyse RAPD est effectuée par l'utilisation de dix amorces aléatoires (Tab. 11). Pour chacune, un mélange réactionnel d'amplification de 15 µl est préparé contenant 1,5 µl de Taq tampon 10 x avec du sulfate d'ammonium, 2,5 µl de 25mM MgCl<sub>2</sub>, 3 µl de 1 mM de dNTP, 3 unités d'ADN Taq polymérase (ThermoScientific), 1,5 µl de 5 µM amorce RAPD et 50 ng d'ADN (Tab.10).

**Tableau 10 :** Quantités des différents constituants chimiques du mélange de réaction PCR

S. No.	Concentration et volume des constituants chimiques par réaction du mélange de réaction PCR			Constructeur (Marque)
	Constituant chimique et la concentration	Volume pour la réaction RAPD (µl)	Volume pour la réaction ISSR (µl)	
<b>1</b>	Matrice d'ADN (50 ng / ul)	1	2	-
<b>2</b>	TaqBuffer (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> or KCl (10X)	1.5	2.5	Thermoscientific
<b>3</b>	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2.5	3	Thermoscientific
<b>4</b>	dNTP / RAPD (1mM) dNTP / ISSR (25 mM)	3	0.4	Thermoscientific
<b>5</b>	Amorce pour RAPD (5µM) ;Amorce pour ISSR (10 µM)	1.5	0.5	MWG BIOTECH-AC/ METABION
<b>6</b>	Taq Polymerase (5U/µl)	0.6	0.3	Thermoscientific
<b>7</b>	Eau QS	4.9	16.3	Pfizer Ltd
	Volume total	15	25	-

Eppendorf Mastercycler est utilisé pour effectuer des réactions PCR avec dénaturation initiale à 94°C pendant 3 minutes, traînés par des cycles répétés de dénaturation à 94°C pendant 45 secondes, recuit d'amorces selon la température de fusion de l'amorce pendant 1 min et d'extension d'amorce à 72°C pendant 1 min. Au terme d'un nombre répété de cycles, une extension finale est réalisée à 72°C pendant 10 min (Tab 11.12).

**Tableau 11:** Séquences et Températures de fusion des amorces RAPD utilisées dans l'étude.

Amorce	Séquence	Température de fusion (T <sub>m</sub> )	CG%
cRAPD1	5'-GAA ACG GGT G-3'	32	60%
cRAPD2	5'-GTG ACG TAG G-3'	32	60%
RAPD B3	5'-GTG ACG TAG G-3'	34	60%
RAPD B4	5'-CTC ACC GTC C-3'	34	70%
RAPD B5	5'-GAC GGA TCA G-3'	32	60%
RAPD B10	5'-CTA CTG CGC T-3'	32	60%
RAPD B13	5'-TTC AGG GTG G-3'	32	60%
RAPD L2	5'-GTT TCG CTC C-3'	32	60%
RAPD L4	5'- AAG AGC CCG T-3'	32	60%
RAPD L6	5'-CCC GTC AGC A-3'	34	70%

**Tableau 12:** Conditions d'optimisation de PCR pour différentes amorces RAPD

Amorce	Conditions PCR					Nombre de cycles
	Dénaturation initiale	Dénaturation	Températures d'hybridation	Extension	Extension finale	
cRAPD1	94°C pendant 3min	94°C pendant 42sec	34°C pendant 1 min	72°C pendant 1 min	72°C pendant 10 min	35
cRAPD2			34°C pendant 1 min			35
RAPD B3			36°C pendant 1 min			35
RAPD B4			32°C pendant 1 min			35
RAPD B5			32°C pendant 1 min			40
RAPD B10			34°C pendant 1 min			35
RAPD B13			34°C pendant 1 min			35
RAPD L2			34°C pendant 1 min			35
RAPD L4			34°C pendant 1 min			35
RAPD L6			36°C pendant 1 min			35

**2.5.2.6 Amplification en utilisant des amorces ISSR**

Pour détecter le polymorphisme, nous avons utilisé dix amorces ISSR (Tab.13). Pour chaque réaction, 25 µl de mélange réactionnel a été préparé avec 2.5µl de 10X Taq tampon contenant du sulfate d'ammonium (à l'exception ISSR F3 où KCl a été utilisée), 3 µl de 25 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.4µl de 25 mM dNTP, 0.5µl de 10 µM d'amorce, 1,5 unités de Taq polymérase et 100 ng d'ADN matrice.

**Tableau 13:** Séquences et de fusion des températures des amorces ISSR utilisées dans l'étude

<b>Amorce</b>	<b>Séquence</b>	<b>Température de fusion</b>	<b>CG%</b>
ISSR F2	5'-AGA GAG AGA GAG AGA GCG-3'	56.0	55.55%
ISSR F4	5'-AGA GAG AGA GAG AGA GTG-3'	53.7	50%
ISSR F9	5'-GAA GAA GAA GAA GAA-3'	39.6	33.33%
ISSR M1	5'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC G - 3'	63.1	68.42%
ISSR M2	5'-ACC ACC ACC ACC ACC ACC G-3'	63.1	68.42%
ISSR M3	5'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC C-3'	63.1	68.42%
ISSR M8	5'-ACA CAC ACA CAC ACA CAC G-3'	56.7	52.63%
ISSR M9	5'-ACA CAC ACA CAC ACA CCG-3'	56.0	55.55%
ISSR M12	5'-GAC ACG ACA CGA CAC GAC AC- 3'	61.4	60%
ISSR M17	5'-CAG CAC ACA CAC ACA CAC A-3'	56.7	52.63%

Les quantités de PCR optimisées des différents constituants pour des amorces ISSR sont mentionnées dans le tableau 10. Les conditions des réactions physiques et le nombre de cycles initiaux et finaux de PCR sont optimisés pour chaque amorce ISSR individuellement tel que mentionné dans le Tableau 14.

**Tableau 14:** Conditions d'optimisation de PCR pour différentes amorces ISSR

Amorce	Conditions PCR			Extension finale
	Dénaturation initiale	Dénaturation, Recuit, Extension ; No. des cycles initiaux	Dénaturation, Recuit, Extension ; No. Cycles finaux	
ISSR F3	95°C 3 min	95°C 1 min, 56 °C 1 min, 72 °C 2 min; 15 cycles	95°C 1 min, 54 °C 1 min, 72 °C 2 min; 25 cycles	72°C 10 min
ISSR F4		95 °C 1 min, 54 °C 1 min, 72 °C 2 min; 8 cycles	95°C 1 min, 50°C 1 min, 72 °C 2 min; 32 cycles	
ISSR F9		95 °C 1 min, 39.6 °C 1 min, 72 °C 2 min; 8 cycles	95°C 1 min, 35.6°C 1 min, 72 °C 2 min; 32cycles	
ISSR M1		95 °C 1 min, 63.1 °C 1 min, 72 °C 2 min; 15 cycles	95°C 1 min, 61.1 °C 1 min, 72 °C 2 min; 25 cycles	
ISSR M2		95 °C 1 min, 63.1 °C 1 min, 72 °C 2 min; 15 cycles	95°C 1 min, 61.1°C 1 min, 72 °C 2 min; 25 cycles	
ISSR M3		95 °C 1 min, 63.0 °C 1 min, 72 °C 2 min; 15 cycles	95°C 1 min, 60.1 °C 1 min, 72 °C 2 min; 25 cycles	
ISSR M8		95 °C 1 min, 56.7 °C 1 min, 72 °C 2 min; 15 cycles	95°C 1 min, 52.7°C 1 min, 72 °C 2 min; 25 cycles	
ISSR M9		95 °C 1 min, 56 °C 1 min, 72 °C 2 min; 10 cycles	95°C 1 min, 52 °C 1 min, 72 °C 2 min; 35 cycles	
ISSR M12		95 °C 1 min, 61.4 °C 1 min, 72 °C 2 min; 10 cycles	95°C 1 min, 59.4 °C 1 min, 72 °C 2 min; 35 cycles	
ISSR M17		95 °C 1 min, 56.7 °C 1 min, 72 °C 2 min; 10 cycles	95°C 1 min, 54.7 °C 1 min, 72 °C 2 min; 35 cycles	

### 2.5.2.7 Identification des bandes amplifiées reproductibles

Toutes les réactions RAPD et ISSR sont répétées trois fois pour confirmer le nombre total des bandes reproductibles. Seules les bandes fiables dans toutes les amplifications répétées ont été marquées pour l'analyse finale.

### 2.5.2.8 Electrophorèse sur gel

Après les réactions de PCR, 3 µl et 5 µl 6X de colorant de charge a été ajouté à 15 µl RAPD et 25 µl ISSR respectivement puis soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose 1,5% avec 10 µg / ml de bromure d'éthidium à 80 V pendant 5-6 heures.

## 2.6 Analyses statistiques des résultats

### 2.6.1 Résultats phéno- morpho-physiologiques

A partir des résultats obtenus, nous avons tenté d'établir d'éventuels liens entre les différents paramètres grâce aux analyses statistiques multi variées :

#### - Analyse de la Variance (ANOVA)

L'étude phénologique et morpho-physiologique est réalisée grâce à une analyse de la variance (ANOVA à un facteur) à l'aide du logiciel XLSTAT version10.

#### - Analyse en composantes principales (ACP)

Cette technique descriptive permet de faire la synthèse de l'information contenue dans un grand nombre de variables. Son but est la réduction des dimensions de l'espace de représentation des données en projetant un nuage de points dans un ou plusieurs graphiques (plans), en essayant de limiter la perte d'informations au cours de cette réduction. Les composantes principales seront de nouvelles variables, indépendantes, combinaisons linéaires des variables initiales, possédant une variance maximale. Cette technique ne s'applique qu'à des variables quantitatives.

Selon Palm (2000), la qualité de la représentation d'un point dans le plan peut être obtenue en additionnant les cosinus carrés relatifs aux deux axes qui donne un pourcentage de la représentation du point sur le sous-espace défini par ces axes.

### 2.6.2 Analyse des données moléculaires

- La première étude moléculaire en Egypte dont les données ont été entrées dans une matrice binaire comme variables discrètes, 1 pour la présence et 0 pour absence de bande.

Les amorces les plus informatives ont été sélectionnées en fonction de l'étendue du polymorphisme. La valeur du contenu de l'information polymorphique (PIC) d'un marqueur a été calculée selon la méthode d'Anderson *et al.*, (1993).

La technique d'Anderson s'intéresse à calculer la moyenne de nombres des allèles, les valeurs de PIC et les similitudes génétiques, en se basant sur la différence entre les 50 géotypes de blé.

La comparaison par paires entre les géotypes est basée sur les proportions d'amplification des bandes (allèles) qui ont été utilisées par la mesure de la similarité génétique par des coefficients de Dice en utilisant le programme PAST (Hammer *et al.*, 2001).

La similarité génétique entre les géotypes a été calculée selon Nei et Li, (1979).

Les dendrogrammes ont été construits par l'utilisation de la méthode des groupes pairs pour obtenir des relations génétiques entre les géotypes étudiés.

- La deuxième étude moléculaire en Tunisie est analysée directement par les matrices de similarité et les dendrogrammes avec le logiciel SPSS version 9.

*Chapitre III*  
*Résultats et Discussion*

### 3. Résultats et Discussion

Au terme de notre étude, il résulte de différents résultats obtenus à travers les deux parties étudiées : la partie phéno- morpho-physiologique, et la partie moléculaire d'une collection de 215 géotypes de blé dur. Ainsi les résultats de la première étude faisant l'objet d'un article (Belattar *et al.*, 2012) présentent une variabilité intéressante entre les géotypes appartenant aux variétés *reichenbachi* et *leucomelan*.

Les résultats de la deuxième étude, concernent l'approche moléculaire et l'association génétique entre variations phénotypique et géotypique. Ces résultats complètent les données antérieures obtenues par les analyses phéno- morpho-physiologique et rendement.

La classification des deux marqueurs RAPD et ISSR des géotypes étudiés a révélé des résultats qui ont permis de distinguer la variation génétique entre des géotypes des 2 variétés testées. Les résultats ont fait l'objet de deux articles (Belattar *et al.*, 2016 ;Belattar *et al.*,2017).

#### 3.1. Paramètre phénologique : la date d'épiaison (DE)

La précocité dans la culture du blé est une qualité d'ailleurs relative, une variété est hâtive ou tardive surtout par rapport à une autre. Elle est ordinairement représentée par la durée totale de végétation, c'est-à-dire par le nombre de jours qui séparent le semis de la maturité. Ce dernier état est assez difficile à déterminer avec précision, même dans le cas où tous les individus ont le même cycle végétatif. Il se manifeste par certains caractères organoleptiques, par une sorte de virage de la coloration des organes de la plante, dont il n'est pas toujours facile de déceler l'instant précis et qui peut être, du reste, affecté par certains accidents (vents secs et chauds, élévation brusque de température, etc.).

Cette phase s'étale sur une période allant de 135 à 137 jours chez la variété *leucomelan* : pour les géotypes de G1 à G18, de G45 à G56, de G83 à G 89, de G103 à G107 et de G116 à G128. Ces géotypes enregistrent la plus courte durée de 135 jours, suivis par les géotypes de G108 à G115 et de G129 à G139 qui présentent une durée de 136 jours. Les géotypes restants, soient de G19 à G38, de G57 à G70 et de G90 à G102 montrent une durée égale à 137 jours (Fig .8A).

Chez la variété *reichenbachi*, la durée est plus longue de 140 à 142 jours. Les géotypes de G1 à G14 et de G44 à G57 ont une durée de 140 jours, suivis par les géotypes de G15 à G43 dont la durée est de 141 jours. Alors que pour les géotypes de G67 à G76, la durée est de 142 jours (Fig. 8B).

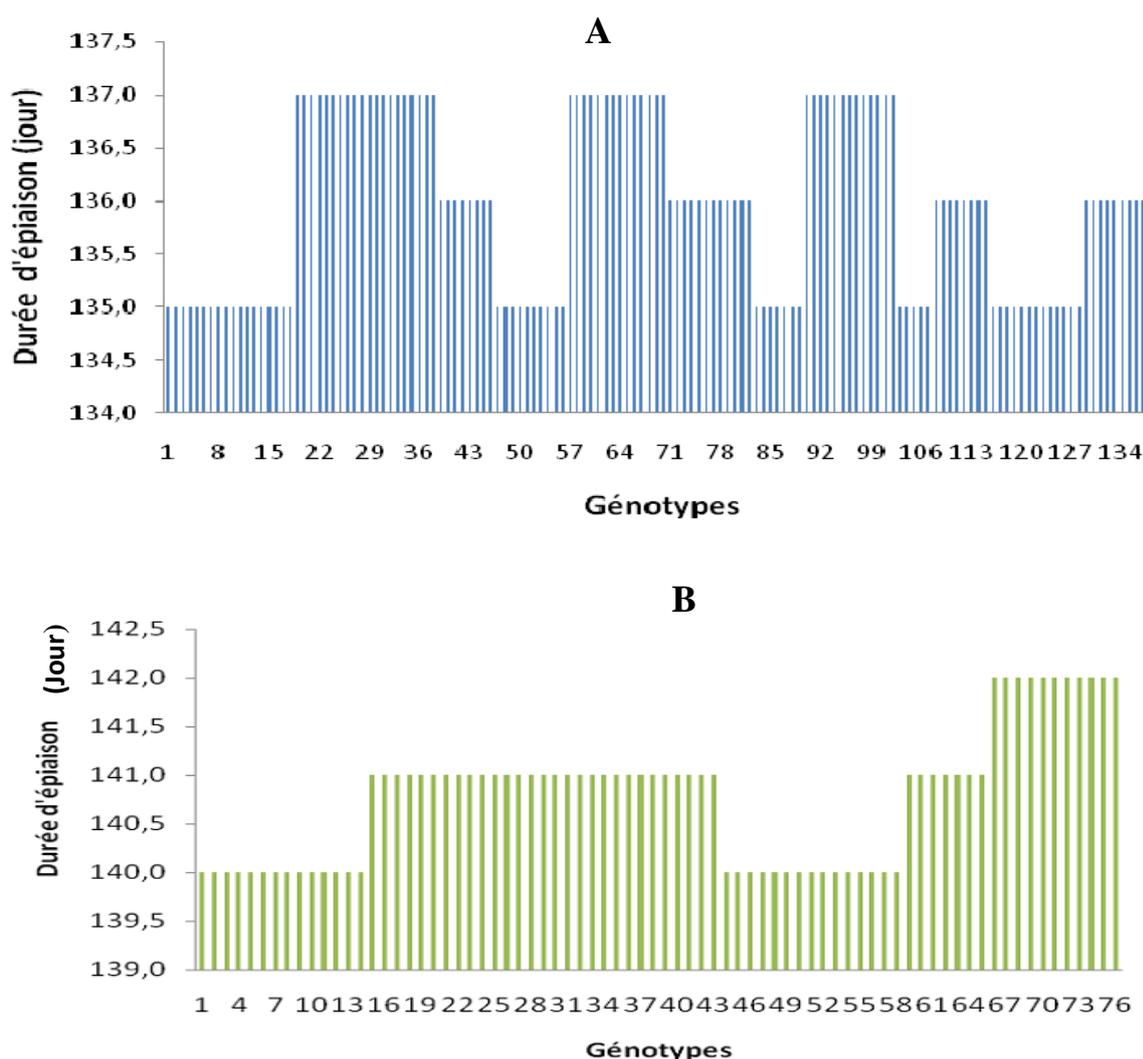


Figure 8 (A et B) : Durée d'épiaison des 139 géotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 géotypes de la variété *reichenbachii* (B)

Pour ce paramètre et à la lumière des résultats obtenus on observe que les géotypes étudiés recouvrent une large gamme de précocité, on distingue :

– des géotypes précoces dont la durée semis – épiaison est égale à 135 jours, c'est le cas des géotypes de la variété *leucomelan* de G1 à G18, de G45 à G56, de G83 à G 89 et de G103 à G128.

– des géotypes moyennement précoces d'une durée semis – épiaison de 136 à 141 jours, il s'agit des géotypes de la variété *leucomelan* : de G108 à G115, de G129 à G139, de G19 à G38, de G 57 à G70 et de G90 à G102 et les géotypes de la variété *reichenbachii* qui sont de G1 à G14, de G44 à G57 et de G15 à RG43.

– les géotypes tardifs sont à 142 jours il s'agit des géotypes de la variété *reichenbachii* G67, G68, G69, G70, G71, G72, G73, G74, G75et G76.

D'après l'étude réalisée par Boudour, (2006) sur 1019 génotypes de blé dur, les génotypes de la variété *reichenbachi* sont les plus précoces avec une durée semis – épiaison de 93 à 149 jours alors que les génotypes de la variété *leucomelan* sont tardifs avec une durée de 101 à 149 jours.

L'épiaison détermine la durée des phases de développement qui jouent un rôle important dans l'élaboration des composantes du rendement et dans l'évitement des accidents climatiques défavorables. C'est une caractéristique très importante dans l'adaptation de la céréale à un milieu donné (Wardlaw, 1967).

La date d'épiaison, souvent utilisée comme un indicateur de précocité, est considérée comme un important caractère qui influence les rendements des céréales, surtout en zones où la distribution de la pluviométrie et la variabilité des températures affectent la longueur du cycle de développement (Attia, 2007).

Dans les conditions semi-arides méditerranéennes, la précocité à l'épiaison et celle à maturité sont souvent utilisées comme critère de sélection et citées comme mécanismes importants dans l'esquive ou l'échappement à des contraintes climatiques (Wardlaw *et al.*, 1995).

Une étude sur la stabilité des rendements du blé dur sous climat méditerranéen, réalisé par Haddad,(2009) a montré que les variétés du blé dur différents significativement pour la date d'épiaison.

En conditions méditerranéennes, le semis précoce augmente le rendement potentiel car le stock d'eau disponible est supérieur, la floraison anticipée et la répartition de la transpiration entre pré- et post-anthèse est optimisée (Turner, 2004). Le risque provient alors du gel tardif qui peut affecter la montaison et la floraison.

Pyrénées, (2008) a testé le comportement en agrobiologie de 8 variétés de blé dur pour leurs caractéristiques agronomiques (précocité à l'épiaison, hauteur de paille). Les résultats ont montré que toutes les variétés sont précoces (178,179 et 180 jours), à l'exception la variété Miradoux (186 jours).

Lounes et Guerfi, (2010) ont étudié 30 variétés de blé dur en se basant sur les différentes zones agro-climatiques, ils ont trouvé que la durée semis épiaison (précocité) est entre 98 et 106 jours.

Morsl, (2010) a étudié la longueur du cycle d'épiaison des variétés de blé dur. Les résultats ont montré que la durée varie de 115 à 119 jours sur le site d'El khroub et de 116 à 122 jours sur celui d'OUM-.El Bouaghi, soit respectivement une différence de 4 jours et 6 jours. L'analyse de variance a montré que ce paramètre est hautement significatif entre les génotypes étudiés.

Bousbaa, (2012) a montré que cette phase est observée sur une période allant de 138 à 142 jours chez 40 variétés de blé dur.

Le stade épiaison est une importante étape dans le cycle de vie de la plante. C'est à ce stade que l'architecture de la plante devient apparente, indiquant le potentiel de rendement (Abbassenne *et al.*, 1997).

### 3.2. Paramètres morphologiques

Les variables morphologiques utilisées concernent les caractères relatifs à l'architecture de la plante et ayant une incidence sur le rendement. Il s'agit des paramètres suivants : la largeur (LAF), la longueur de la feuille drapeau (LOF), la hauteur de la plante (HP), la longueur de l'épi (LE), la longueur du col de l'épi (LC) et la longueur de la barbe (LB).

#### 3.2.1 Hauteur de la plante (HT)

Chez la variété *leucomelan*, la hauteur des plantes varie de 74cm chez le génotype G77 à 165,2 cm chez le génotype G44. Les génotypes G12, G44, G45, G8, G113 et G117 forment le groupe des plantes les plus hautes contrairement aux génotypes G68 et G75 qui sont les plus courtes (Fig.9A).

La variété *leucomelan* enregistre les valeurs allant de 71.3 cm à 162.5 cm pour les valeurs minimales et de 76,7 cm à 167,9 cm pour les valeurs maximales, avec un écart type de 1,41 à 10,6 (Annexe1).

On remarque que l'analyse de la variance à un facteur montre une différence très hautement significative ( $F=8,528^{***}$  à  $\alpha=0.001$ ) pour les génotypes de la variété *leucomelan* (Tab.15).

Tableau 15 : Le test de Newman - Keuls de la hauteur de la variété *leucomelan*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	138	101165,076	733,080	8,528	< 0,0001
Résidus	278	23896,147	85,957		
Total	416	125061,223			

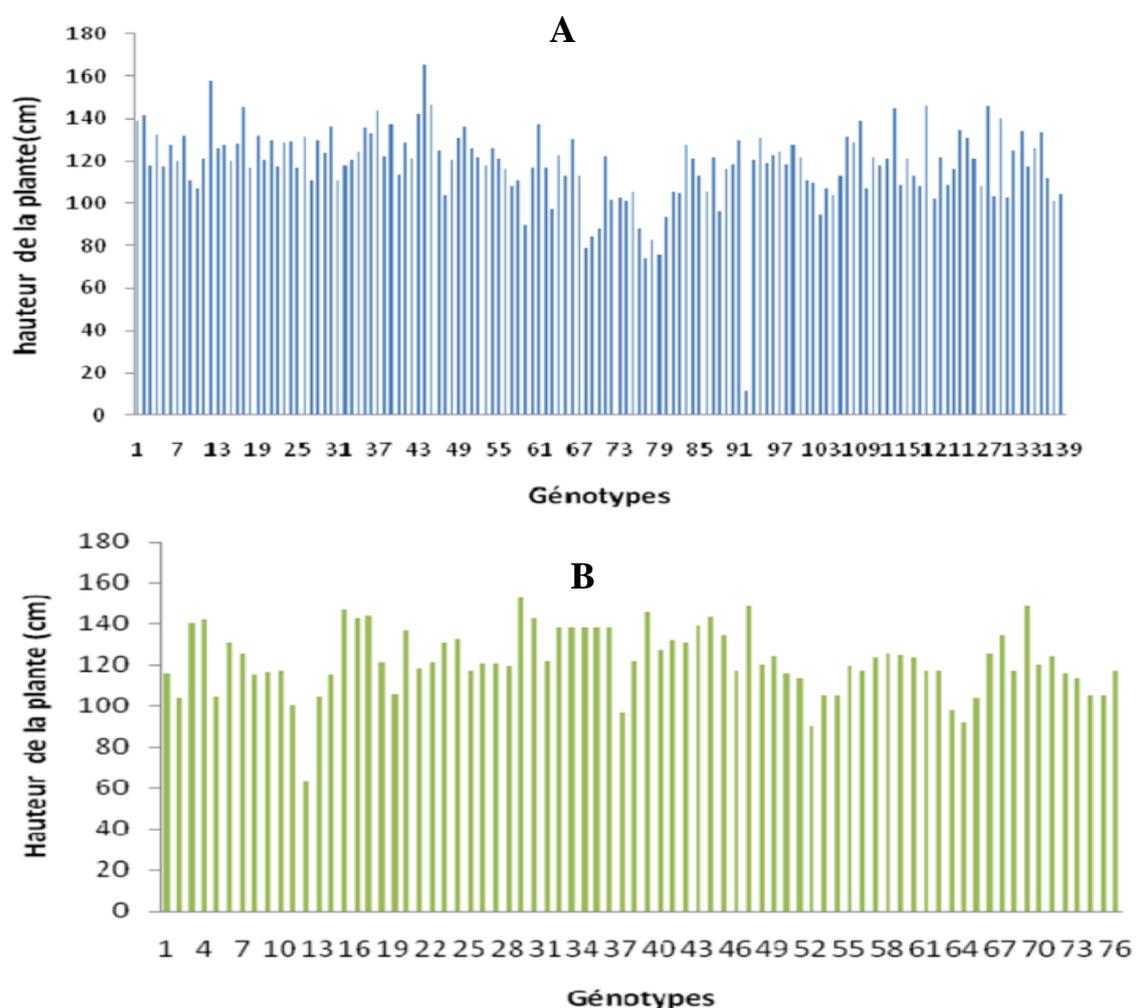
Quant à la variété *reichenbachi*, la hauteur de ses plantes se situe entre 63,5 cm pour le génotype G12 et 152,5cm pour le génotype G29. Les génotypes G3, G4, G15, G16, G17, G29, G30, G32, G33, G36, G39, G47 et G69 enregistrent les hauteurs les plus élevées alors que le génotype G13 la plus petite. Les autres génotypes montrent des hauteurs intermédiaires et très variables (Fig. 9B).

Les mesures (Annexe 2), révèlent des valeurs de 60.2 à 145.6 cm pour les moyennes minimales et de 66,8 à 162,4 cm pour les moyennes maximales et un écart type de 2,4 à 14,8.

Les génotypes de la variété *reichenbachi* présentent une différence très hautement significative ( $F=30,032^{***}$  à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.16).

Tableau 16 : Le test Newman - Keuls de la hauteur de la variété *reichenbachi*

Source	ddl	SCM	CM	F de Fisher	Pr > F
Modèle	75	61067,053	814,227	30,032	< 0,0001
Résidus	152	4121,020	27,112		
Total	227	65188,073			



**Figure 9 (A et B) :** Hauteur de la plante des 139 génotypes de la variété *leucomelan* (A) et des 76 génotypes de la variété *reichenbachi* (B)

L'analyse globale de la variance à un facteur des deux variétés montre une différence très hautement significative ( $F=11,762$  \*\*\* à  $\alpha=0.0001$ ) et met en évidence cinq principaux groupes des génotypes (Annexe 7):

- le premier groupe comprend les génotypes appartenant à la variété *leucomelan* qui possèdent les moyennes les plus élevées de la hauteur de la plante G12 et G44.
- le deuxième groupe contient 3 génotypes G45, G128 et G119 de la variété *leucomelan* et plusieurs génotypes de la variété *reichenbachi* G15, G29, G30, G32, G33, G36, G39, G47 et G 69 avec une moyenne élevée de la hauteur de la plante.

- le troisième groupe composé des génotypes avec des valeurs moyennement élevées, les génotypes G17, G114, G37, G43 et G2 de la variété *leucomelan* et les génotypes G17, G44, G30, G16, G4, G3 de la variété *reichenbachi*.
- le quatrième groupe contient les génotypes ayant des hauteurs intermédiaires.
- le cinquième groupe forme les plantes les plus courtes G68, G76, G70, G77, G79, et G69 de la variété *leucomelan* et le génotype G12 de la variété *reichenbachi*.

Tableau 17 : Le test de Newman - Keuls de la hauteur des plantes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	214	164001,233	766,361	11,762	< 0,0001
Résidus	430	28017,167	65,156		
Total	644	192018,399			

Nos résultats sont en accord avec ceux de Morsli, (2010) qui a trouvé un effet très hautement significatif de la hauteur de la plante entre les génotypes étudiés de blé dur, les valeurs sont entre 89 et 123 cm.

Vincent, (2013) a montré que les moyennes s'échelonnent sur 20 cm, de 119 à 138 cm pour la hauteur totale de six variétés de blé.

Nachit *et al.*, (1986) ont rapporté que la hauteur est un caractère désirable en zone semi-aride où la verse n'est pas un problème. De plus dans ces zones, la paille est très appréciable par le cheptel.

Les tiges courtes, ont une capacité d'emmagasinage plus petite et leur susceptibilité au stress environnemental est plus grande (Pheloung, 1991). Cependant, de nombreuses études comme celles de Ali Dib *et al.*, (1990) et Pheloung, (1991) ont montré que les variétés de blé à paille courte ont une bonne adaptation et une meilleure productivité en zones sèches, combinant ainsi une tolérance élevée à la sécheresse et un indice de récolte élevé.

### 3.2.2 Longueur du col de l'épi (LCE)

Chez la variété *leucomelan* la longueur du pédoncule la plus élevée de 67,5cm est pour le génotype G61 est la plus courte est observée chez les génotypes G3, G4, G5, G55 et G70 (Fig. 10A).

Cette variété montre des valeurs de l'ordre de 12,5cm à 60,5 cm pour les valeurs minimales, et de 14,5cm à 74,8cm pour les valeurs maximales, avec un écart type de 0,8 à 10,3 (Annexe 1).

L'analyse de la variance à un facteur montre une différence très hautement significative entre les génotypes ( $F= 47,586$  \*\*\* à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.18).

Tableau 18 : Le test de Newman - Keuls de la longueur du col de la variété *leucomelan*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	138	46771,213	338,922	47,586	< 0,0001
Résidus	278	1980,000	7,122		
Total	416	48751,213			

Quant à la variété *reichenbachi*, la longueur la plus élevée se rencontre chez les génotypes G19, G25, G40 et G70, et la plus réduite chez les génotypes G13, G19 et G58 (Fig .10B).

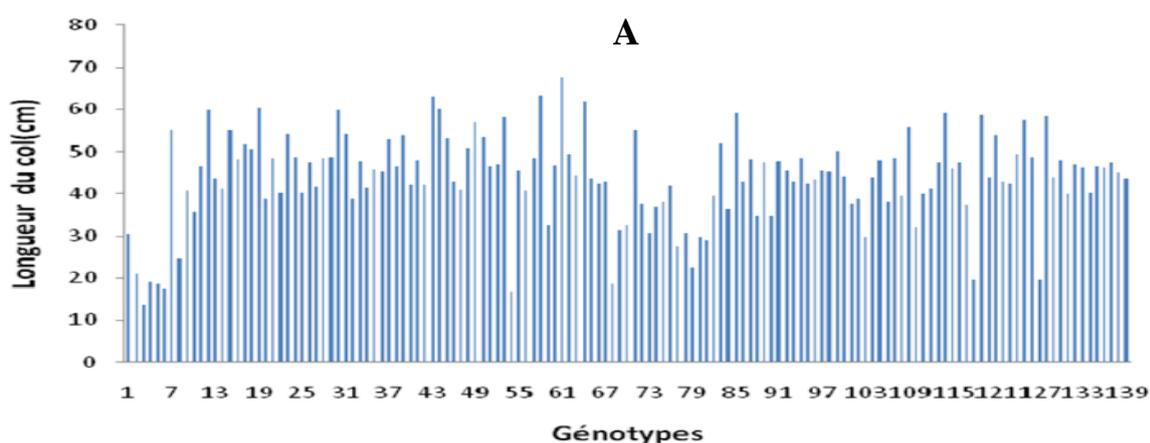
La variété *reichenbachi* présente des valeurs de l'ordre de 22,4cm à 59,4cm pour les valeurs minimales et de 27cm à 65cm pour les valeurs maximales avec un écart-type de 0,7 à 11,7 (Annexe 2).

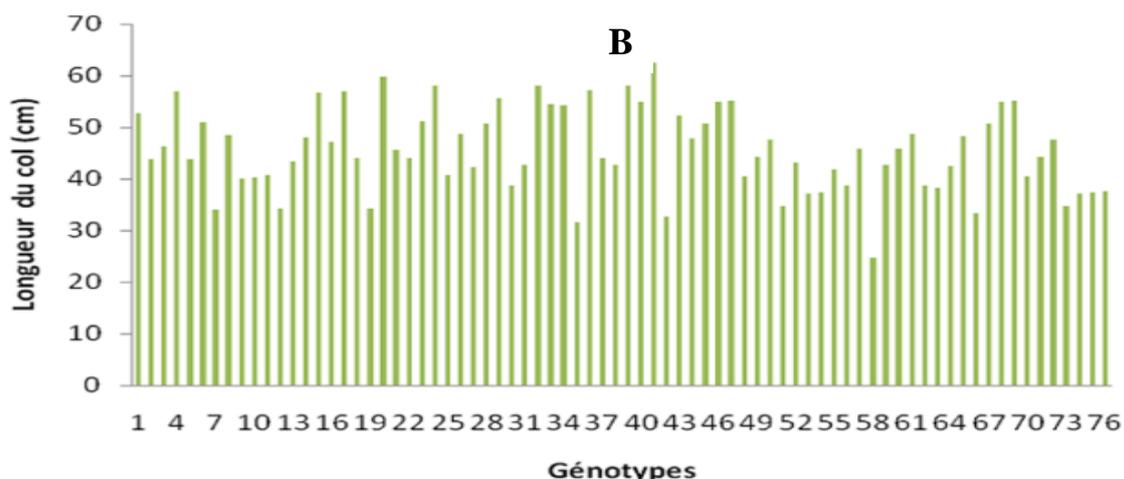
L'analyse de la variance à un facteur montre une différence très hautement significative entre les génotypes ( $F= 17,928$  \*\*\* à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.19).

Tableau 19 : Le test de Newman - Keuls de la longueur du col de la variété *reichenbachi*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	75	14460,505	192,807	17,928	< 0,0001
Résidus	152	1634,683	10,754		
Total	227	16095,188			

En comparant les deux variétés, on constate que la moyenne de la hauteur du col d'épi la plus élevée de 69.7cm concerne les génotypes qui appartiennent à la variété *leucomelan*.





**Figure 10 (A et B):** Longueur du col des 139 génotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 génotypes de la variété *reichenbachii* (B)

On remarque que les 215 génotypes étudiés des deux variétés présentent une différence très hautement significative ( $F=34,366$  \*\*\* à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.20). En effet le test de Newman - Keuls à 5%, fait ressortir des groupes, dans lesquels G61 et G58 de la variété *leucomelan* possédant les moyennes les plus élevées et G68, G5, G6, G54 et G3 dont les longueurs sont les plus courtes (Annexe 9).

Tableau 20 : Le test de Newman - Keuls de la longueur du col des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachii*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	214	61822,484	288,890	34,366	< 0,0001
Résidus	430	3614,683	8,406		
Total	644	65437,167			

La longueur du col, est un caractère proposé comme critère de sélection de génotypes tolérants au stress hydrique (Fisher., 1978). En effet, les meilleurs rendements, en cas de déficit hydrique, sont fournis par les génotypes à cols d'épi longs (Mekliche ,1983), ce qui est le cas de la variété *leucomelan*.

Mohamed Benali *et al.*,(2014) ont étudié le comportement de six génotypes de blé dur dans deux essais différents : le premier est réalisé dans des conditions pluviales et le second avec un approvisionnement en eau à différents stades phénologiques. Les valeurs de la longueur du col obtenues dans le 1<sup>er</sup> essai sont de l'ordre de 18,58 à 26,70cm alors que dans le 2<sup>ème</sup> essai les valeurs varient de 22,10 à 35 cm.

Selon Wardlaw, (1967) le col de l'épi, organe photo synthétisant, peut jouer un rôle dans l'élaboration du rendement car il reste actif après la sénescence de la dernière feuille.

### 3.2.3 Longueur de l'épi (LE)

Chez la variété *leucomelan* la longueur de l'épi montre des valeurs allant de 4,2cm à 10,8 cm, les génotypes G9, G43, G58, G117, G119, G124, G128, G12 et G130 forment le groupe possédant une longueur d'épi plus importante que le groupe des génotypes G71, G73, G77, G78 et G85 (Fig. 11A).

La variété *leucomelan* enregistre des valeurs de l'ordre de 3,7cm à 9,8 cm pour les valeurs minimales et de 4.6cm à 12,4 cm pour les valeurs maximales, avec un écart- type de 0.2 à 2,8 (Annexe 1).

L'analyse de la variance à un facteur montre une différence très hautement significative ( $F= 7,092$  \*\*\* à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.21).

Tableau 21 : Le test de Newman - Keuls de la longueur d'épi de la variété *leucomelan*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	138	825,452	5,982	7,092	< 0,0001
Résidus	278	234,467	0,843		
Total	416	1059,919			

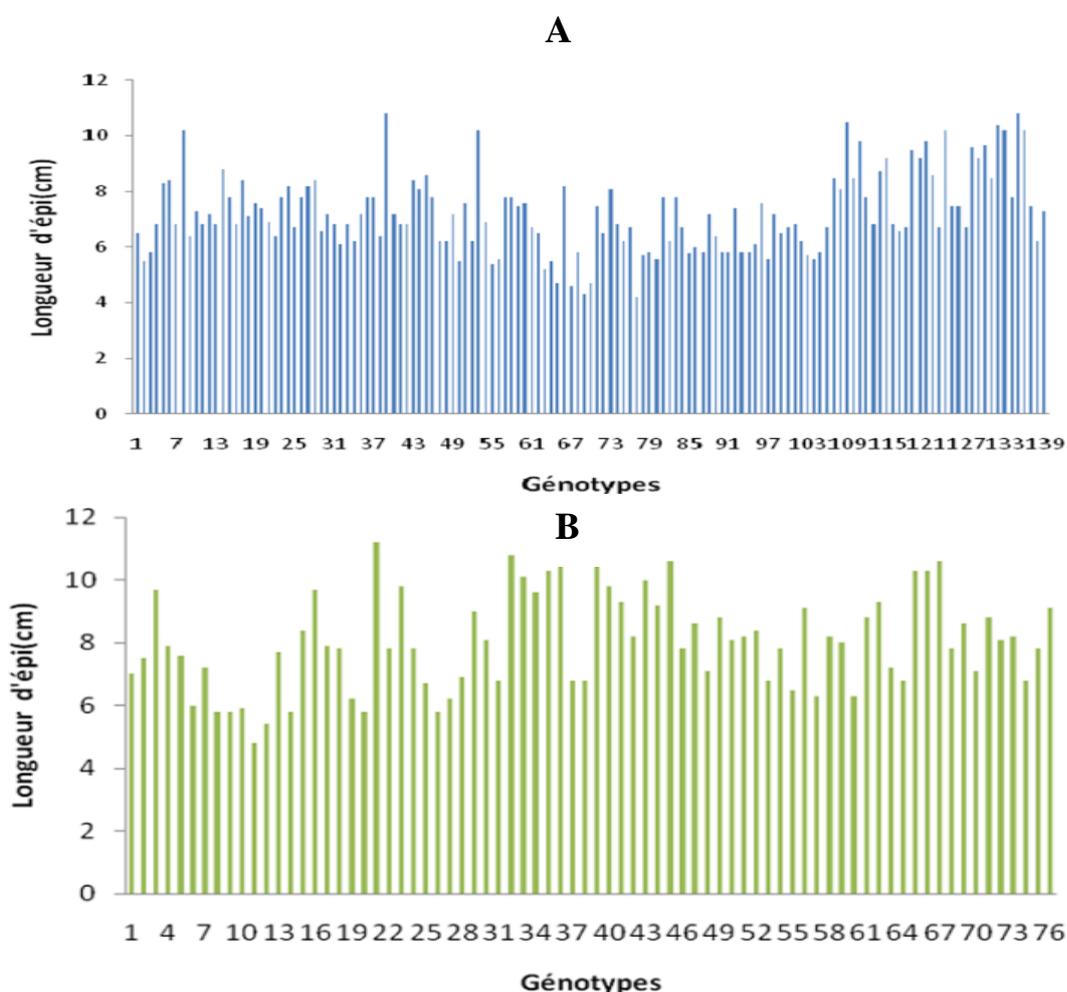
Pour la variété *reichenbachi*, la longueur des épis varie de 4,8cm chez le génotype G11 à 11,2cm chez le génotype G21. Les génotypes G32, G33, G35, G39, G43, G65, G66 et G67 ont la longueur la plus élevée .Tandis que, les génotypes G12, G13, G14, G15, G17 et G30 possèdent des épis courts (Fig. 11B).

Cette variété enregistre des valeurs de 4,1cm à 10,2cm pour les valeurs minimales et de 6cm à 13cm pour les valeurs maximales, avec un écart- type de 0.2à 3,1 (Annexe 2).

L'analyse de la variance à un facteur montrent pour les génotypes de la variété *reichenbachi* une différence très hautement significative ( $F=7,624$ \*\*\*à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.22).

Tableau 22 : Le test de Newman - Keuls de la longueur d'épi pour la variété *reichenbachi*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	75	534,102	7,121	7,624	< 0,0001
Résidus	152	141,980	0,934		
Total	227	676,082			



**Figure 11(A et B):** longueur d'épi des 139 géotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 géotypes de la variété *reichenbachi* (B)

L'analyse de la variance à un facteur globale pour les deux variétés révèle une différence très hautement significative de ( $F= 7,762 ***$  à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.23) et met en évidence plusieurs groupes (Annexe 8) dont les principaux sont:

- le premier groupe comprend le géotype G21 de la variété *reichenbachi*, exprimant la valeur la plus élevée.
- le deuxième groupe regroupe les valeurs élevées variant de 10,2 à 10,10cm comprenant les géotypes G8, G39, G53, G109, G124, G132, G133, G135, G136 de la variété *leucomelan* et les géotypes G33, G34, G36, G37, G40, G46, G67, G32, G39, G45, G66, G65, G68 et G69 de la variété *reichenbachi*.
- le troisième est constitué des géotypes ayant des valeurs moyennement élevées variant de 6,8 à 9,8 cm.

– le quatrième regroupe 17 génotypes avec G50, G55, G56, G63, G64, G65, G67, G69, G70 de la variété *leucomelan* et G11, G8, G9, G10, G12, G15, G27 et G21 de la variété *reichenbachi* dont les valeurs sont courtes, de 4,2 à 5,8cm.

– le sixième groupe est formé d'un génotype ayant la valeur la plus courte G77 de la variété *leucomelan*.

Tableau 23: Le test de Newman - Keuls de la longueur d'épi des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	214	1454,196	6,795	7,762	< 0,0001
Résidus	430	376,447	0,875		
Total	644	1830,643			

Les caractéristiques de l'épi court à barbes peu développées contribuent également à une limitation des pertes en eau. L'épi assure une activité photosynthétique importante au cours du remplissage du grain et sa contribution à la photosynthèse de la plante serait comprise entre 13 et 76% ( Biscope *et al.*, 1975 ; Febrero *et al.*, 1990 ; Berkat,2005).En cas de déficit hydrique,la photosynthèse de l'épi participe relativement plus au remplissage que la feuille étendard ( Bammoun,1997).

Par ailleurs en conditions de déficit hydrique, le rôle de l'épi devient plus important que celui des dernières feuilles (Johnson *et al.*, 1983), du fait de la sénescence de ces dernières ; cela est particulièrement vrai chez le blé dur (Gâte *et al.*, 1993).

Après une étude sur le mode d'hérédité et l'effet de gène pour la longueur d'épi des variétés de blé, Ljubičić *et al.*, (2014) ont conclu qu'il n'y a aucune interaction interallélique entre les gènes déterminant l'expression de la longueur de l'épi .

### 3.2.4 Longueur des barbes (LB)

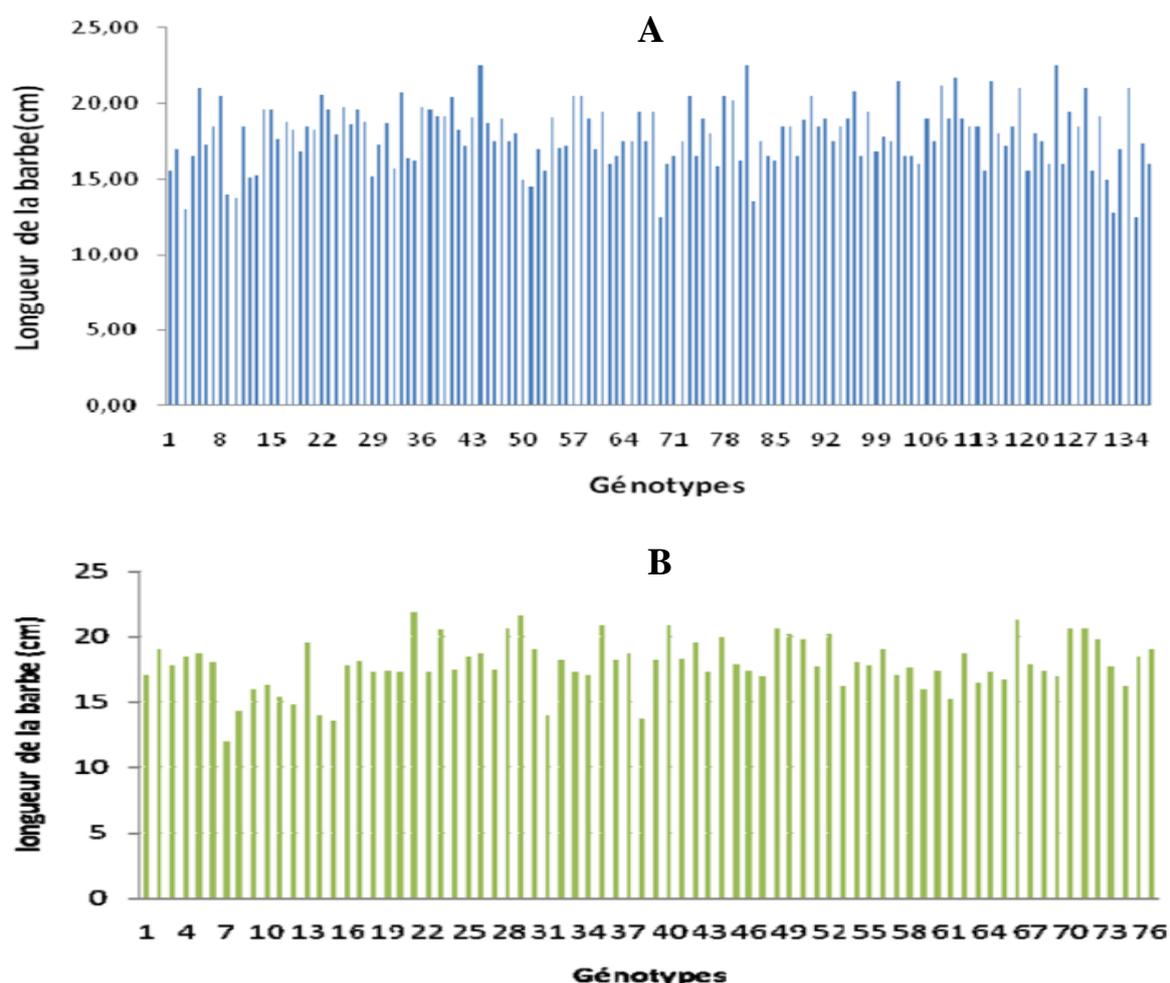
La variété *leucomelan* montre des longueurs des barbes allant de 12,5cm pour le génotype G69 et G135 et de 22,5cm pour les génotypes G44, G81 et G124.Les génotypes G22, G8, G89, G79, G27, G40, G57, G58, G78, G90, G96, G102, G108, G111, G112, G115, G104, G110, G115, G118, G124 et G133 se caractérisent par les barbes les plus longues, contrairement aux génotypes G6, G3, G10, G9, G82, G135, G16, G37, G39 et G54 dont les barbes sont les plus courtes (Fig .12 A).

Cette variété montre des valeurs de l'ordre de 11,2 cm à 20,6 cm pour les valeurs minimales et de l'ordre de 13,5cm à 26,1cm pour les valeurs maximales, avec 0.7 à 5,9 pour écart type (Annexe 1).

Quant à la variété *reichenbachi*, les valeurs sont plus faibles par rapport à la précédente et sont de l'ordre de 11cm à 24cm. les barbes les plus longues sont observées chez les génotypes G5, G70, G71, G66, G22, G23, G27, G28, G31 et G33. Tandis que, les plus courtes sont présentes chez les génotypes G9, G11, G15, G17, G18, G41, G7, G12, G14, et G38 (Fig. 12B).

Chez cette variété les valeurs sont de l'ordre de 11cm à 20,4cm pour les valeurs minimales et de 13cm à 24cm pour les valeurs maximales, avec un écart type de 0,4 à 3,6 (Annexe 2). Il est à signaler que la moyenne de la longueur des barbes la plus élevée est de 13.6cm chez les

génotypes appartenant à la variété *leucomelan* comparativement à ceux de la variété *reichenbachi* qui sont de 12.5cm.



**Figure 12(A et B) :** Longueur de la barbe des 139 génotypes de la variété *variété leucomelan* (A) et 76 génotypes de la variété *reichenbachi* (B)

**En conclusion**, ce paramètre répartit les génotypes en 3 groupes selon leur longueur de barbe :

- les génotypes G124, G44, G81 de la variété *leucomelan* et G21 de la variété *reichenbachi* présentent les mesures des barbes les plus élevées de 22,5cm à 21,8cm, suivis par G111, G112, G115 et G104 de la variété *leucomelan* et G23, G28, G29, G35, G48, G49, G52, G66, G70 et G71 de la variété *reichenbachi* qui montrent des valeurs moyennement élevées de 20,2cm à 21,7cm .
- le groupe intermédiaire englobe des génotypes avec une moyenne variant de 15,30 cm à 19,60 cm.

–la plus courte barbe est enregistrée chez les génotypes G3, G10, G9, G82 et G135 de la variété *leucomelan* et G7, G15, G8, G12, G14, G15 et G38 de la variété *reichenbachi* dont la longueur de la barbe varie de 12 cm à 14,80 cm.

Boudour,(2006) a montré que la moyenne de la longueur des barbes est plus élevée chez les génotypes appartenant à la variété *reichenbachi* (14,41cm) que ceux de la variété *leucomelan* ( 14,17cm).

Selon Weyrchi, (1995) les barbes sont des feuilles rudimentaires ayant une fonction photosynthétique, alors que de nombreux travaux réalisés sur une large gamme de génotypes de blé dur semblent confirmer le rôle de la barbe dans le remplissage du grain en condition de déficit hydrique (Gignac, 1965 ; Hadjchristodoulou 1985 ; Dib, 1990).

Il semble également que chez le blé dur, comme l'ont soulignés Hadjchristodoulou, (1985); Dib, (1990), que la longueur des barbes est un paramètre morphologique lié à la tolérance au déficit hydrique.

Par ailleurs, en conditions de déficit hydrique, le rôle de l'épi et des barbes devient plus important que celui des dernières feuilles (Johnson et Moss, 1976) du fait de la sénescence de ces dernières ; cela est particulièrement vrai chez le blé dur signalé par Gate *et al.*, (1993).

Selon Teich, (1982), les génotypes barbus sont recherchés surtout dans les zones où le climat est sec et chaud, alors que les génotypes sans barbes sont prédominants dans les régions tempérées et humides.

D'après Monneveux, (1991) l'épi et les barbes jouent un rôle important dans la tolérance au stress hydrique terminal chez le blé, du fait de l'importance de l'épi dans la photosynthèse et la transpiration après l'anthèse.

#### **3.2.5 Longueur et Largeur de la feuille étendard (LOF/LAF)**

La variété *leucomelan* possède des feuilles étendards qui varient de 28 cm chez le génotype LG67 à 38,7cm chez le génotype 31. Les génotypes G 3, G9, G10, G13, G21 et G34 forment les feuilles étendards les plus longues, contrairement aux génotypes G5, G19, G30, G60, G77et G80 qui montrent des feuilles étendards plus courtes (Fig. 13A).

Chez la variété *leucomelan* on enregistre des valeurs de l'ordre de 15,9 à 36,2 cm pour les valeurs minimales et de 20,1 à 41,2 cm pour les valeurs maximales, avec écart type de l'ordre de 0,4 à 6,9 (Annexe 1).

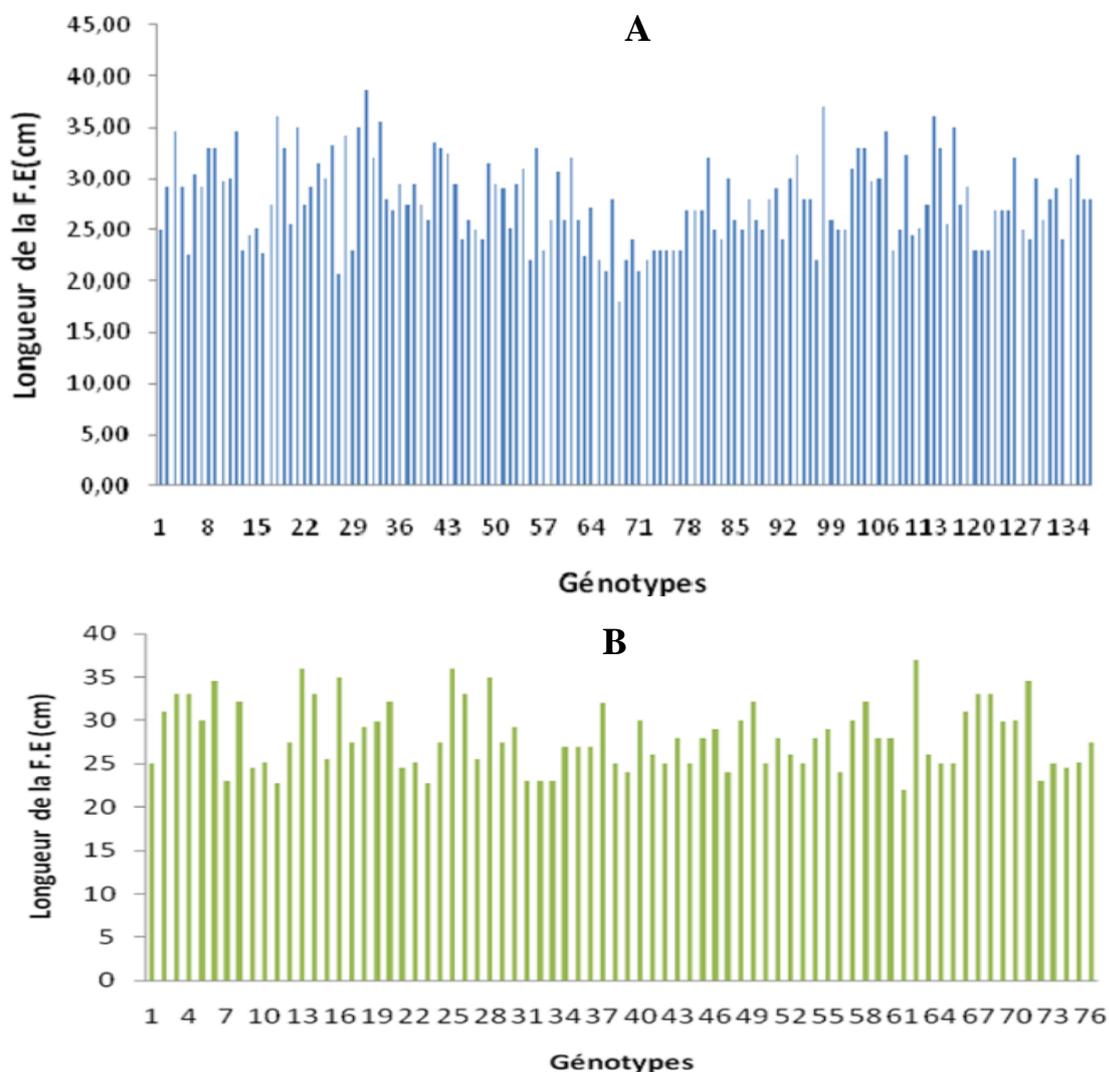
Chez la variété *reichenbachi*, la longueur des feuilles étendards s'étale de 22 à 37cm. Pour les génotypes G6, G13, G16, G25, G26 et G64 les longueurs sont les plus élevées alors que pour les génotypes G3, G4, G27, G28 et G29 elles sont les plus courtes (Fig. 13B).

La variété *reichenbachi* montre des valeurs de l'ordre de 19,6 à 35,4 cm pour les valeurs minimales et de 23,7 à 39,4 cm pour les valeurs maximales avec un écart type de 0.85 à 6.72 (Annexe 2).

Les résultats obtenus de l'ensemble des génotypes étudiés montrent une grande variation entre les génotypes (fig 14. Annexe 1 et 2), on distingue :

– les génotypes qui forment les feuilles les plus longues G62, G13, G25 de la variété *reichenbachi* et les génotypes G18, G31 et G114 de la variété *leucomelan*.

– les valeurs les plus courtes allant de 18cm chez le génotype G61 de la variété *leucomelan* à 29 cm chez le génotype G55 de la variété *reichenbachi*.



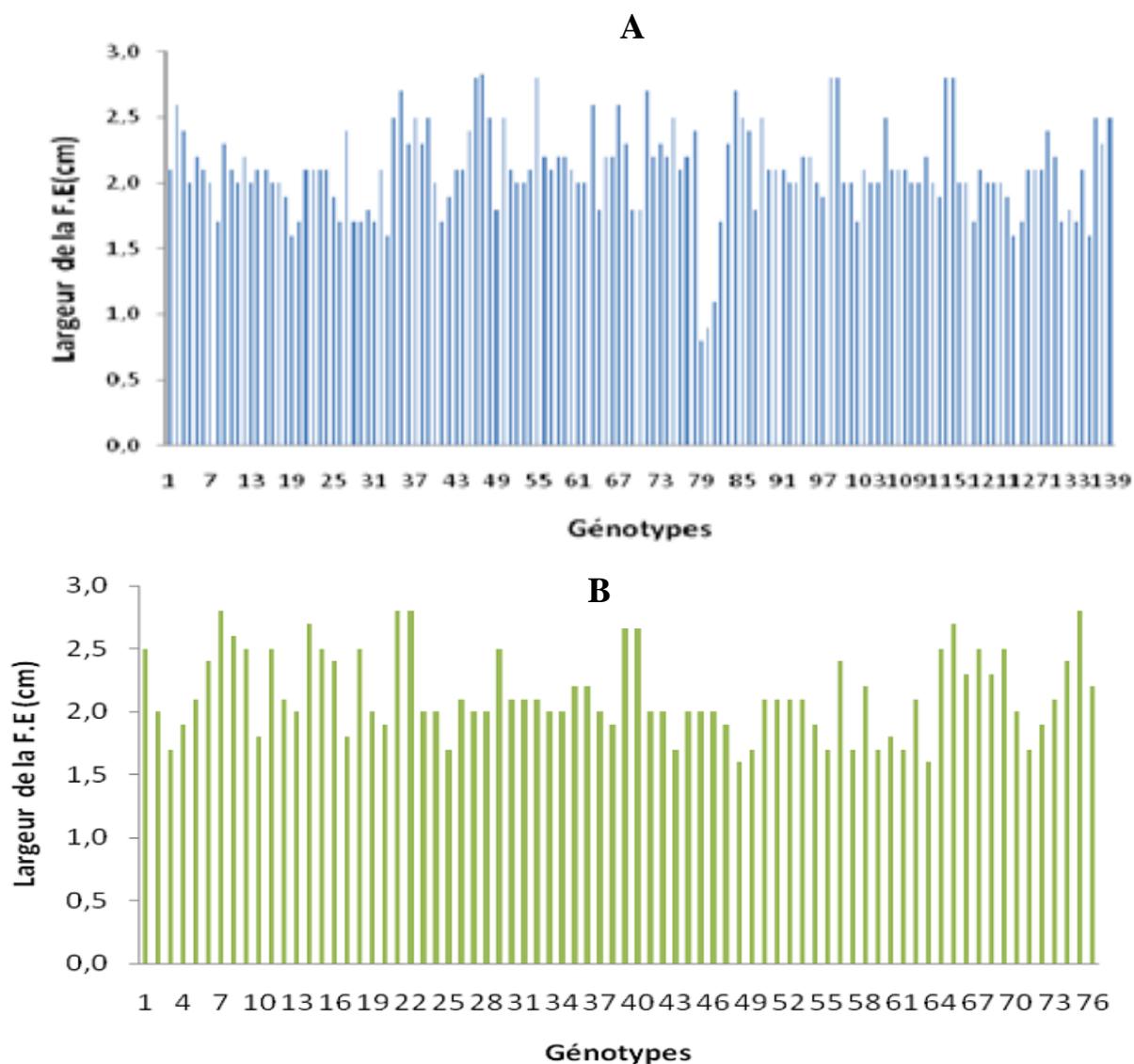
**Figure 13(A et B) :** Longueur de la feuille étendard des 139 génotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 génotypes de la variété *reichenbachi* (B)

Pour la variété *leucomelan* la largeur de la feuille étendard varie de 0,8 à 2,8 cm. Les génotypes G35, G36, G49, G50, G84 et G85 ont les feuilles étendards les plus larges par contre les génotypes G79, G80 et G81, leurs feuilles étendard sont de largeur réduite (Fig. 14A).

Chez la variété *leucomelan*, on enregistre des valeurs de l'ordre de 0,6 à 2,3 cm pour les valeurs minimales et de 1 à 3,5 cm pour les valeurs maximales, avec un écart type de 0,8 à 2,8 (Annexe1).

La variété *reichenbachi* montre des valeurs de l'ordre de 1,3 à 2,6 cm pour les valeurs minimales et de 1.8 à 3,4 cm pour les valeurs maximales, avec 0,14 à 0.8 pour écart type (Annexe 2).

Chez la variété *reichenbachi* la largeur la plus élevée de 2,83 cm est mesurée chez le génotype G47 et la plus faible de 0,8 cm chez le génotype G79. On observe que les génotypes G20, G21, G39, G40 et G75 forment des feuilles étendards de largeur allant de 1,6 à 2,8 cm et les génotypes G 49, G50 et G64 développent des feuilles réduites (Fig. 14B).



**Figure 14 (A et B):** Largeur de la feuille étendard des 139 génotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 génotypes de la variété *reichenbachi* (B)

En conclusion pour ce paramètre et à la lumière des résultats obtenus et présentés par les figures 13 et 14, les génotypes ayant une longueur et une largeur de la feuille étendard élevées sont G2(2,6cm/29,2cm), G3(2,4cm/34,6cm), G34(2,5cm/30,1cm), G50(2,5cm/29,5cm), G84(2,7cm/30cm), G98(2,8cm/37cm), G106(2,5cm/30cm) G115(2,8cm/33cm), de la variété *leucomelan* et G8(2,6cm/32), G14(2,7cm/33cm), G40(2,8cm/30cm) et G47(2,5cm/33cm) de la variété *reichenbachi*.

Selon Casnin *et al.*, (2013), la surface de la feuille croît avec sa position sur la tige, la feuille étendard (ou feuille drapeau) étant souvent la plus grande est d'environ 30 cm<sup>2</sup>, et à maturité le plant de blé dispose d'environ 1,5 à 2 m<sup>2</sup> de « voilure ».

La surface foliaire est un caractère morphologique d'adaptation. (Blum, 1988; Attia, 2007).

Boyer, (1970) et Hsiao, (1973) ont montré que, lors d'un déficit hydrique, la plante réagit par une diminution de sa biomasse aérienne en particulier la surface de la dernière feuille. La réponse de la plante à la sécheresse prend beaucoup de forme, parmi lesquelles, la plus visible est la réduction de la surface foliaire, en conséquence à une diminution en nombre et en taille des feuilles (Rawson *et al.*, 1977). Wolfe *et al.*, (1992) ont remarqué aussi que la réduction de la surface foliaire suite à la réduction de l'élongation cellulaire est l'une des conséquences du déficit hydrique.

Cependant Johnson *et al.*, (1983) suggèrent que les plantes à surface foliaire plus grande sont tolérantes à la déshydratation en maintenant un potentiel hydrique élevé.

La durée de vie de la feuille étendard estimée par l'évolution de sa surface verte apparaît comme révélateur du niveau de fonctionnement de l'appareil photosynthétique en présence de déficit hydrique (Austin, 1987 ; Chartzoulakisa *et al.*, 2002 ; Monneveux, 1991).

### 3.2.6 Conclusion

Les génotypes de la variété *leucomelan* montrent une longueur du col, une longueur du barbe d'épi, une longueur et largeur de la feuille étendard et une hauteur de la plante élevée. La plupart des génotypes de la variété *rechenbachi* présentent une longueur de l'épi élevée.

### 3.3 Paramètres physiologiques

#### 3.3.1 Chlorophylle totale (CHT)

Le taux de chlorophylle est déterminé à l'aide d'un chlorophylle mètre. Avant toute mesure, l'appareil doit être réglé (nombre de signal par tour) et calibré (N=0). Dans ce protocole le taux de chlorophylle est évalué en %.

La chlorophylle totale chez la variété *leucomelan* varie de 21,2 à 57%, le taux de chlorophylle est plus élevée chez les génotypes G103, G41, G50, G58, G96, G97 et G132 et le plus faible est observé chez les génotypes G134, G35, G84, et G6 (Fig. 15A).

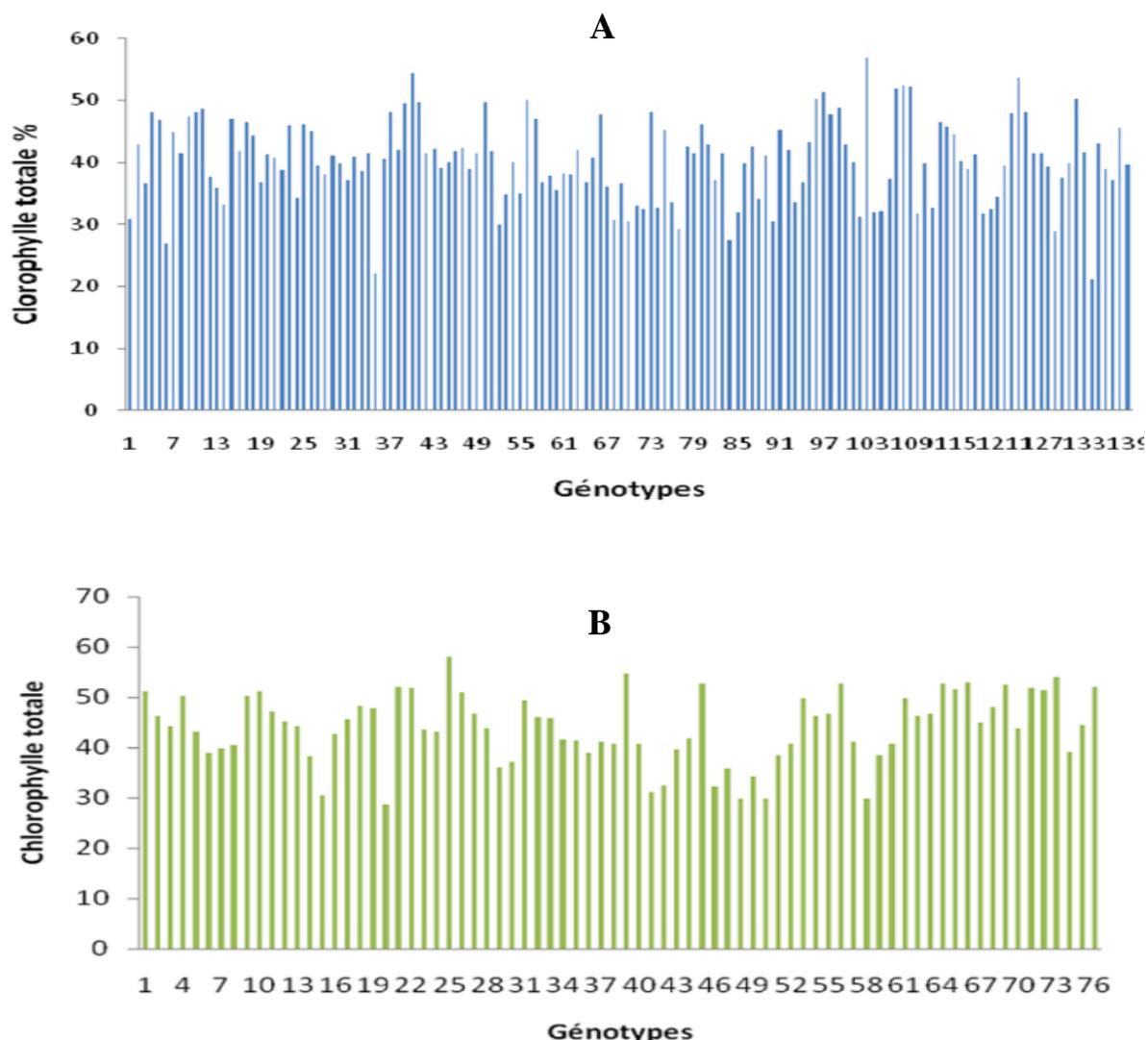
La variété *leucomelan* enregistre des valeurs de l'ordre de 18,3 à 52,6% pour les valeurs minimales et de 24,1 à 61,4% pour les valeurs maximales avec 1,5 à 19,6 pour écart type (Annexe 3).

Chez la variété *rechenbachi* le taux de chlorophylle varie de 28,6 à 58,1%, il est plus élevé est révélé chez le génotype G25. Les génotypes G22, G39, G73, G4 et G56 avec le génotype G25 forment le groupe dont le taux de chlorophylle est important, alors que celui des génotypes G48, G50 et G58 est faible (Fig. 15B). Le taux le plus faible est enregistré chez le génotype G20 de 28,6%.

Chez cette variété, on enregistre des valeurs de 23,5 à 54,3% pour des valeurs minimales, pour les valeurs maximales elles sont de 31,8 à 61,9% avec 1,13 à 9,6 pour écart type (Annexe 4).

A la lumière des résultats obtenus, les génotypes G103 de la variété *leucomelan* et G25 de la variété *rechenbachi* se distinguent par le plus fort taux de chlorophylle alors que les génotypes

G6,G35,G77,G84 de la variété leucomelan et G20, G50 et G58 de la variété *reichenbachi* forment le groupe des génotypes, dont le taux de chlorophylle est le plus faible.



**Figure 15 (A et B) :** Chlorophylle totale des 139 génotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 génotypes de la variété *reichenbachi* (B)

La teneur en chlorophylle est l'un des indices de l'activité photosynthétique (Larcher, 1995). Elle est d'une importance particulière à l'agriculture de précision comme un indicateur de l'activité photosynthétique.

La plus grande teneur en chlorophylle des plantes se produit au début de la phase de floraison, et est censé de prendre part au processus d'organogénèse (Simova *et al.*, 2001). Il y a habituellement de 4 à 5 mg de chlorophylle par unité de surface foliaire. Il convient également de souligner que la couleur des feuilles de certains cultivars et variétés ne sont pas toujours en corrélation directe avec la concentration en chlorophylle.

Le contenu de la teneur en chlorophylle et les niveaux d'autres constituantes biochimiques peuvent être utilisés comme indicateurs de stress des cultures dans des conditions de carence nutritionnelles, ces carences menant à la chlorose peuvent être allégées par l'application d'engrais, ce qui améliore le rendement et la qualité des cultures (Cordeiro *et al.*, 1995; Chova *et al.*, 2000).

D'après l'étude réalisée par Bojović et Stojanović, (2005) sur la teneur de la chlorophylle de 5 cultivars de blé, les auteurs ont conclu que la détermination de la teneur en chlorophylle comme une méthode indirecte d'estimation de la productivité de la végétation et elle représente un bon moyen d'acquérir une compréhension de la région photosynthétique des plantes.

Pour évaluer rapidement la fonction photosynthétique dans un grand nombre de plantes cultivées, l'analyse non destructive de la chlorophylle rapide polyphasique une fluorescence (CHLF) transitoire a été développé par (Strasser *et al.*, 2000 ; Ştirbeţ et Govindjee, 2011).

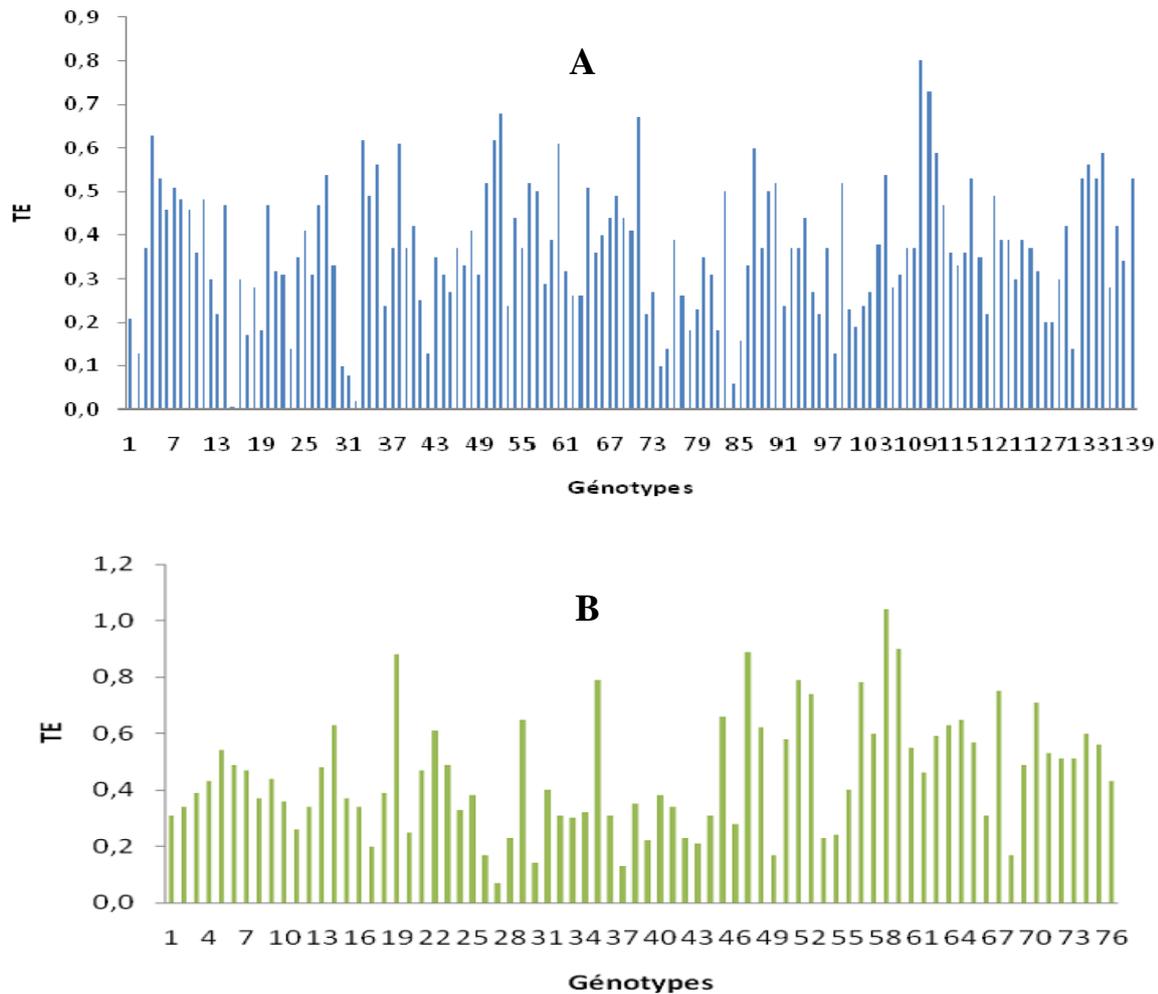
### 3.3.2 Teneur relative en eau (TRE )

La teneur en eau relevée chez la variété *leucomelan* varie de 0.01 à 0.8 g, les génotypes G110, G4, G51, G52, G134, G139 et G114 montrent une teneur élevée, par rapport aux génotypes G31, G23, G42, G73, G82 et G129 dont la teneur est faible (Fig. 16A).

La variété *leucomelan* enregistre des valeurs de l'ordre de 0,08 à 0.72g pour les valeurs minimales, de 0.2 à 0.8g pour les valeurs maximales, avec 0.04 à 0.2 pour l'écart type (Annexe 3).

Les mesures de la teneur en eau chez les différents génotypes de la variété *reichenbachi* sont variables, le taux le plus faible est de 0,07g observé chez le génotype G27 et le plus fort de 1,04 chez le génotype G58. Les génotypes G19, G36, G48, G58 et G59 forment le groupe dont la teneur en eau est plus importante, tandis que les génotypes G26, G27, G37 et G68, ont une teneur en eau la moins élevée (Fig.16B).

Cette variété montre des valeurs de 0.04 à 0.98g pour les valeurs minimales, et de 0.1 à 1.1g pour les valeurs maximales, avec 0.02 à 0.28 pour écart type (Annexe 4).



**Figure 16 :** Teneur relative en eau des 139 génotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 génotypes de la variété *reichenbachii* (B)

L'ensemble des résultats obtenus pour les deux variétés montrent qu'il existe une différence entre les génotypes testés ;

les génotypes G70, G67, G58, G56, G52, G51, G47 de la variété *reichenbachii* et les génotypes G111 et G110 de la variété *leucomelan* se distinguent par une moyenne élevée. Par contre les génotypes G11, G17, G20, G27, G28, G30, G39, G68 de variété *reichenbachii* et les génotypes G42, G2, G15, G17, G19, G23, G30, G32, G31, G74, G75, G78, G82, G84, G85, G98 et G101 de la variété *leucomelan* constituent le groupe qui se caractérise par une moyenne faible.

La teneur en eau joue un rôle important dans le processus de photosynthèse de la plante et de l'accumulation de la biomasse du blé, De nombreuses méthodes ont été développées pour récupérer la teneur en eau de la feuille à partir des données de télédétection. Toutefois, la validité de ces méthodes n'a pas été vérifiée, ce qui limite leurs applications (Zhao *et al.*, 2016).

Clark et Mac-Graig, (1982) et Shonfeld *et al.*, (1988) considèrent la teneur relative en eau comme étant le meilleur indicateur du statut hydrique, parce que la TRE en plus de sa relation avec le volume cellulaire, reflète plus précisément la balance entre l'eau disponible dans la feuille et le taux de transpiration, le potentiel osmotique et de turgescence Nouri, (2002).

Selon l'étude de Sanchez Diaz et Kramer, (1971) sur le blé, les plantes résistantes au stress hydrique présentent une faible perte d'eau par unité de surface foliaire et une augmentation de leur potentiel hydrique foliaire, en comparaison avec les cultivars sensibles. Nemmar, (1983) et Brinis, (1995) sont parvenus à la même conclusion, les variétés de blé qui ont la teneur relative en eau importante sont plus tolérantes à la sécheresse.

Belaifa et Lessard, (2015) ont trouvé que la teneur en eau pour deux variétés de blé dur cultivée en Algérie Hedba3/AWLP/Bit et Vitron sont de 11 et 11,5% respectivement.

Pour pouvoir être entreposé sans risque pendant de longues périodes, le blé doit avoir atteint une teneur en eau de 13 à 14 % (Maaro, 2009)

Une étude réalisée par (Annie *et al.*, 1929) a confirmé que lorsque les plantes de blé sont cultivées dans certaines conditions de croissance constante, il a été rapporté "que la teneur en eau de leur tiges et de leurs feuilles augmente jusqu'à un maximum au moment de la floraison et diminue soudainement un ou deux jours après les étamines sont extrudés.

### 3.3.3 Conclusion

Nos résultats montrent que la plupart des génotypes de la variété *reichenbachi* ayant un taux de chlorophylle et une teneur en eau élevée avec des moyennes globales de 43,99 et 0,43 successivement.

## 3.4 Composantes du rendement

### 3.4.1 Nombre d'épis par plante (NE /P)

Les résultats montrent une faible variation du nombre d'épis chez les 139 génotypes de la variété *leucomelan*. En effet, les valeurs moyennes sont de 3 à 6 épis par plante.

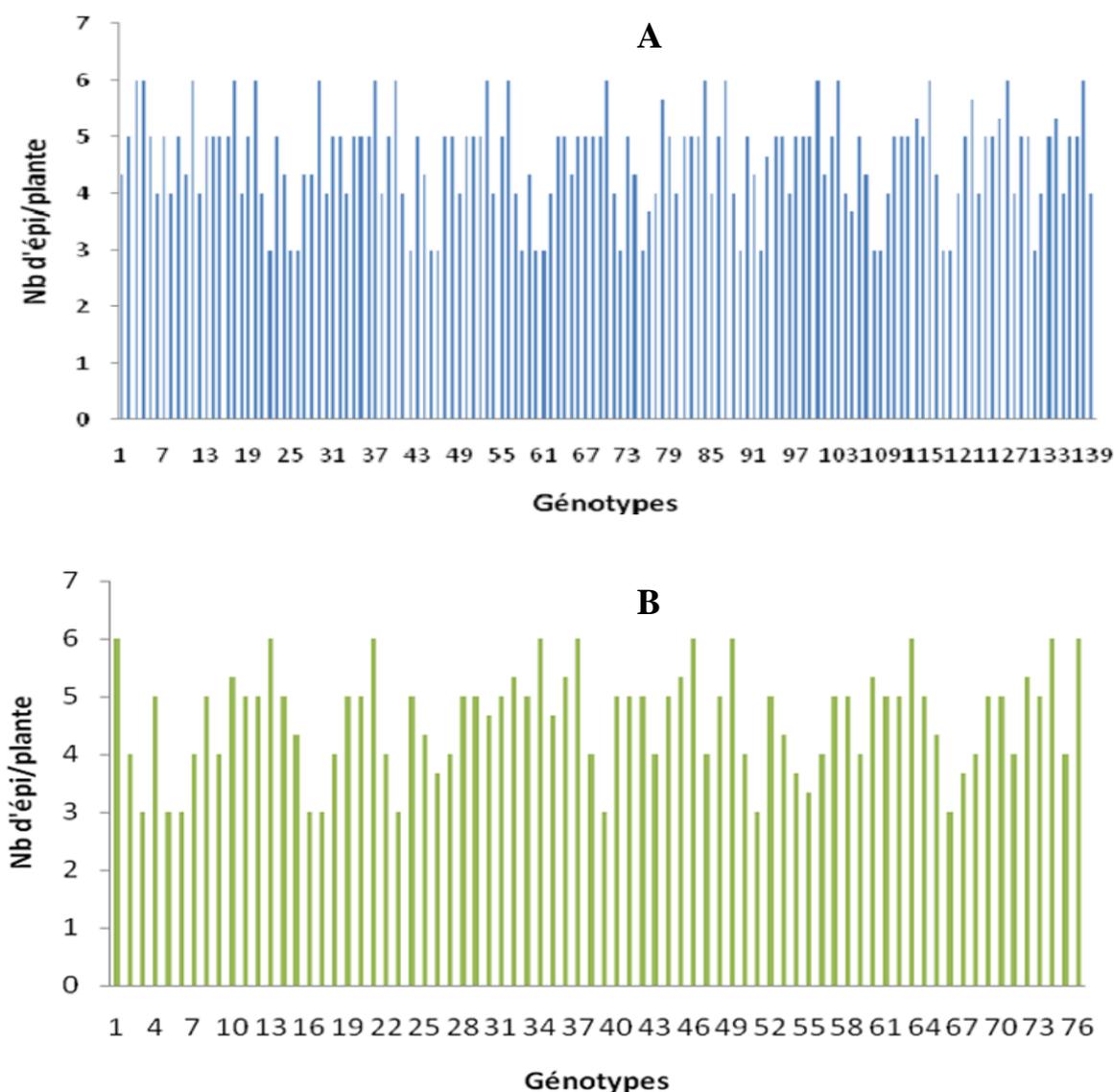
Les génotypes de la variété *leucomelan* G3, G4, G13, G14, G15, G50, G51, G52, G97, G98 et G99 ont un nombre de six épis, les génotypes G25, G26, G74 et G120 possèdent un nombre de cinq épis, en revanche les génotypes G22, G25, G26, G42, G45, G46, G58, G60, G61, G72, G75, G89, G92, G108, G109 ne comprenant que trois épis (Fig. 17A).

Cette variété enregistre des valeurs de 2 à 5 épis pour les valeurs minimales, de 3 à 7 pour les valeurs maximales, avec 0 à 2.34 pour écart type (Annexe 5).

Chez la variété *reichenbachi*, les valeurs moyennes sont également de 3 à 6 épis par plante. Le nombre d'épis le plus élevé s'observe chez les génotypes G19, G20, G21, G36, G37 et G74 et le plus faible chez les génotypes G3, G5, G6 et G39 (Fig. 17B).

Les valeurs minimales sont de 3 à 5 épis et de 3 à 7 épis pour les valeurs maximales avec un écart type de 0 à 2.82 (Annexe 6).

En conclusion, les génotypes G3, G4, G11, G17, G20, G29, G37, G40, G53, G56, G70, G84, G100, G103, G116, G127, G138, de la variété *leucomelan* et les génotypes G1, G8, G10, G11, G12, G13, G21, G34, G37, G46, G49, G63 et G74 de la variété *reichenbachii*, présentent les valeurs les plus élevées.



**Figure 17 (A et B) :** Nombre d'épis / plantes des 139 génotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 génotypes de la variété *reichenbachii*(B)

Le nombre d'épis est surtout lié au nombre de talles par plante (Shanahan *et al.*, 1985). Erroux, (1974) indique que la pénurie d'eau et d'éléments nutritifs entraîne un avortement des épillets de la base et du sommet de l'épi.

Selon Fonesca et Patterson, (1968) in Ilkeir *et al.*,(2010), la stérilité des épillets terminaux dépend du peuplement pieds et du coefficient de tallage, elle est fortement influencée par la densité du semis, le pourcentage de la levée et les caractéristiques variétales.

Rashidi *et al.*, (2013) en étudiant 64 génotypes de blé dur, ont montré que les génotypes ayant des longs épis et un nombre d'épi par plante élevé, sont prometteurs pour produire des rendements plus élevés. Ce trait est l'une des composantes du rendement les plus importantes qui ont un effet positif sur le rendement en grain.

Selon Gate *et al.*, (1993) le nombre d'épi subira une forte diminution si le déficit hydrique intervient durant la phase de montée de l'épi . En effet, il est plus courant d'observer, en cas de déficit hydrique, des réductions d'environ 10% à 25% du nombre d'épi qui peuvent être compensées par des composantes ultérieures (Hochman, 1982 et Deumier, 1987). Cette compensation dépend du parcours d'élaboration du rendement et des processus physiologiques liés aux génotypes : durée de vie des feuilles, taux de mobilisation des assimilés (Innes et Blackwell ,1981 ; Gate *et al.*, 1990).

### 3.4.2 Nombre d'épillets par épi ( NEP /E)

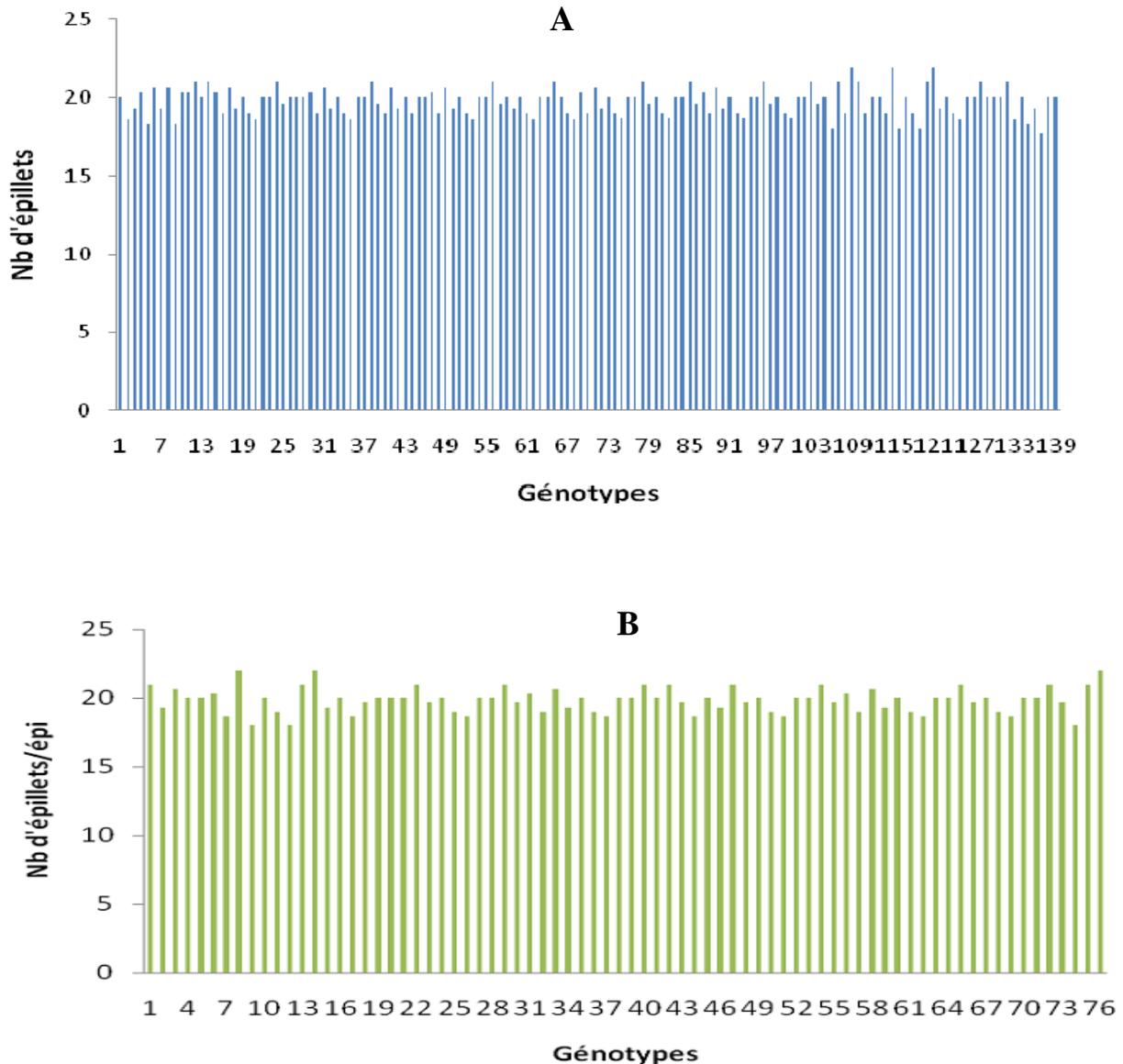
Le nombre d'épillets par épi varie de 17,7 à 22 épillets/épi chez la variété *leucomelan*, les génotypes G15, G16, G107, G108, G120 et G12 montrent un nombre d'épillets par épi le plus élevé, en comparant avec les génotypes G6, G9, G105 et G135 dont le nombre est le plus faible (Fig. 18A).

Cette variété enregistre des valeurs de 16 à 20 épillets pour les valeurs minimales, de 20 à 23 pour les valeurs maximales avec 1,41 à 5,65 pour écart type (Annexe 5).

Quant à la variété *reichenbachi* ,le nombre d'épillets par épi se situe entre 18 chez le génotype G74 et 22 épillets/épi est observé chez le génotype G8. Les génotypes G14, G22, G40, G42, G47, G75 et G76 se caractérisent par une densité d'épillets plus importante. Les plus faibles nombre d'épillets/épi est enregistré chez les génotypes G9, G12, G37, G44, G51 et G62 (Fig. 18B).

Cette variété enregistre des valeurs de 17 à 20 épillets pour les valeurs minimales, de 19 à 25 pour les valeurs maximales avec 0,47 à 4,24 pour écart type (Annexe 6).

La moyenne du nombre d'épillets par épi enregistrée est de 19.8 épillets/épi chez la variété *leucomelan*, alors qu'il est de 15 épillets/épi chez la variété *reichenbachi*.



**Figure 18(A et B)** : Nombre d'épillets /épi des 139 géotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 géotypes de la variété *reichenbachi* (B)

L'ensemble des géotypes étudiés montrent que les valeurs les plus élevées sont entre 20 et 22, à l'opposé des géotypes ayant des valeurs entre 17,7 et 19,7. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Zečević et *al.*,(2009) ; Acevedo et *al.*,(2002) ; Ashfaq et *al.*,(2003) in Khan et *al.*, (2010).

Le nombre de grains par épi dépend du nombre d'épillets par épi et du nombre de grains par épillet. Ces deux composantes s'élaborent progressivement entre fin tallage et floraison. Cependant, au sein de l'épi, tous les grains ne sont pas égaux : les épillets du milieu de l'épi, et les fleurs latérales au sein

d'un épillet (dans le cas du blé) sont prioritaires, et sont donc en théorie toujours présents sauf accident, à l'opposé des épillets du haut ou du bas de l'épi, où des fleurs du centre de l'épillet qui peuvent fréquemment disparaître au cours du stade montaison ( Arvalis,2016).

Le rendement en grain est sous grande influence des propriétés des épis, et l'interdépendance et la corrélation entre la longueur de l'épi et le nombre d'épillets par épi (Martincic *et al.*, 1996).

Le nombre d'épillets par épi joue un rôle très important dans l'augmentation possible du rendement en grain de nouveaux génotypes. Tous les fleurettes épillets ne sont pas fertiles et le nombre de fleurons fertiles dépend considérablement du génotype et des facteurs écologiques (Sabo *et al.*, 2002).

Les épillets apicales et basales sont souvent stériles, et dans chaque épillet le troisième fleuron (en comptant à partir de la base) est souvent stérile et le quatrième fleuron généralement stérile. En dehors de cette différence, les épillets et les fleurettes sont indiscernables à l'échéance (Stewart, 1950).

Les génotypes ont la plus grande part dans l'expression du nombre d'épillets stériles par épi (57,45%) ont ce qui signifie que la stérilité des épis dépend la plupart du temps des facteurs génétiques, (Zečević *et al.*, 2009).

### 3.4.3 Nombre des grains par épi (NG/ E)

Le nombre de grains par épi est moyen dans l'ensemble chez tous les génotypes de la variété *leucomelan*, leur nombre varie de 28 à 74 grains par épi. Les génotypes G11, G57, G105, G106 et G122 constituent le groupe le plus performant, par contre, les génotypes G98, G99, G100, G111, G125, G126 et G135 forment le groupe le moins performant et le reste des génotypes possèdent des valeurs intermédiaires (Fig. 19A. Annexe 5).

L'analyse de la variance à un facteur pour les génotypes de la variété *leucomelan* révèle une différence très hautement significative ( $F=5,535^{***}$  à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.24).

Tableau 24 : Le test de Newman - Keuls du nombre de grains par épi de la variété *leucomelan*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	138	15075,462	109,242	5,535	< 0,0001
Résidus	278	5486,896	19,737		
Total	416	20562,359			

Pour la variété *reichenbachi* le nombre de grains est de 28 à 71. Les génotypes G13, G14, G37, G38 et G44 développent plus de grains/épi, contrairement aux génotypes 17,18,49 et 50 dont le nombre de grains /épi est le moins élevé (Fig. 19B. Annexe 6).

L'analyse de la variance à un facteur pour les génotypes de la variété *reichenbachi* montre une différence très hautement significative ( $F=14,241^{***}$  à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.25).

Tableau 25: Le test de Newman - Keuls du nombre de grains par épi de la variété *reichenbachii*.

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	75	18388,419	245,179	14,241	< 0,0001
Résidus	152	2616,974	17,217		
Total	227	21005,393			

La moyenne du nombre de grains par épi est de 46,5 grains/épi chez la variété *leucomelan*, et de 49.5 grains/épi chez la variété *reichenbachii*.

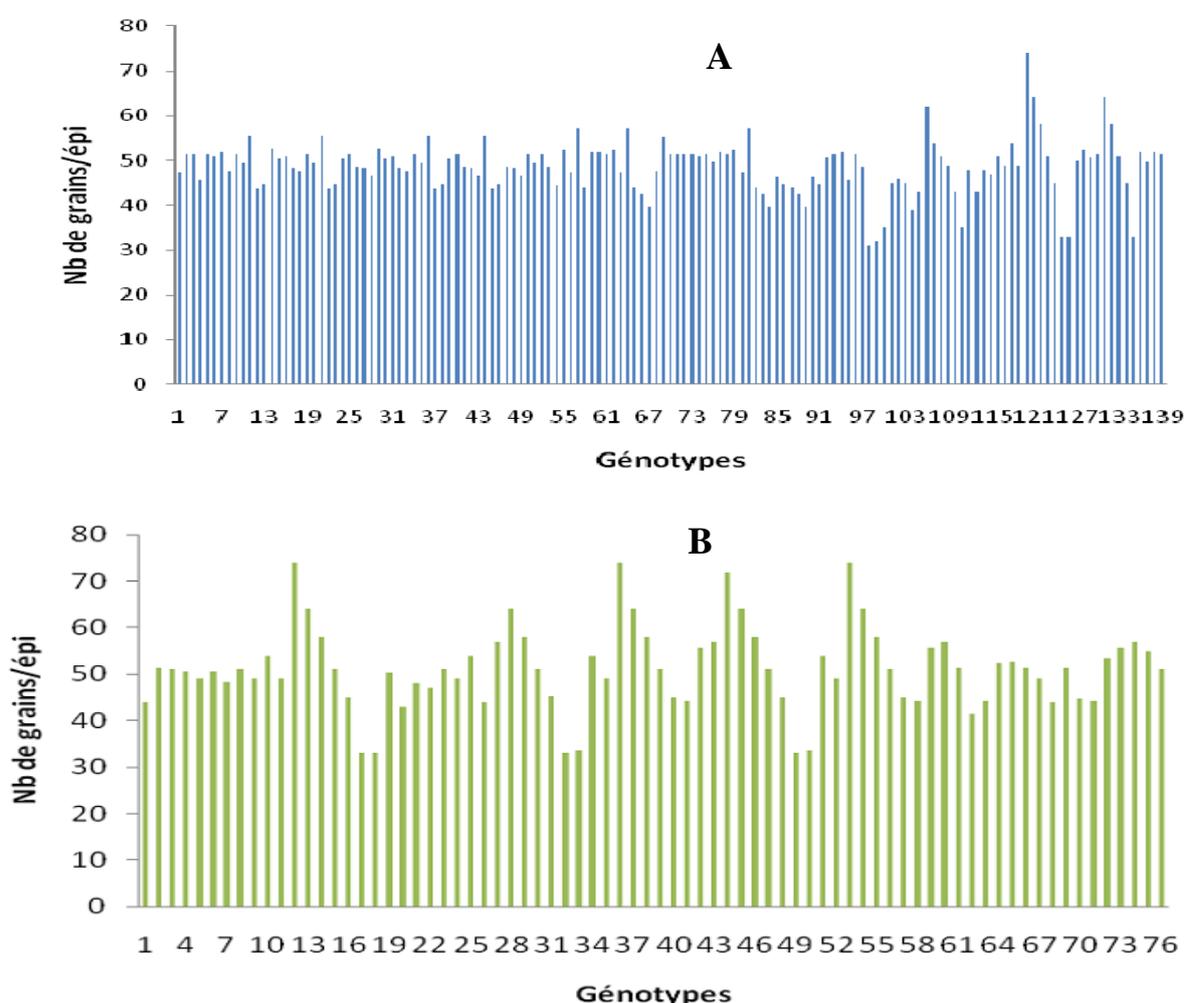


Figure 19(A et B) : Nombre de grains/épi des 139 génotypes de la variété *leucomelan* (A) et 76 génotypes de la variété *reichenbachii* (B)

L'analyse de la variance à un facteur globale des deux variétés rapporte une différence très hautement significative de ( $F= 8,542$  \*\*\* à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.26) et met en évidence plusieurs groupes (Annexe 10). Les principaux sont:

- les génotypes G12, G36, G53, G44 de la variété *leucomelan* et le génotype G120 de la variété *reichenbachi* qui se distinguent par une moyenne élevée, formant le groupe le plus performant.
- les génotypes G31, G48, G40, G16, G57, G70, G68, G 71, G41, G63, G58, G1, G26, G20, G50, G33, G49, G32, G62, G18, G17 de la variété *reichenbachi* et les génotypes G105, G110, G83, G88, G66, G84, G67, G89, G104, G100, G111, G135, G126, G125, G99, G98, G124, G134, G101, G103, G86, G87, G46, G91, G23, G38, G13, G54, G65, G58, G82, G12, G45, G37, G22 et G113 de la variété *leucomelan* constituent le groupe qui se caractérise par une moyenne faible (Annexe 5,6).

Tableau 26 : Le test de Newman - Keuls du nombre de grains par épi des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	214	34450,940	160,986	8,542	< 0,0001
Résidus	430	8103,871	18,846		
Total	644	42554,810			

Le nombre de grains par épi est une caractéristique variétale très influencée par le nombre d'épi/m<sup>2</sup> (Couvreur, 1981), il agit directement sur le nombre de grains /m<sup>2</sup>.

Les résultats recueillies pour ce paramètre rejoignent ceux de Couvreur, (1981) ; Nachit (1986) ; Hamada, (2002) ; Knezevic *et al.* ,(2012) qui ont montré que le nombre de grains par épi joue un rôle très important dans la variabilité de rendement et dépend de la fertilité des épillets. L'amélioration de rendement passe nécessairement par le raisonnement de nombre de grains par épi qui explique 75% des variations du rendement.

Le nombre de grains par épi est une composante directe de rendement, qui dépend de la longueur et la densité d'épis. Le nombre de grains est un trait très variable, résultant du nombre d'épillets et du nombre de fleurs par épillet, d'une part, et du succès de fertilisation et mise en grains dans les fleurs, d'autre part (Madic *et al.*, 2009 ; Nazco *et al.*, 2012).

Knezevic *et al.*,(2012) ,ont montré que le génotype et l'environnement ont une influence sur la variation du nombre de grains par épi et ont trouvé une valeur moyenne variant de 54,56 grains de cultivar Yougoslave, à 77,83 grains dans le cultivar Tanjugovka.

Au cours de la montaison, le manque d'eau affecte le rendement suite à la diminution de la fertilité, ce qui réduit le nombre de talles fertiles (talles épis) et le nombre de grains par épi (Eck, 1986 ; Boulassel, 1998). Le rendement augmente avec l'augmentation du nombre de grains .

Par ailleurs plusieurs auteurs entre autres Ben Abdallah, (1993) et Zair, (1994) rapportent que le déficit hydrique du printemps a un effet qui se manifeste surtout sur le nombre de grains par épi.

Selon Buckman, (1990) la densité de la culture est fonction du nombre de grains et de la survie des plantes.

### 3.4.4 Poids des grains par épi

La variété *leucomelan* montre des valeurs de poids de grains par épi allant de 1.05 à 4.19 g. Ce poids est élevé chez les génotypes G15,G16,G39,G70,G71,G95,G96 et G119 et réduit pour les génotypes G11,G12,G41,G75,G104 et G105 (Fig.20A) .

Cette variété enregistre des valeurs de 1.05 à 3.45g pour les valeurs minimales et de 1.73 à 4.19g pour les valeurs maximales avec un écart type de 1.39 à 3.82 (Annexe 5).

L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative pour le poids des grains par épi chez la variété *leucomelan* ( $F= 2,388^{***}$  à  $\alpha=0.0001$ ) (Tab.27).

Tableau 27 : Le test de Newman - Keuls du pois des grains par épi de la variété *leucomelan*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	138	42,654	0,309	2,388	< 0,0001
Résidus	278	35,980	0,129		
Total	416	78,634			

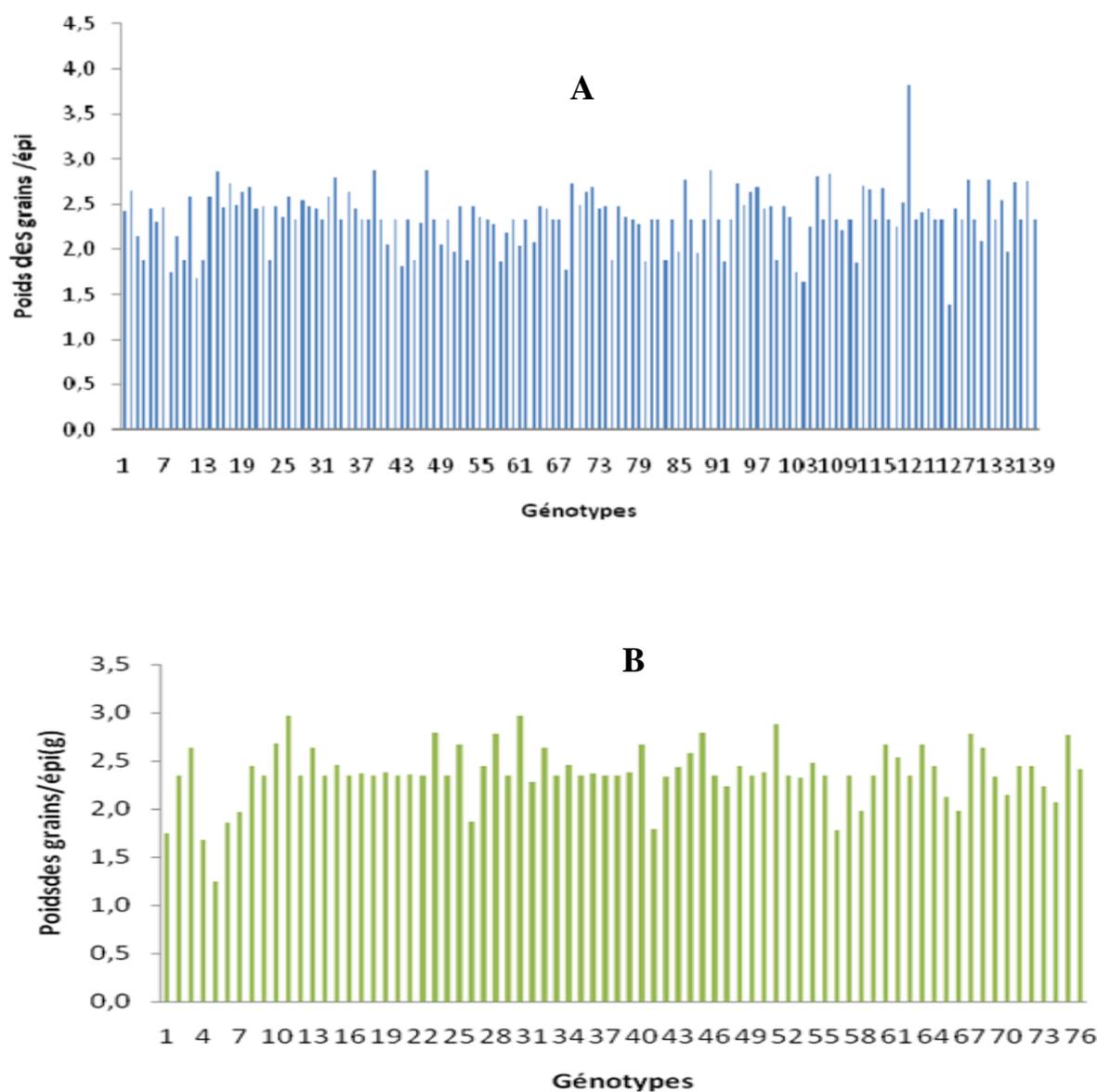
Chez la variété *reichenbachi*, le poids des grains est de l'ordre de 1.11 à 3.5g .Il est plus élevé chez les génotypes G11, G13, G23, G25,G52 et G75 de (2,3 à 2,97g ) et plus faible chez les génotypes G1, G5, G26, G41 et G56 de (1,25 à1,98g) (Fig. 20B).

La variété *reichenbachi* montre des valeurs de l'ordre de 1.11 à 2.74g pour les valeurs minimales et de 1.4 à 3.5g pour les valeurs maximales avec un écart type de 1.25 à 2.97 (Annexe 6).

L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative de  $F=2,778^{***}$  à  $\alpha =0.0001$  entre ces différents génotypes (Tab.28).

Tableau 28 : Le test de Newman - Keuls du pois des grains par épi pour la variété *reihanbachi*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	75	20,292	0,271	2,778	< 0,0001
Résidus	152	14,805	0,097		
Total	227	35,097			



**Figure 20(A et B) :** Poids des grains/épi des 139 génotypes de la variété *leucomelan* (A) et des 76 génotypes de la variété *reichenbachi* (B)

Par ailleurs l'analyse de la variance globale des deux variétés montre une différence très hautement significative pour ce paramètre ( $F=2,491^{***}$  à  $\alpha=0.0001$ ) entre les génotypes considérés (Tab.29).

Tableau 29 : Le test de Newman - Keuls du poids des grains par épi des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi*

Source	ddl	SCM	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	214	62,967	0,294	2,491	< 0,0001
Résidus	430	50,785	0,118		
Total	644	113,752			

Deux composantes déterminent le rendement en grains chez les céréales : le nombre de grains par unité de surface et le poids du grain. L'élaboration de ces deux composantes se déroule en des périodes et phases dont l'étude se révèle d'importance capitale. Chez le blé, la phase de croissance du grain conditionne en large partie le rendement en grain final à travers son action sur le poids du grain (Erchidi *et al.*, 2000).

### 3.5.4 Conclusion

Il est à signaler que les génotypes de la variété *rechenbachi* présentent un nombre d'épillets par épi et un nombre de grains par épi plus élevés comparant avec les génotypes de la variété *leucomelan*.

### 3.5 Etude de la variabilité

Pour comparer la variabilité des deux variétés, une analyse en composantes principales(ACP) est effectuée sur une matrice de données d'une population de 215 génotypes appartenant aux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* en fonction des 11 variables (LEP, LB, LC, HP, CHT, LAF, LOF, NE, EP, NG, PG) considérées dans cette étude.

L'analyse en composantes principales a permis de mettre en évidence que les 4 axes fournissent une information de 18.5%, 12.25%, 10.96% et 10.04% respectivement soit un total de 52 ,11% (Tab.28).

Tableau 30 : Contribution à la variation totale des principaux axes

	Axe1	Axe 2	Axe 3	Axe 4
% variabilité	18,500	12,255	10,960	10,043

#### 3.5.1 La matrice des corrélations des variables

L'analyse de corrélations entre les paramètres mesurés montre l'existence de liaisons positives et négatives entres ces paramètres, celles-ci varient d'une faible à une forte liaison (Tab.31).

Il apparait que la longueur d'épi (LEP) est positivement et moyennement corrélée avec la hauteur de la plante(HP)  $r=0.47$ .

La longueur du col (LC) est positivement corrélée avec la hauteur de la plante(HP)  $r=0.55$ .

Tableau 31: Matrice des corrélations entre les variables.

	LEP	LB	LC	HP	CHT	LAF	LOF	NE	EP	NG	PG
LEP	1										
LB	0,275	1									
LC	0,277	0,026	1								
HP	<b>0,474</b>	0,123	<b>0,511</b>	1							
CHT	0,155	0,069	0,052	0,057	1						
LAF	0	-0,093	0,035	0,027	0,031	1					
LOF	-0,004	0,068	0,096	0,161	0,045	-0,184	1				
NE	0,111	0,1	0,064	0,033	0,062	0,058	0,065	1			
EP	-0,104	-0,072	-0,075	-0,082	0,018	0,004	-0,019	-0,016	1		
NG	0,04	-0,064	-0,072	-0,146	0,027	-0,063	-0,073	0,032	0,011	1	
PG	0,049	0,044	0,013	0,021	-0,016	-0,004	-0,072	-0,018	0,093	0,289	1

3.5.2 Etude des variables

D'après la figure (21 ) soit le plan (1-2) apporte une information de 30,75%. L'axe 1 est formé du côté positif principalement par les variables : la longueur d'épi(LEP), la hauteur de la plante(HP) et la longueur du col (LC). Cette analyse montre que ces variables morphologiques semblent déterminantes dans l'élaboration végétale. Cet axe peut donc être qualifié comme axe morphologique.

Les variables qui participent à la constitution de l'axe 2 sont : le nombre de grains/épi (NG/E) et le poids de grains/épi (PG/E) du côté positif. Cet axe est un axe de rendement.

Sur le plan (1-3), l'axe 3 avec 10.96% d'information est formé du côté positif par la largeur de la feuille étendard (LAF) et du côté négatif par la longueur de la feuille étendard(LOF) (Fig. 21 B).

Le plan (1-4), la figure 21 C, montre que l'axe 4 est déterminé du côté positif par le nombre d'épillets par épi (NE) et la chlorophylle totale (CHT).

On remarque que dans ce plan les deux axes 1 et 4 ne sont pas représentés du côté négatif.

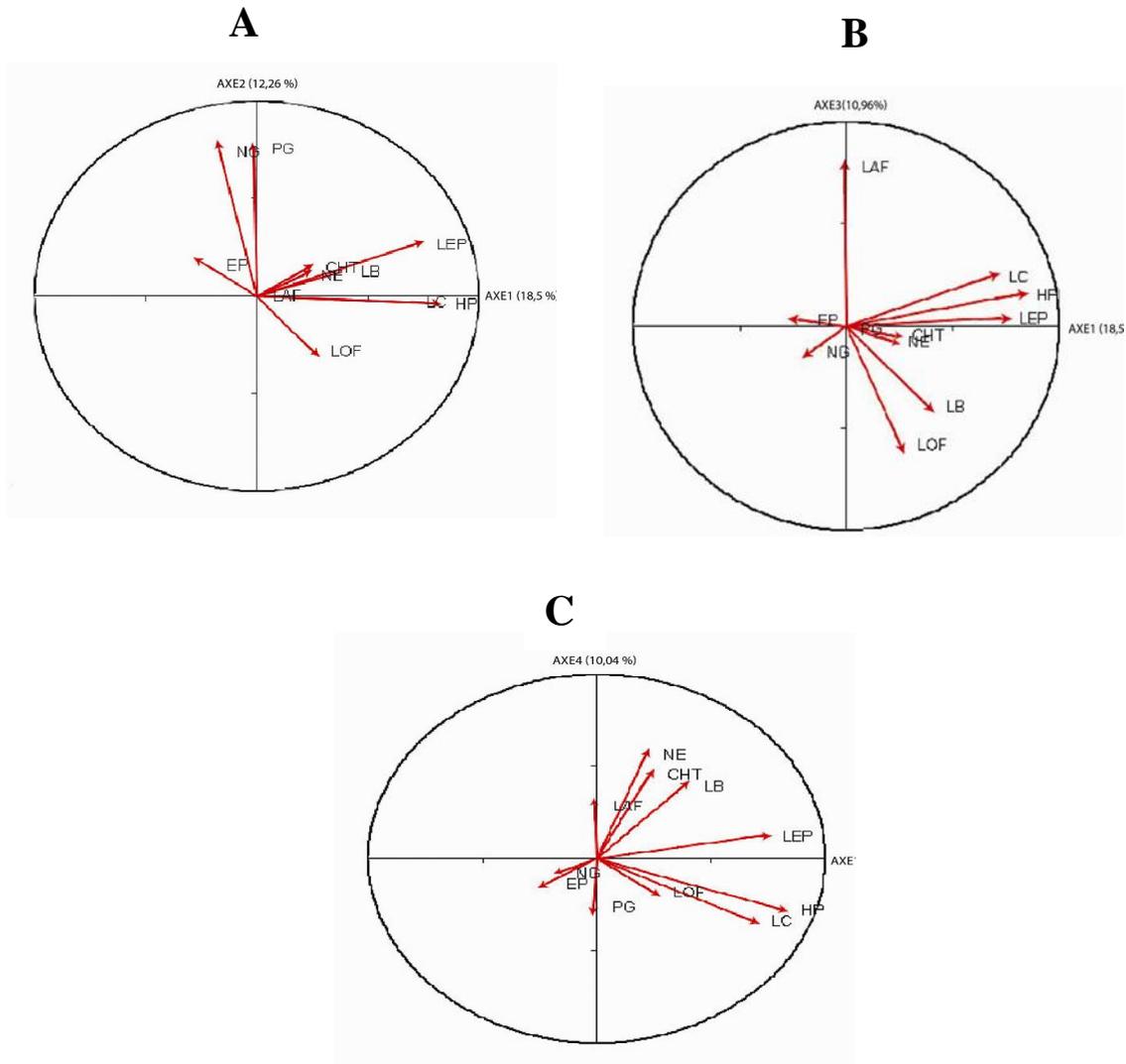


Figure 21(A, B, C): Cercles de corrélations des variables dans les plans (1-2 A),le plan (1-3 B) et le plan (1-4 C)

### 3.5.3 Etude des individus

La dispersion des individus est étudiée dans les trois plans 1-2, 1-3 et 1-4. L'analyse en composantes principales a permis de répartir les différents génotypes des deux variétés en groupes très distincts.

Dans le plan 1-2 la représentation graphique des génotypes montre une large dispersion des nuages des points appartenant aux deux variétés étudiées. Toutefois beaucoup sont concentrés dans la partie médiane du plan.

Les génotypes G8, G12, G23, G26, G30, G43, G44, G45, G49, G53, G113, G119 et G121 de la variété *leucomeulan* et les génotypes G4, G5, G19, G20, G33, G34, G39, G42, G43, G44, G45, G49, G50, G51, 19, 32, 67 et 70 de la variété *reichenbachi* forment un nuage du côté positif de l'axe 1 (Fig.22). Ces génotypes se caractérisent par une hauteur de la plante, une longueur du col, une longueur d'épi et longueur du barbe élevé.

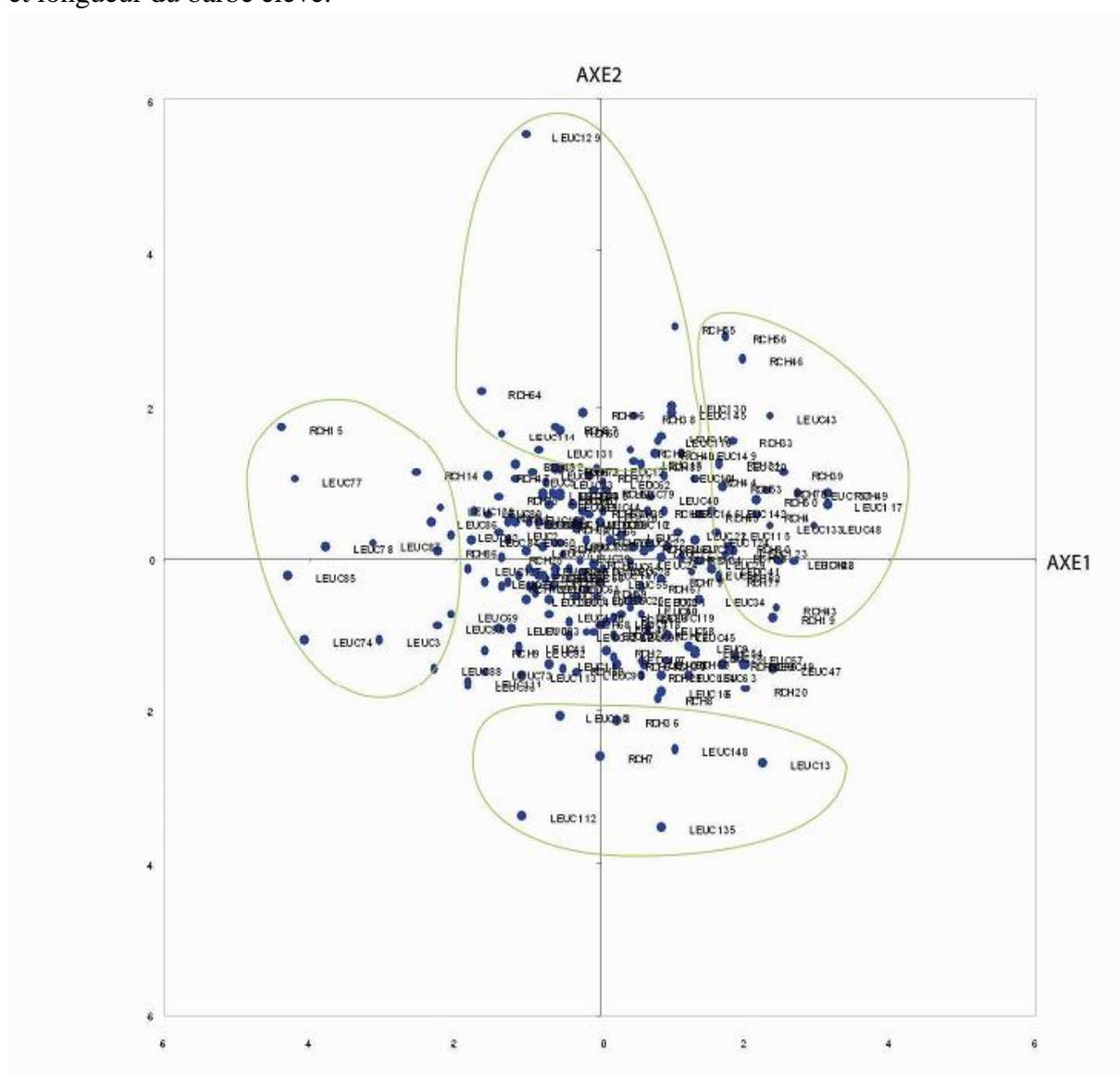
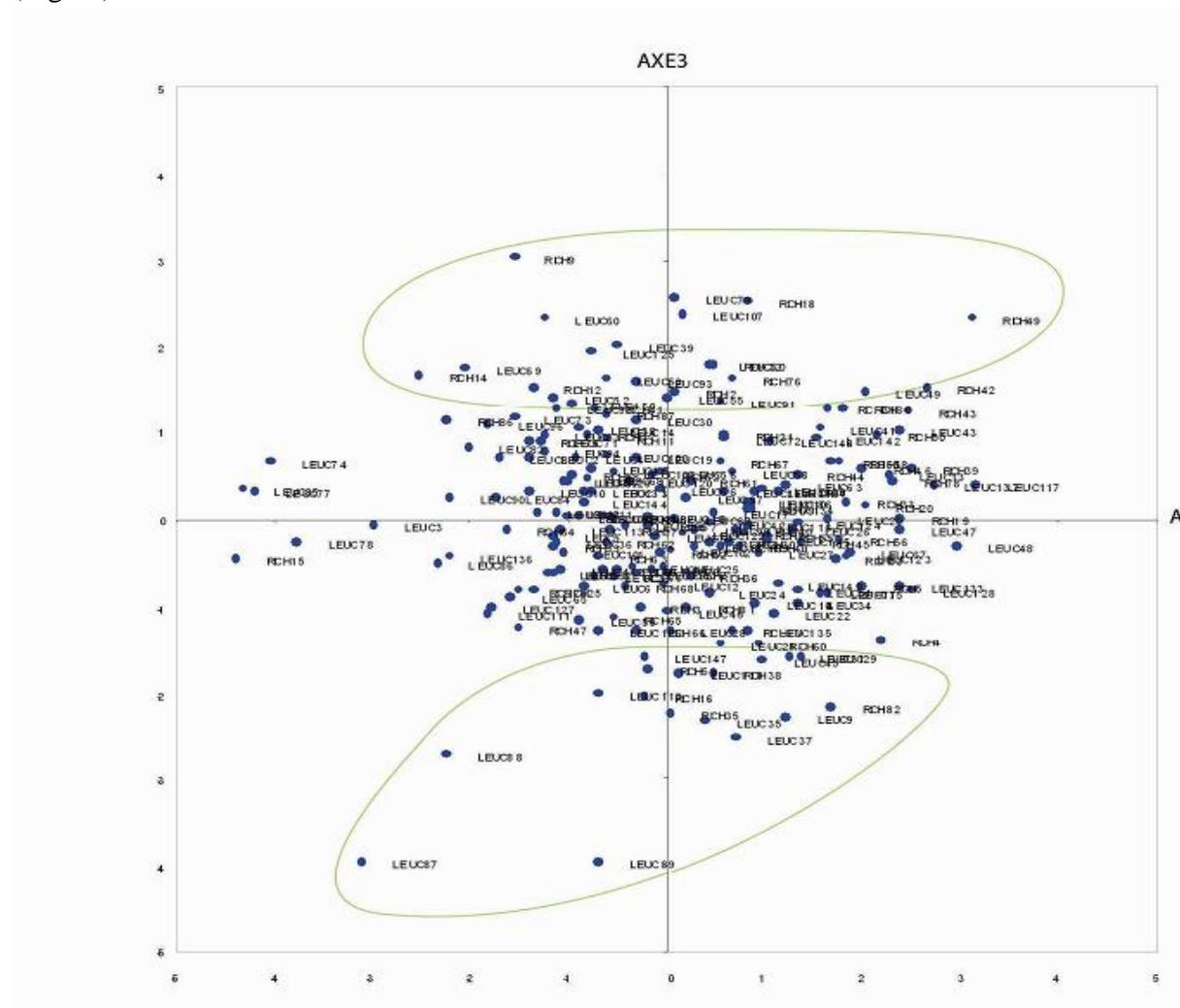


Figure 22 : Représentation graphique des 215 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* dans le plan 1-2 de l'ACP.

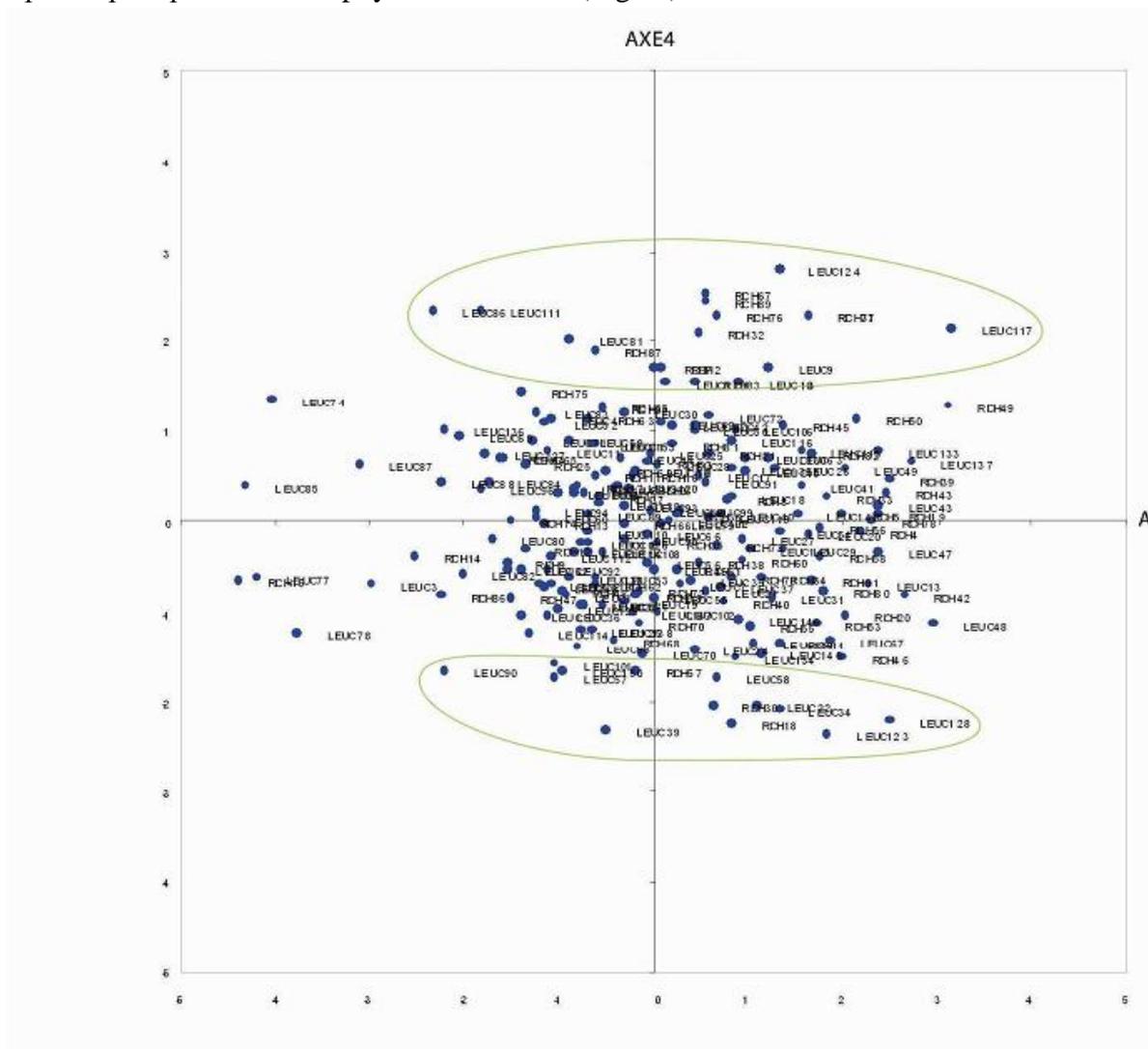
Dans ce plan, il apparait également la formation d'un nuage du côté positif de l'axe comprenant les génotypes G12, G17, G19, G23, G40, G114, G116, G129, G130, G131, G145 de la variété *leucomelan* et les génotypes G13, G37, G38, G40 et G46 de la variété *reichenbachii* lesquels présentent un nombre de grains (NG) et un poids de grains/épi (PG) élevés contrairement aux génotypes G08, G112, G113, G135, G148 de la variété *leucomelan* et les génotypes G7, G36 de la variété *reichenbachii* qui constituent un groupe se situant du côté négatif.

**le plan 1-3** montre une dispersion plus large des génotypes et fait ressortir sur l'axe 3, deux nuages qui s'opposent par la largeur de la feuille étandard (LAF) et la longueur de la feuille étandard (LOF). On observe du côté positif de cet axe, le nuage des points comprenant les génotypes G38, G50, G52, G53, G60, G79, G80, G82, G83, G90, G91, G92, G93, G107 et G125 de la variété *leucomelan* et les génotypes G9, G18, G19 et G41 de la variété *reichenbachii* qui se distinguent par une taille importante de la feuille étandard, à l'inverse qui se trouvent du côté négatif de l'axe les génotypes G9, G35, G37, G45, G87, G88, G89, G110, G113 et G147 de la variété *leucomelan* et les génotypes G5, G35, G38 et G82 de la variété *reichenbachii* signifiant des plantes à feuille étandard plus petite (Fig.23).



**Figure 23:** Représentation graphique des génotypes des 2 variétés *leucomelan* et *reichenbachii* dans le plan 1-3

**Sur le plan 1-4** la dispersion des génotypes laisse apparaître du côté positif de l'axe 4 un nuage constitué par les génotypes G25, G30, G42, G61, G62, G72, G86, G97, G104, G111, G118, G124 et G132 appartenant à la variété *leucomelan* et les génotypes G2, G14, G21, G31, G32, G39, G56, G63, G64, G67, G73 et G76 de la variété *reichenbachii*. Ces génotypes se caractérisent par un nombre d'épillet par épi (Nbr Ep /Ep) élevé et un taux de chlorophylle (CHT) important. En revanche du côté négatif le nuage est formé des génotypes G22, G22, G34, G39, G57, G90, G123, G128 et G134 de la variété *leucomelan* et des génotypes G18, G30 et G57 de la variété *reichenbachii* dont le nombre d'épillet par épi et la chlorophylle sont réduits (Fig 24).



**Figure 24 :** Représentation graphique des génotypes des 2 variétés dans le plan 1-4

Dans certains travaux, il apparaît que la hauteur de la plante et le rendement sont corrélés de façon positive. Cependant, d'autres études réalisées par Bouzerzour et Hafsi, (1993) ; Meziani *et al.*, (1993) ; Hamada (2002) ont montré que les variétés à paille courte produisent mieux que celles à paille haute en zones semi-arides.

L'étude du col a toutefois un déterminisme génétique plus complexe que celui de la hauteur de la plante (El- Hakimi, 1995) .Le rôle de ce caractère s'expliquerait par les quantités d'assimilats stockés

dans cette partie de la plante susceptibles d'être transportés vers le grain en conditions de déficit hydrique terminal (Gate *et al.*, 1993).

Les composantes du rendement entrent en concurrence entre elles, mais l'intensité de cette concurrence va dépendre des conditions de croissance (rayonnement, eau, azote) et de la variété, (Deswarte, 2016). L'analyse des composantes du rendement des céréales est aujourd'hui un outil pour porter un diagnostic sur le système de cultures en vue de leur amélioration (Maynard *et al.*, 1994 ; Maachi, 2005).

Triboi et Ollier, (1990) ont montré un faible rendement en grains chez les populations à épis longs, qu'ils expliquent par la stérilité de leurs épillets. Alors que pour les populations à épis courts, les rendements sont élevés liés à la fertilité de leurs épillets. l'étude réalisée par Kahali, (1995), a montré que le rendement est lié positivement à la longueur de l'épi.

Le nombre de grains /épi et le poids de grains/épi sont les composantes principales du rendement, elles sont influencés par les caractéristiques variétales (Belaid, 1987).

Le rendement en grains par plante peut être amélioré en sélectionnant les génotypes ayant plus des épillets par épis, le nombre de grains par épis et le poids du grain par épis (Chowdhry *et al.*, 2000 ; Ashfaq *et al.*, 2003).

Meynard, (1987) rapporte que lorsque le remplissage du grain se fait dans des conditions de croissance favorables, le poids de l'épi au stade épiaison est un bon indicateur du rendement.

Baldy, (1973) a montré que dans les conditions du milieu non limitantes les génotypes à feuilles étendards relativement grandes ont toujours un rendement en grains supérieur. Par contre, Gate, (1995) montre que dans les situations d'alimentation hydrique limitée ce paramètre peut être utilisé comme un indice de sélection pour obtenir un rendement élevé, parce que les génotypes à petite surface foliaire tolèrent mieux le déficit hydrique par rapport aux variétés à grande surface foliaire.

### 3.5.4 Conclusion

L'analyse en composantes principales a permis de mettre en évidence la formation de 8 groupes qui se différencient par les aspects phéno- morpho-physiologiques et les composantes des rendements :

- le premier groupe est formé par certains génotypes appartenant à la variété *leucomeulan* et à la variété *reichenbachi*, regroupant les plantes les plus développées par rapport au longueur du col, hauteur de la plante longueur d'épi et longueur de la barbe (paramètres morphologiques).
- le deuxième groupe constitué par un certain nombre de génotypes dont les plantes sont moins développées.
- le troisième groupe comprenant quelques génotypes de la variété *leucomelan* et 5 de la variété *reichenbachi* qui se caractérisent par un rendement plus élevé.
- le quatrième groupe composé de 5 génotypes de la variété *leucomelan* et seulement de 2 génotypes de la variété *reichenbachi* comprend les plantes les moins performantes de point de vue rendement.

- le cinquième groupe comprend 11 géotypes de la variété *leucomelan* et 4 géotypes de la variété *reichenbachi* se caractérisant par une largeur de la feuille étandard importante.
- le sixième groupe est formé de 10 géotypes de la variété *leucomelan* et 4 géotypes de la variété *reichenbachi* dont les plantes se distinguent par une longueur de la feuille étandard élevée.
- le septième groupe est constitué de 10 géotypes de la variété *leucomelan* et 4 géotypes de la variété *reichenbachi* qui possèdent un nombre d'épillets par épi élevé et un fort taux de chlorophylle.
- le huitième groupe comprenant 10 géotypes de la variété *leucomelan* et 3 géotypes de la variété *reichenbachi* s'oppose au précédent par de faibles taux de la chlorophylle et du nombre d'épillets par épi.

### 3.6. Analyse des marqueurs moléculaires

Deux types des marqueurs RAPD et ISSR sont utilisés pour essayer de déterminer le polymorphisme Intra et inter- variétale d'une accession de géotypes sélectionnés à partir des résultats obtenus des paramètres phéno-morpho-physiologiques et rendement.

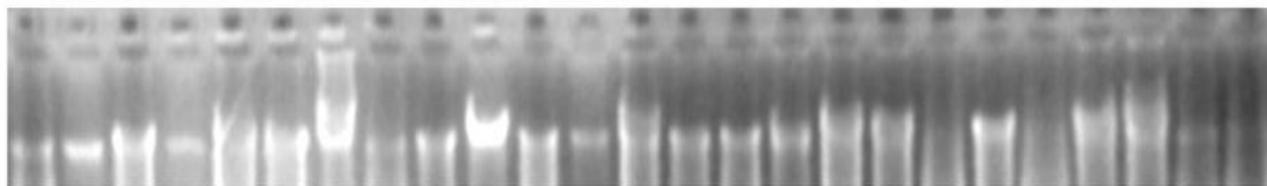
#### 3.6.1 Analyse du marqueur RAPD

Les marqueurs RAPD sont des marqueurs dominants qui sont largement utilisés dans la cartographie génétique et l'identification des loci liés à différents traits, en raison de leur simplicité (moins coûteuse), de leur rapidité et de la fiabilité des résultats. Pour cette raison on a utilisé 2 fois cette technique, la première fois avec 50 géotypes et 10 amorces. La deuxième fois on a sélectionné parmi les 50 géotypes, 20 les plus proches génétiquement en utilisant différentes amorces et différents protocoles et techniques d'analyse.

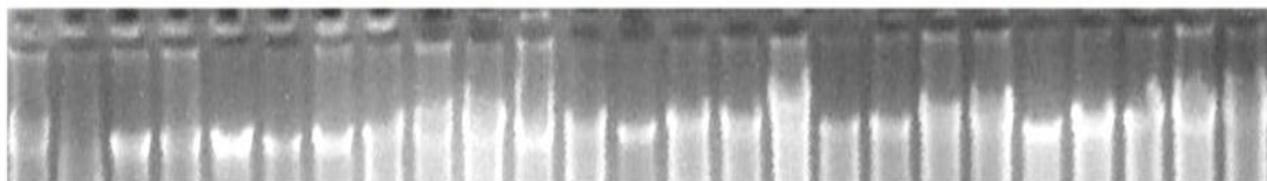
##### 3.6.1.1 Analyse des marqueurs RAPD pour cinquante géotypes

La qualité des échantillons d'ADN génomique dilué et purifié a été vérifiée par électrophorèse sur des gels d'agarose à 1% (fig.25).

L95 L28 L61 L138 L93 L139 L17 L99 L74 L111 L136 L137 L20 L88 L14 L45 L72 L132 L113 L92 L120 L15 L26 L57 L119



R76 R68 R26 R36 R31 R4 R15 R19 R18 R14 R11 R32 R59 R8 R35 R34 R38 R57 R63 R41 R67 R53 R52 R75 R72



**Figure 25:** Electrophorogramme de 50 génotypes de blé dur des deux variétés *leucomelan* (L) et *rechenbachi* (R)

Les 10 amorces que nous avons utilisées ont répondu positivement en nombres de bandes/amorce et de nombreuses bandes se sont avérées polymorphes. Chaque bande correspond à l'amplification de la séquence d'ADN amplifiée (Fig.26 ).

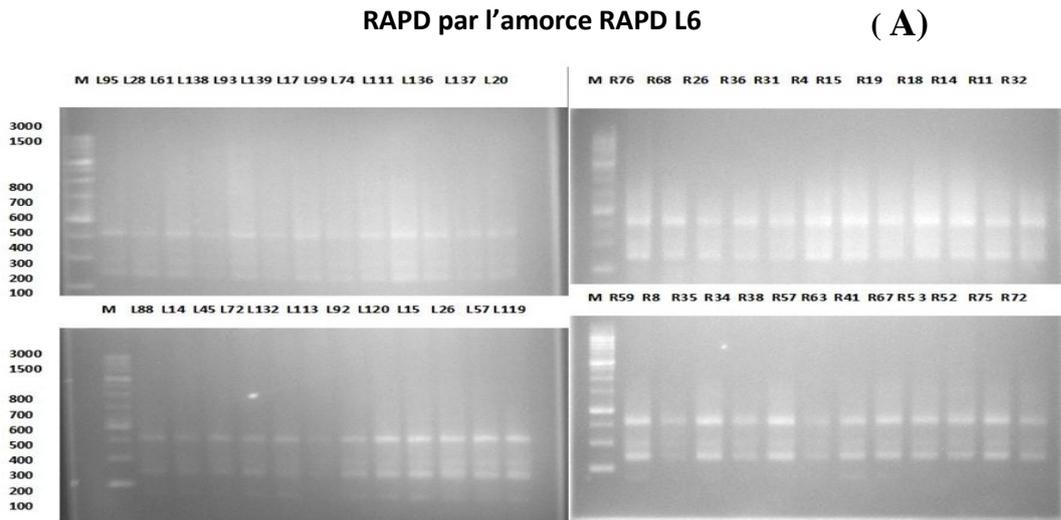
Les fragments d'ADN amplifiés se situent entre 0 et 6 bandes. Les différentes amorces produisent un nombre d'amplificats allant de 2 pour l'amorce RAPD b3 à 7 pour l'amorce RAPD b10, la taille des fragments amplifiés s'échelonnent entre 100 à 1600pb. Il apparaît que sur les 38 fragments obtenus, 33 sont polymorphes (Tab.32 ).

### Amorce RAPD L6

L'amorce RAPD L6 a montré 4 bandes au total avec un poids moléculaire de 500 pb, 300pb, 220pb et 100 pb respectivement , 2 bandes polymorphes dont les poids moléculaire sont de 500 pb et 220pb et 2 bandes monomorphes avec un poids moléculaire de 300pb et 100bp avec un polymorphisme de 50% pour l'ensemble des génotypes.

Les génotypes G95, G28, G92, G120, G15, G26 et G119 de la variété *leucomelan* et G59, G63 de la variété *reichenbachi* sont caractérisées par 4 mêmes bandes dont les poids moléculaires sont de 100 pb, 220pb, 300pb et 500 pb respectivement.

Les génotypes G61, G138, G93, G17, G99, G74, G111, G136, G137 et G57 de la variété *leucomelan* et G35,G38,G41,G67,G53,G52,G75 et G72 de la variété *reichenbachi* montrent 3 bandes dont 2 sont monomorphes et 1 bande polymorphe avec un poids moléculaire de 220pb. (Tab. 32 et Fig. 26 A).

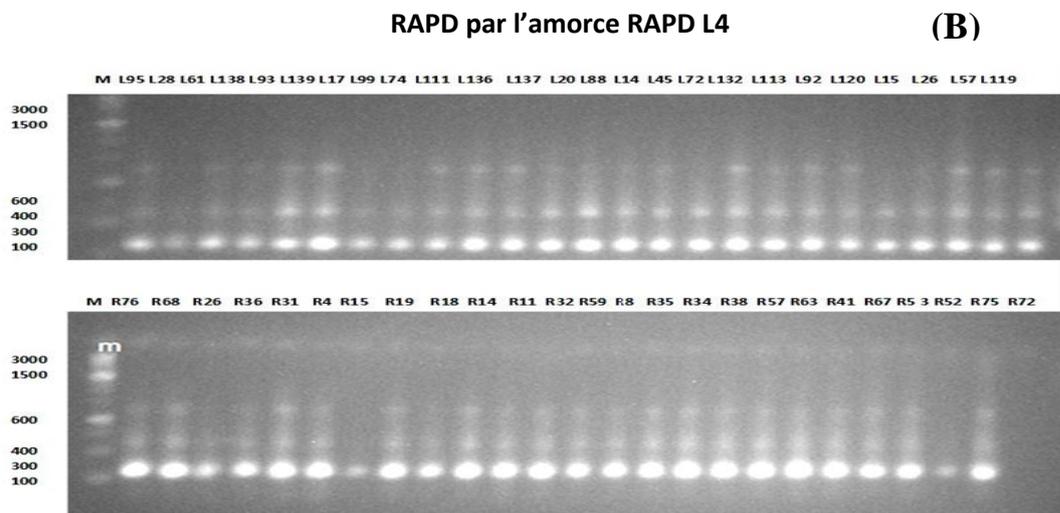


**Figure 26(A)** : Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* générés par l'amorce RAPDL6

#### Amorce RAPD L4

L'amorce RAPD L4 a révélé 3 bandes au total avec les poids moléculaires de 600 pb, 350pb et 150 pb respectivement, 1 bande monomorphe avec un poids moléculaire de 600pb et 2 bandes. Le taux de polymorphisme est de 66%.

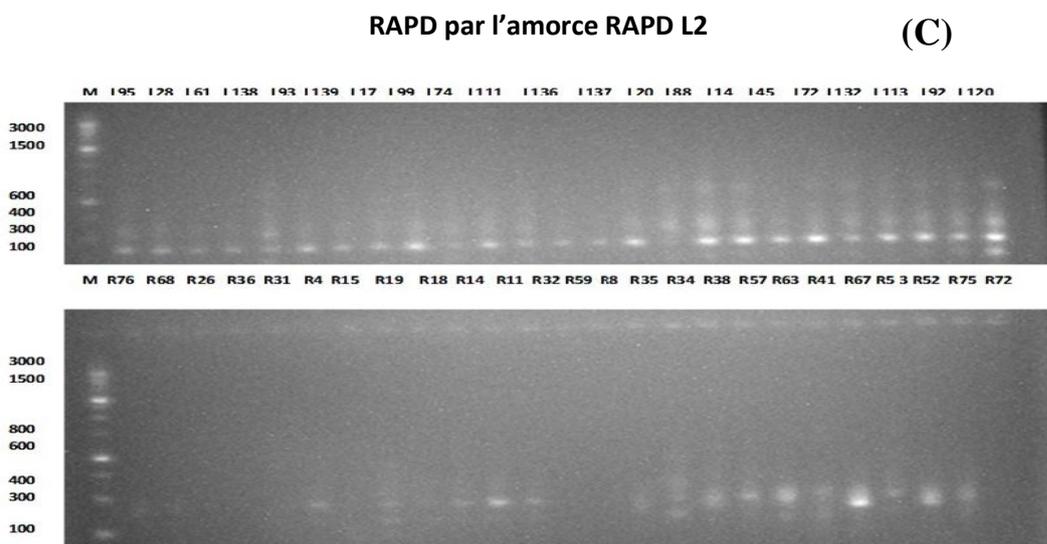
Les génotypes G28 de la variété *leucomelan* et G26, G15 et G75 de la variété *reichenbachi* présentent 1 seule bande de poids moléculaire égal à 600pb (Tab. 32 et Fig. 26 B).



**Figure 26(B)** : Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* générés par l'amorce RAPDL4

### Amorce RAPD L2

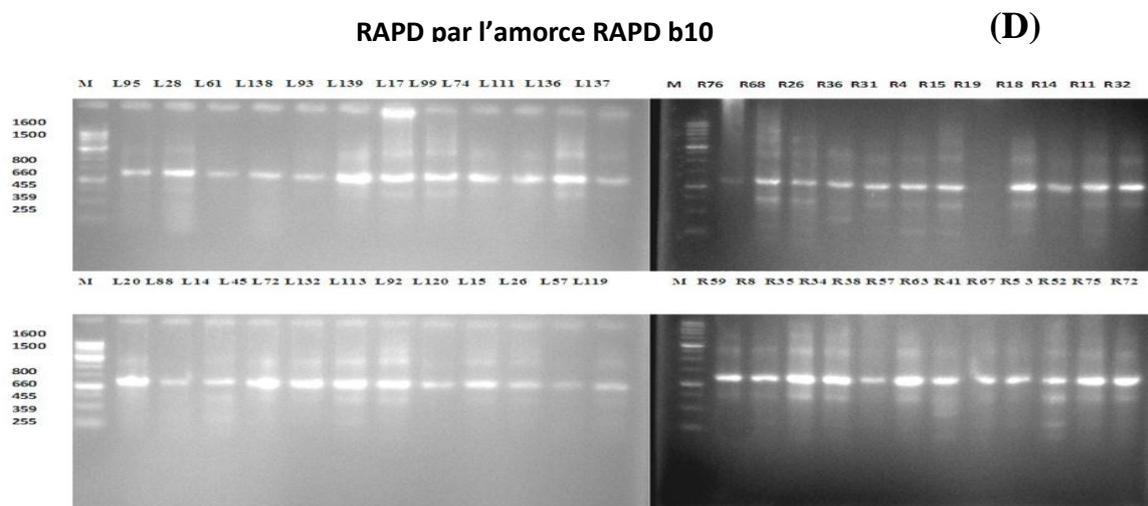
L'amorce RAPD L2 a permis d'enregistrer 4 bandes au total avec des poids moléculaires de 680 pb, 400pb, 380pb et 125 pb respectivement. Les produits de l'amplification issus de cette amorce montrent un polymorphisme de 100%. Les génotypes G57 et G119 de la variété *leucomelan* présentent le nombre de bandes le plus élevé de 4 bandes, alors qu'aucune bande n'est enregistrée chez les génotypes G26, G36, G31, G19 et G72 de la variété *reichenbachi* (Tab. 32 et Fig. 26 C).



**Figure 26(C) :** Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* générés par l'amorce RAPDL2

### Amorce RAPD b10

L'amorce RAPD b10 a révélé au total 7 bandes polymorphes de poids moléculaire de 1600 pb, 1500pb, 800pb, 660pb, 455pb, 359pb et 255 pb respectivement. Les génotypes G26, G18 et G52 de la variété *reichenbachi* présentent 6 bandes communes dont le poids moléculaire est de 255 pb, 359pb, 455pb, 660pb, 1500pb et 1600 pb respectivement. Chez le génotype G19 de cette variété aucune bande n'a été détectée (Tab. 32 et Fig. 26 D).



**Figure 26(D) :** Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *reichenbachi* et *leucomelan* générés par l'amorce RAPDb10

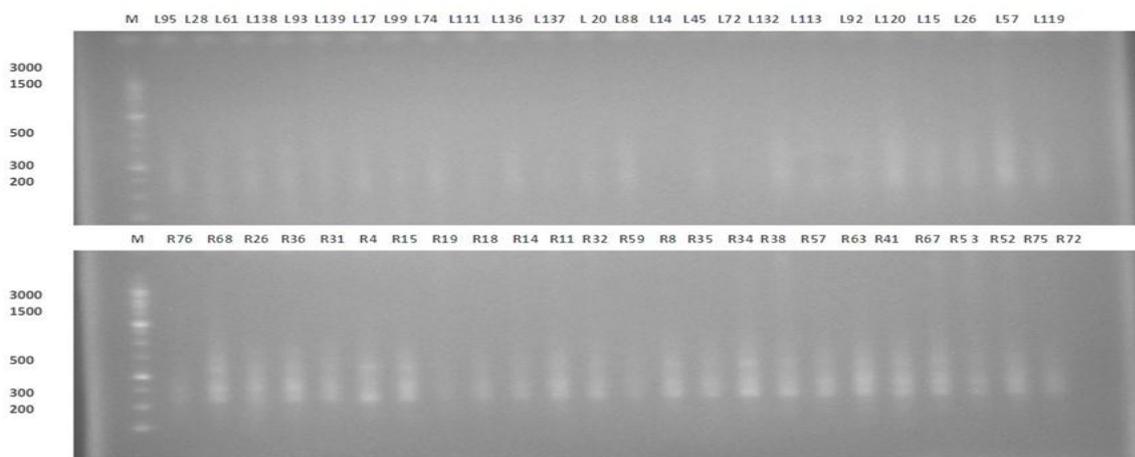
**Amorce RAPD b13**

Les produits de l'amplification issus de cette amorce montrent un polymorphisme de 100%, l'ensemble des génotypes des deux variétés enregistrent au total 3 bandes polymorphes avec les poids moléculaires de 550 pb, 390pb et 245 pb.

L'ensemble des génotypes de la variété *reichenbachi* résultent les trois bandes. Les génotypes G61, G138, G139, G99, G72, G120, G15, G57 de la variété *leucomelan* et les génotypes G31, G32, G63, G53, G52 de la variété *reichenbachi* présentent les mêmes 2 bandes avec les poids moléculaires de 390pb et 550pb. (Tab. 32 et Fig. 26 E).

(E)

**RAPD par l'amorce RAPD b13**



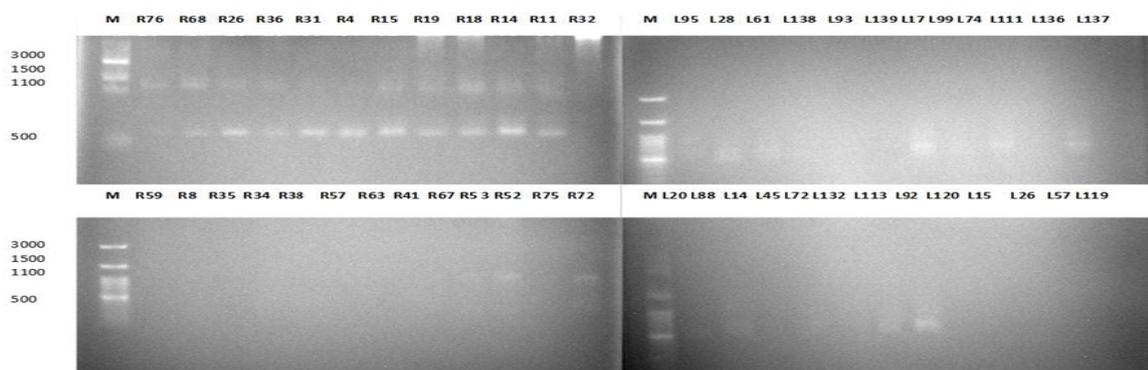
**Figure 26(E) :** Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* générés par l'amorce RAPD b13

**Amorce CRAPD1**

L'amorce CRAPD1 a montré que 3 bandes avec des poids moléculaires de 1550 pb, 1100pb et 560 pb respectivement. Les 50 génotypes sont hautement polymorphes avec un taux de 100%.

Les génotypes G28,G61,G74,G20,G88,G132 de la variété *leucomelan* et G31,G4 et G52 de la variété *reichenbachi* ne donnent qu'une seule bande avec un poids moléculaire de 1550 pb (Tab. 32 et Fig. 26 F).

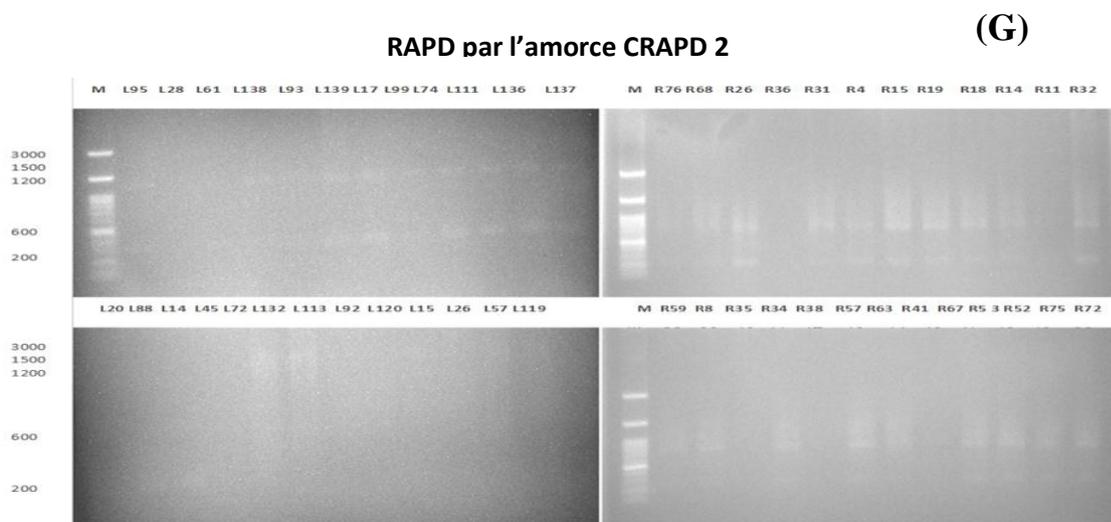
(F)



**Figure 26(F) :** Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* générés par l'amorce CRAPD1

### Amorce CRAPD2

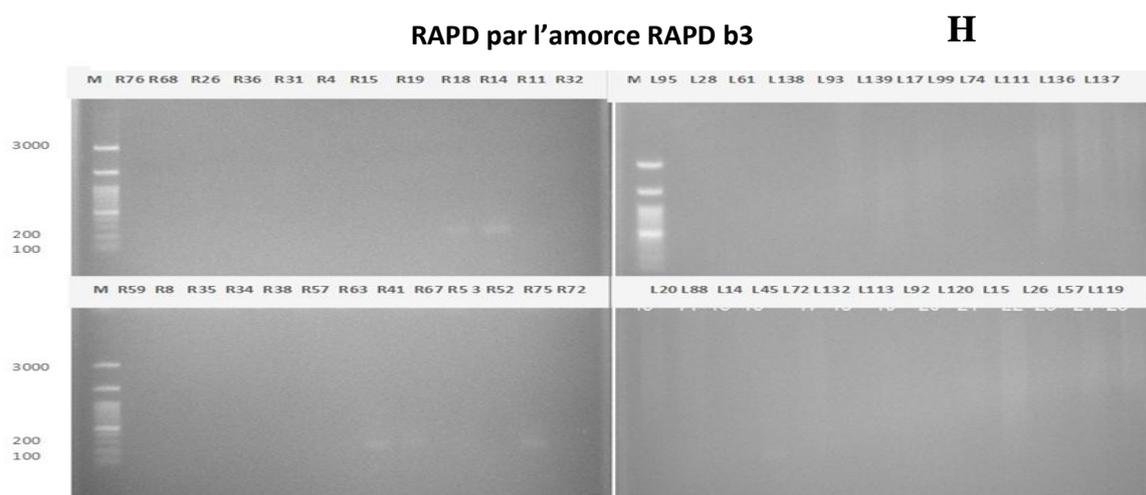
L'amorce CRAPD2 montre 3 bandes avec des poids moléculaires de 1200 pb , 645pb et 220 pb et un polymorphisme de 100%. Elle se révèle comme étant un marqueur spécifique pour le génotype G 132 de la variété *leucomelan* [ 220 pb (+)] (Tab. 32 et Fig. 26 G).



**Figure 26(G) :** Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachii* générés par l'amorce CRAPD2

### Amorce RAPD b3

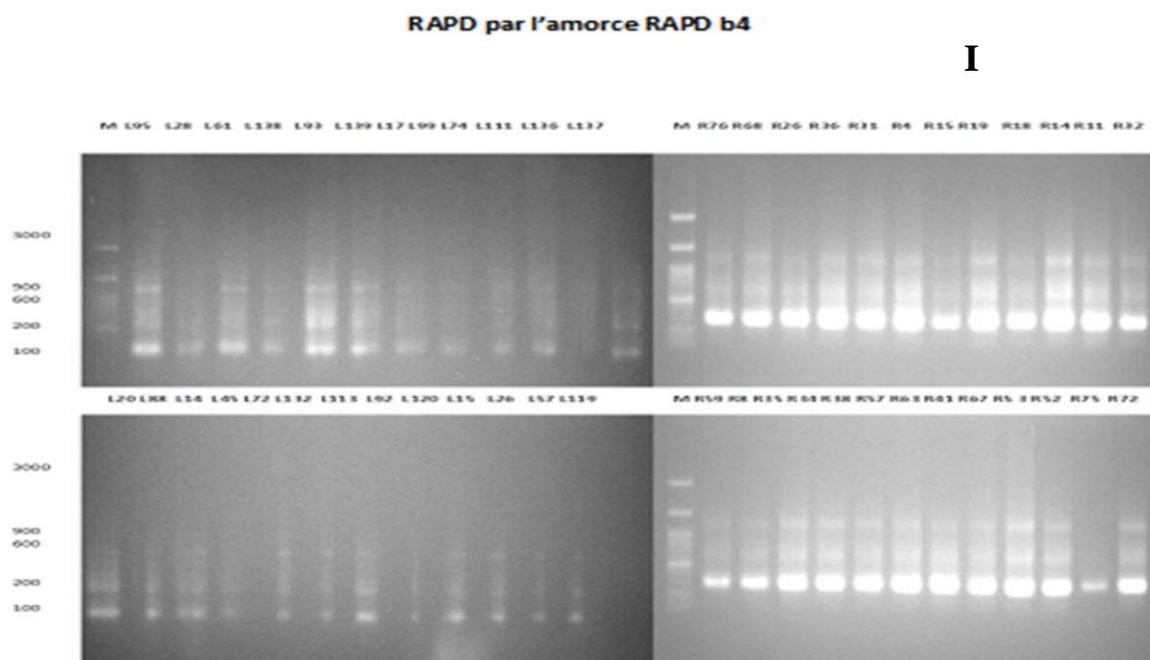
L'amorce RAPD b3 montre 2 bandes polymorphes avec des poids moléculaires de 254 pb et 110 pb. Cette amorce s'est révélée un marqueur spécifique pour le génotype G15 de la variété *leucomelan* [ 110pb (+) ]. Les génotypes G45et G15 de la variété *leucomelan* et G18,G14,G63,G41 et G75de la variété *reichenbachii* ont enregistré une seule bande (Tab. 32 et Fig. 26 H).



**Figure 26 (H) :** Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachii* générés par l'amorce RAPDb3

### Amorce RAPD b4

L'amorce RAPD b4 a détecté 4 bandes avec les poids moléculaires de 900 pb, 669pb, 280pb et 165 pb respectivement et un polymorphisme de 100%. Ces 4 bandes sont enregistrées chez les génotypes G93, G193 de la variété *leucomelan* et G19 et G14 de la variété *reichenbachi* (Tab. 32 et Fig. 26 I).

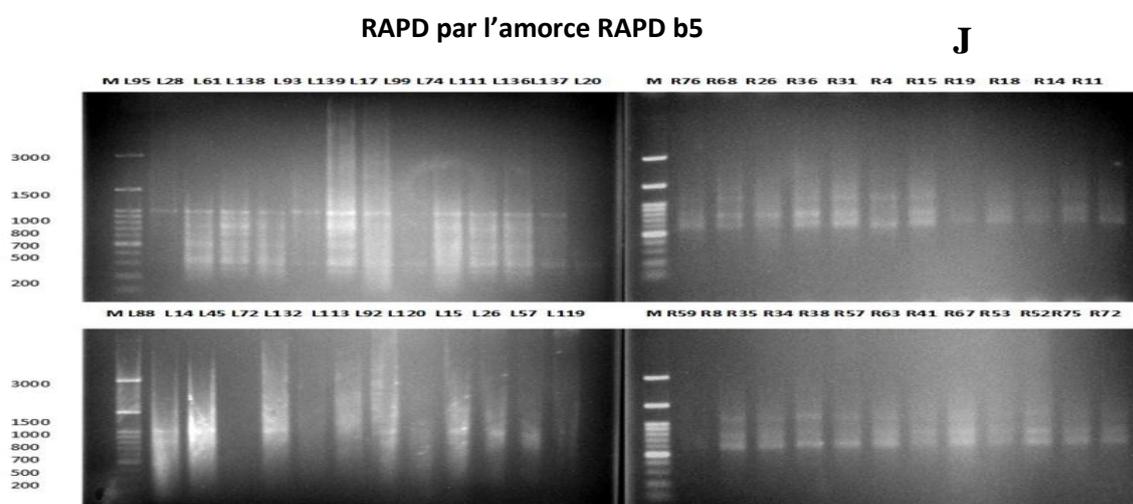


**Figure 26 (I) :** Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* générés par l'amorce RAPDb4

### Amorce RAPD b5

L'amorce RAPD b5 montre 5 bandes polymorphes de poids moléculaires respectivement de 1000 pb, 850pb, 700pb, 529pb et 235 pb avec un taux de polymorphisme de 100%.

Les 6 génotypes G28, G61, G138, G139, G111 et G136 de la variété *leucomelan*, enregistrent les 5 mêmes bandes. Les génotypes G45, G132, G113 de la variété *leucomelan* ne présentent aucune bande (Tab. 32 et Fig. 26 J).



**Figure 26 (I) :** Diagramme électrophorétique RAPD des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* générés par l'amorce RAPDb5.

**Tableau 32:** Analyse RAPD-PCR des 50 génotypes de blé dur générés par dix amorces

Amorces		Génotypes																																																							
Amorce	PM(Pb)	L95	L28	L61	L138L93	L139L17	L99	L74	L111L136L137L120	L88	L14	L45	L72	L132L113L92	L120L15	L26	L57	L119R76	R68	R26	R36	R31	R4	R15	R19	R18	R14	R11	R32	R59	R8	R35	R34	R38	R57	R63	R41	R67	R53	R52	R75	R72	R72														
RAPD L6	500	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0								
	300	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	M						
	220	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	P							
	100	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	M							
Total	4	4	3	3	2	3	3	3	2	3	2	3	2	3	3	4	4	4	3	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3							
RAPD L4	600	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	M								
	350	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	P								
	150	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	P								
Total	3	1	3	3	2	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3							
RAPD L2	680	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	P						
	400	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	P						
	380	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P					
	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P					
Total	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	3	1	3	3	3	4	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	0						
RAPD B10	1600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	P					
	1500	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P						
	800	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	P						
	660	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	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	P					
	455	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	P						
	359	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	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	P					
	255	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P					
Total	3	3	1	1	3	4	1	1	3	2	1	4	3	3	4	3	4	3	5	6	2	3	4	5	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6	3					
RAPD B13	550	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	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	0	P					
	390	0	1	1	0	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	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	P				
	245	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P				
Total	0	1	2	0	2	1	2	0	1	0	1	0	2	1	0	3	2	2	0	1	3	3	2	3	0	1	1	3	2	1	3	2	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	0						
C RAPD 1	1550	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	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	1	1	1	1	1	1	0	P					
	1100	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P				
	560	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P				
Total	0	1	0	0	3	0	1	0	2	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1	2	2	3	2	0	2	1	2	2	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2				
C RAPD 2	1200	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	P		
	645	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	P		
	220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	U+
Total	2	0	0	1	2	2	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
RAPD B3	254	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P	
	110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	U+	
Total	0	0	0	0																																																					

**Comparaison des taux de polymorphisme des 10 amorces**

Le pourcentage de polymorphisme des dix amorces est de **92.10%**, alors que celui des amorces RAPD L2,RAPD B10,RAPD B13,RAPD D1,RAPD D2,RAPD b3,RAPD b4 et RAPD b5 est plus élevé égal à **100%**, suivi de l'amorce RAPD L4 avec **66%**, puis l'amorce RAPD L6 avec **50%** (Tab.33).

**Tableau 33:** Taux de polymorphisme des 10 amorces RAPD des 50 géotypes des 2 variétés leucomelan et reichenbachi .

Amorce RAPD	Bande total	Bande monomorphiques	Bande polymorphique		%de polymorphisme
			unique	non unique	
<b>RAPD L6</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>50%</b>
<b>RAPD L4</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>66%</b>
<b>RAPD L2</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>100%</b>
<b>RAPD B10</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>100%</b>
<b>RAPD B13</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>100%</b>
<b>CRAPD 1</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>100%</b>
<b>CRAPD 2</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>100%</b>
<b>RAPD b3</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>100%</b>
<b>RAPD b4</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>100%</b>
<b>RAPD b5</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>100%</b>

Ces résultats ont été comparés à d'autres travaux réalisés sur le blé rapportés dans la littérature. Thomas *et al.*, (2006) ont observé 246 fragments polymorphes avec 41 marqueurs RAPD pour la caractérisation du blé commercial indien. Ojaghi et Akhundova, (2010) ont déterminé 273 bandes polymorphiques parmi 102 accessions de blé diploïdes, alors que Akar et Ozgène,(2007) ont détecté 89,96% de bandes polymorphes dans des variétés locales de blé dur turc, ce qui est se rapproche des résultats de notre étude.

Alors que Joshi et Nguyen, (1993) ont obtenu seulement 18 amorces avec 65% de polymorphisme chez 15 variétés de blé tendre. De même, Mukhtar *et al.*, (2002) ont observé 64,38% de polymorphisme parmi 20 géotypes sélectionnés avec 50 amorces aléatoires. De même que Ahmed *et al.*, (2010) qui ont évalué 32 lignées avancées de blé avec un taux de polymorphisme de 61,4% générées par 15 amorces.

Fadoul *et al.*, (2013) ont évalué la diversité génétique des cultivars de blé hexaploïde localement cultivés au Soudan en utilisant 21 amorces et ont trouvé 65,5% de polymorphisme .

Une étude réalisée par Cifci et Yagdi, (2012) sur 16 variétés de blé tendre turc en utilisant des amorces RAPD, ont obtenu une similarité génétique variant de 0,316 à 0,860.

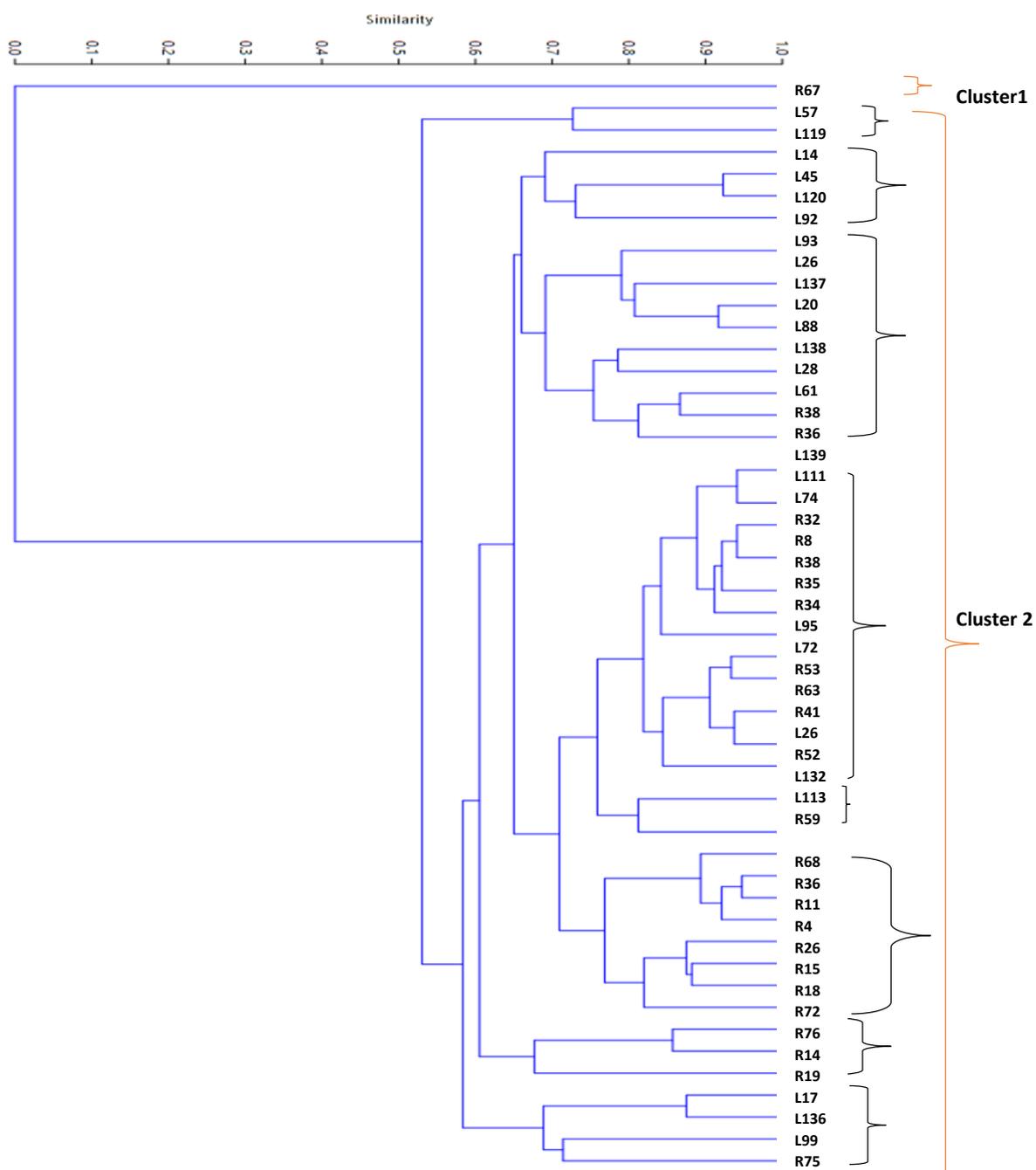
Sadigova *et al.*, (2014) ont utilisé 22 amorces RAPD de poids moléculaire variant de 160 à 2800 pb. de 33 géotypes de blé. Les 22 amorces ont montré 374 bandes dont 315 sont polymorphes. Pour chaque amorce, le nombre de bandes variait de 8 à 30, avec une moyenne de 17.

La classification hiérarchique des marqueurs moléculaires RAPD répartit les différents géotypes en deux clusters distincts de similarité équivalente de 100%.

- le premier cluster comporte un seul géotype G67 de la variété *reichenbachii* qui diffère totalement des autres géotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachii* (similarité 0 %).
- le deuxième cluster se divise en deux groupes :
  - le premier groupe contient les géotypes G57 et G119 de la variété *leucomelan* avec une forte similarité de 72,7%.
  - le deuxième groupe se subdivise en 7 sous-groupes :
    - le premier sous-groupe englobe quatre géotypes G14, G45, G120 et G92 de la variété *leucomelan*, dont les deux premiers géotypes sont identiques avec une 71,2% de similarité et les géotypes G120 et G92 présentent une similarité de 76,9%. Alors que le géotype 45 est corrélé à une forte similarité équivalente à 92,3% avec le géotype G120.
    - le deuxième sous-groupe regroupe les 10 géotypes G26, G93, G137, G20, G88, G93, G138, G28 et G61 de la variété *leucomelan* et G38, G36 de la variété *reichenbachii* avec une similarité qui varie de 73,3% à 100% .
    - le troisième sous-groupe comprend 18 géotypes G139, G111, G74, G95, G26, G72, G63, G132, de la variété *leucomelan* et G32, G8, G38, G35, G34, G53, G41, G52 de la variété *reichenbachii* avec une similarité de 70% à 100%.
    - le quatrième sous-groupe réunit les 2 géotypes G113 de la variété *leucomelan* et G59 de la variété *reichenbachii* avec une forte similarité de 81%.
    - le cinquième sous-groupe est constitué de 8 géotypes de la variété *reichenbachii* G68, G36, G11, G4, G26, G15, G18 et G72 qui présentent un taux de similarité se situant entre 84,7% et 94,7%.
    - le sixième sous-groupe englobe 3 géotypes G76, G14 et G19 de la variété *reichenbachii* dont les deux derniers semblent très proches avec un taux de similarité d'environ 85%.
    - le septième sous-groupe regroupe les 4 géotypes G17, G136, G99 de la variété *leucomelan* et G75 de la variété *reichenbachii* avec une similarité de 73% à 87,5% .

**En conclusion**, Une variation intra et inter variétale est observée, ainsi le nombre le plus élevé de 25 bandes dont 22 sont polymorphes se rencontre chez le G68 de la variété *reichenbachii* et le plus réduit de 14 bandes chez les géotypes G45, G113 G119 de la variété *leucomelan* et G19 de la variété *reichenbachii*. Quant aux autres géotypes, ils présentent un nombre de bandes intermédiaire.

Les deux amorces CRAPD2 et RAPDb3 révèlent 2 marqueurs spécifiques pour les géotypes G132 de la variété *leucomelan* [220 pb (+)] et G15 de la variété *leucomelan* [110 pb(+)] .

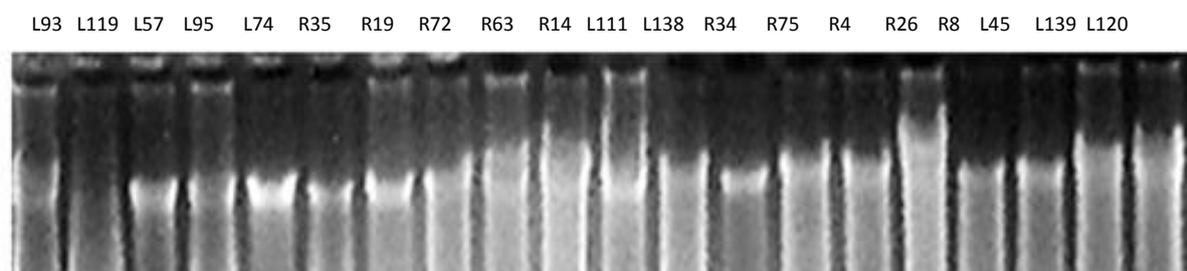


**Figure 27.** Dendrogramme des marqueurs RAPD basé sur la distance Euclidienne des cinquante génotypes de blé dur.



### 3.6.1.2 Marqueur RAPD des vingt géotypes sélectionnés

Parmi les 50 géotypes des 2 variétés expérimentées par les 2 de marqueurs RAPD et ISSR et en fonction des résultats obtenus de la première analyse, 20 géotypes ont été retenus pour une seconde analyse moléculaire avec les RAPD seulement celle-ci est menée au laboratoire d'amélioration des plantes du Centre Biotechnologie de Sfax- Tunisie, afin de mieux caractériser ces géotypes. L'ADN génomique extrait des géotypes est utilisé pour l'amplification RAPD-PCR (Fig.28).



**Figure 28:** Electrophorogramme des 20 géotypes de blé dur des variétés *leucomelan* (L), *rechenbachi* (R)

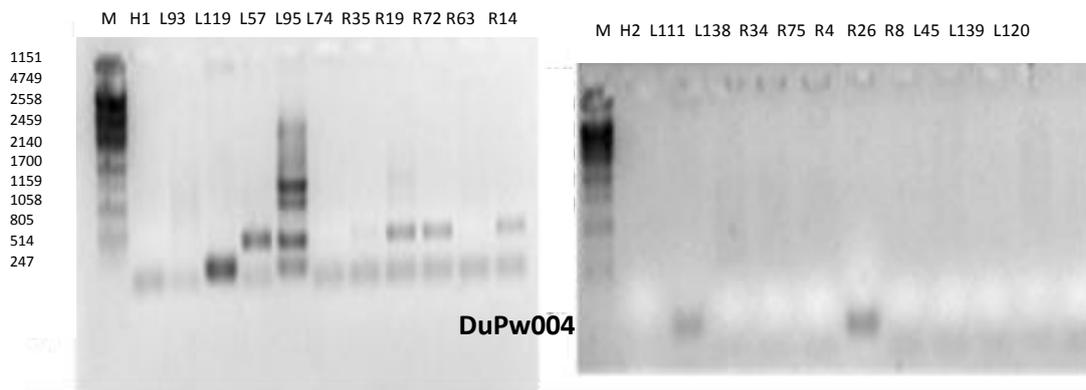
Les fragments d'ADN amplifiés possèdent entre 0 et 8 bandes, leur poids moléculaire varie entre 247 pb et 4749 pb. Les 2 amorces produisent le même nombre d'amplifiats de 10. L'ensemble des bandes varie d'une seule bande chez les deux géotypes G120 et G139 de la variété *leucomelan* à 11 bandes chez le géotype G19 de la variété *reichenbachi* (Tab.35 et 36.Fig 29 ).

**Tableau 35:** Tableau récapitulatif du nombre des bandes pour chaque géotype avec deux amorces DuPw004 et DuPw023

Amorce	L 93	L 119	L 57	L 95	L 74	R 35	R 19	R 72	R 63	R 14	L 111	L 138	R 34	R 75	R 4	R 26	R 8	L 45	L 139	L 120
Dupw004	3	2	3	8	3	2	4	2	3	2	3	1	1	1	1	1	2	2	1	1
DuPw023	3	2	1	2	1	1	7	1	2	1	1	1	1	1	2	1	2	1	0	0
Total	6	4	4	10	4	3	11	3	5	3	4	2	2	2	3	2	4	3	1	1

#### Amorce DuPw004

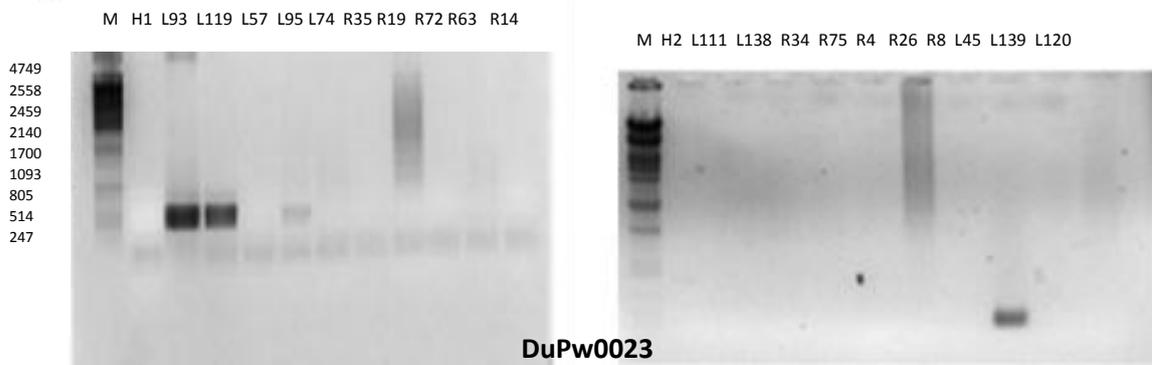
L'amorce DuPw004 présente 10 bandes au total avec des poids moléculaires de 4749 pb, 2459pb, 2140pb, 1158pb, 1058pb, 805pb, 514pb, 339pb, 264pb et 247pb respectivement. Cette amorce a révélé 9 bandes polymorphes dont 7 non uniques avec un poids moléculaire de 4749 pb, 1158pb, 805pb, 514pb, 339pb, 264pb et deux marqueurs spécifiques pour le géotype G95 de la variété *leucomelan* [2459pb (+) et 2140 pb (+) ], ce dernier présente le nombre de bande le plus élevé de 8. Cette amorce montre une seule bande monomorphe avec un poids moléculaire de 247pb avec un polymorphisme de 90% (Tab.35 et Fig.29 A).



**Figure.29 A:** Diagramme électrophorétique RAPD des 20 génotypes de blé dur des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachii* générés par l'amorces **DuPw004**

### Amorce DuPw023

L'amorce DuPw023 a révélé 10 bandes au total avec des poids moléculaire de 4749 pb, 3793pb, 2558pb, 2459pb, 2140pb, 1700pb, 1093pb, 805pb, 514pb et 247pb avec un polymorphisme de 100%. Cette amorce a détecté quatre marqueurs spécifiques pour le génotype G19 de la variété *reichenbachii* [2558pb (+) , 2459 pb(+), 2140 pb (+) , 1700 pb(+)] et un marqueur spécifique pour le génotype G14 de la variété *reichenbachii* [ 514pb(+)] (Fig.29B ,Tab. 35).



**Figure.29B :**Diagramme électrophorétique RAPD des 20 génotypes de blé dur des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachii* générés par l'amorces DuPw023

**Tableau 36 :** Analyse RAPD-PCR des 20 géotypes de blé dur générés par les deux amorces DuPw004 et DuPw023

Amorce	N° Ban de	PM (pb)	Géotypes																		--		
			L93	L119	L57	L95	L74	R35	R19	R72	R63	R14	L111	L138	R34	R75	R4	R26	R8	L45		L139	L120
DuPw004	1	4749	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	P
	2	2459	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	U+
	3	2140	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	U+
	4	1158	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P
	5	1058	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P
	6	805	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P
	7	514	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P
	8	339	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	P
	9	264	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P
	10	247	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	M	
<b>Total</b>			<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
DuPw023	1	4749	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	P
	2	3793	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	P
	3	2558	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	U+
	4	2459	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	U+
	5	2140	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	U+
	6	1700	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	U+
	7	1093	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	P
	8	805	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	P
	9	514	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	U+
	10	247	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	P	
<b>Total</b>			<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	

P : bande polymorphe, U+ : bande polymorphe unique, M : bande mono morphique.

**Tableau 37:** Pourcentage du polymorphisme généré par deux amorces dans une accession de vingt géotypes de blé dur.

Amorces	Bande monomorphe	Bande polymorphe		Bandes totales	% de polymorphisme
		Bande unique	Bande non unique		
DuPw004	1	2	7	10	90%
DuPw023	0	5	5	10	100%

Nos résultats concordent avec ceux de Chaib *et al.*, (2015), qui ont évalué la variabilité génétique de 10 cultivars de blé dur à l'aide de marqueurs RAPD, en utilisant 6 amorces. Ces dernières ont amplifiées 65 bandes PCR dont 43 bandes sont polymorphes avec un pourcentage de 66,15%. Les fragments d'ADN amplifiés se situe entre 0 et 8 de poids moléculaire variant de 222 pb à 2550 pb.

Awad *et al.*, (2010) ont étudié la variation génétique et les relations entre 10 génotypes de blé (quatre d'Égypte et six de Syrie) dont la tolérance au plomb est différente en utilisant des marqueurs RAPD associés à la tolérance au plomb. Les coefficients de similarité basés sur 40 fragments amplifiés étaient compris entre 35% et 100%.

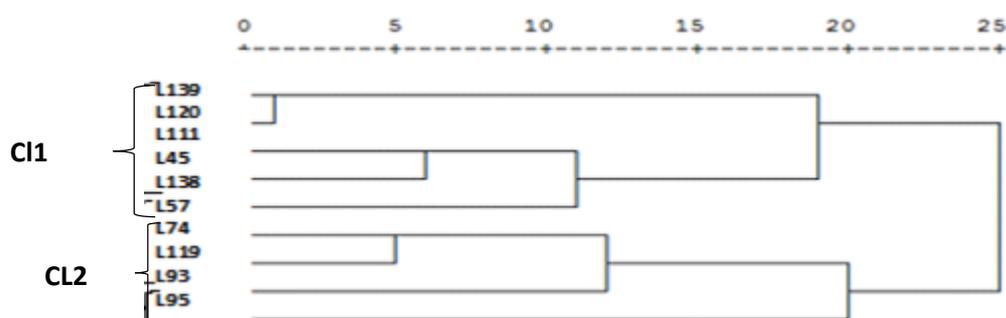
Mantzavinou *et al.*, (2005) ont utilisé la méthode d'amplification aléatoire de l'ADN polymorphe (RAPD), pour évaluer la diversité génétique de 19 variétés locales grecques, 9 cultivars de blé dur [*Triticum turgidum* L. var. *durum* Desf.], deux autres cultivars commerciaux de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et un génotype de (*Triticum monococcum* L.). Ils ont rapporté que la similarité génétique entre tous les génotypes a été évaluée en utilisant les coefficients de Jaccard ou Nei et Li, (1979). Les valeurs des premières (19 et 9 variétés) variaient de 0,153 à 0,973 tandis que celles de trois dernières étaient légèrement plus élevées de 0,265 à 0,986.

La classification hiérarchique des marqueurs moléculaires RAPD répartit les différents génotypes de la variété *leucomelan* en deux clusters distincts de similarité de l'ordre de 75% (Tab.39, Fig.31).

- le premier cluster est divisé en deux groupes:
  - le premier groupe englobe les deux génotypes G139 et G120 avec une similarité maximale de 100%.
  - le deuxième groupe présente les trois génotypes G111, G45 et 138 avec une similarité de 60% à 82,9%.
- le second cluster englobe également deux groupes:
  - le premier comporte les quatre génotypes G57, G74, G119 et G93 avec une similarité de 60% à 86% .
  - le deuxième groupe comportant le génotype G95 qui constitue à lui seul un groupe qui diffère génétiquement des autres génotypes .

Tableau 39 : Matrice de la similarité génétique de la variété *leucomelan* basée sur la variation PCR-RAPD

	L93	L119	L57	L95	L74	L111	L138	L45	L139	L120
L93	1									
L119	0,52	1								
L57	0,236	0,6	1							
L95	0,55	0,486	0,44	1						
L74	0,28	<b>0,7</b>	<b>0,867</b>	0,314	1					
L111	4,00E-02	0,4	0,333	0,143	0,4	1				
L138	1,00E-01	0,2	0,143	0	0,2	0,6	1			
L45	6,67E-02	0,486	0,4	0,169	0,486	<b>0,829</b>	<b>0,76</b>	1		
L139	0,143	0,28	0,2	1,82E-02	0,28	0,28	0,6	0,4	1	
L120	0,143	0,28	0,2	1,82E-02	0,28	0,28	0,6	0,4	1	1



**Figure 31:** Dendrogramme des marqueurs RAPD basé sur la distance Euclidienne des génotypes de la variété *Leucomelan*.

La classification de la variété *rechenbachi* répartit les différents génotypes en deux principaux clusters:

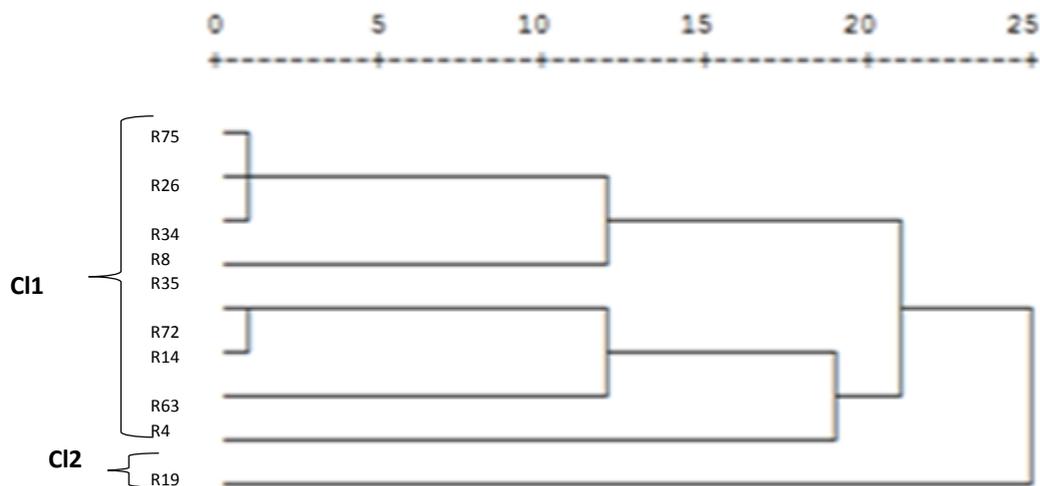
- le premier cluster contient un seul génotype G19 de la variété *reichenbachi* qui est génétiquement différent du rest des génotypes.
- Le deuxième cluster se divise en deux groupes :
  - Le premier englobe les génotypes G75, G26, G34 et G8 dont les trois génotypes présentent une similarité de 66,67% à 100%.
  - Le deuxième comprend deux sous-groupes:
    - Le premier sous-groupe est formé des génotypes G35, G72, G14 et G63 avec les génotypes G35 et G72 présentent une similarité maximale de 100%.
    - Le deuxième-sous groupe contient un seul génotype G4 (Tab.38, Fig.30).

Sivolap *et al.*, (1997) ont trouvé un pourcentage de polymorphisme de 78% après une analyse RAPD de 23 variétés de blé dur d'hiver sur un total de 91bandes. Le dendrogramme issu de cette analyse révèle des niveaux de similarité distincts entre les différentes variétés.

**En conclusion**, les 2 amorces utilisées ont amplifiées 20 bandes dont 19 bandes sont polymorphes avec un pourcentage de 95%. L'amorce DuPw004 donne deux bandes spécifiques et 7 bandes non uniques avec un polymorphisme égal à 90%. L'amorce DuPw0023 donne 5 bandes uniques et 5 bandes non uniques avec un polymorphisme optimale 100%.

Tableau 38 : Matrice de similarité génétique de la variété *reichenbachi* basée sur PCR-RAPD

	R35	R19	R72	R63	R14	R34	R75	R4	R26	R8
R35	1									
R19	0,429	1								
R72	1	0,429	1							
R63	0,571	0,4	0,571	1						
R14	0,667	0,286	0,667	0,286	1					
R34	0,4	0,154	0,4	0,333	0,4	1				
R75	0,4	0,154	0,4	0,333	0,4	1	1			
R4	0,286	0,267	0,286	0,25	0,286	0,333	0,333	1		
R26	0,4	0,154	0,4	0,333	0,4	1	1	0,333	1	
R8	0,571	0,267	0,571	0,5	0,286	0,667	0,667	0,25	0,667	1



**Figure 30.** Dendrogramme des marqueurs RAPD basé sur la distance Euclidienne des génotypes de la variété *reichenbachi*.

Le Dendrogramme des 20 génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachi* a mis en évidence trois clusters ayant une similarité qui se situent entre 76% et 86% (Tab.40, Fig. 32).

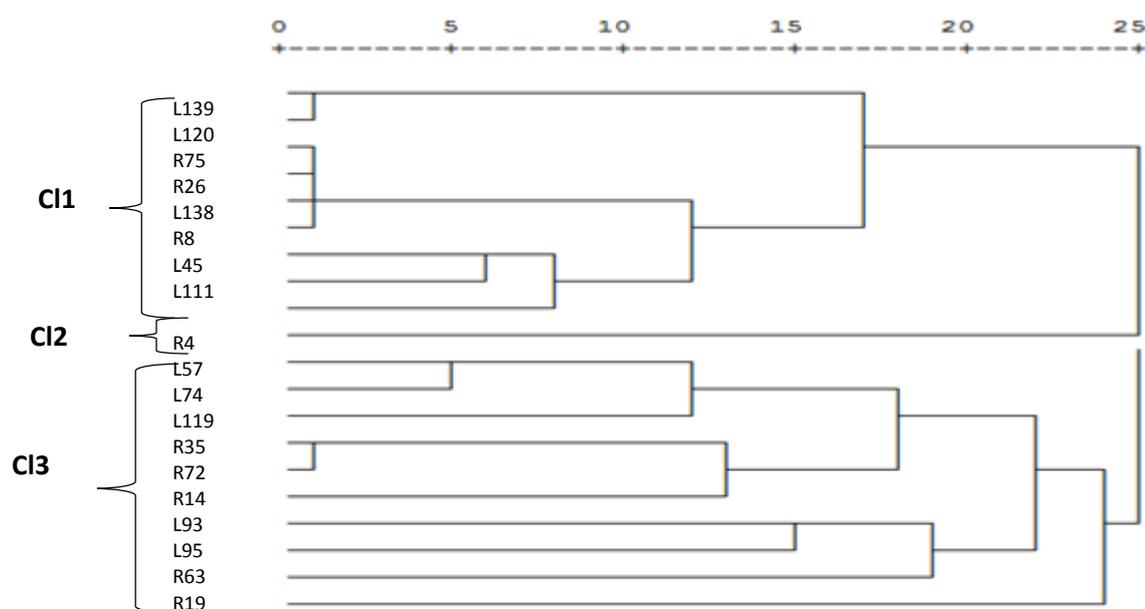
- le premier cluster est divisé en deux groupes:
  - le premier représente les deux génotypes G139 et G120 de la variété *leucomelan* avec très forte similarité de 100%.
  - le deuxième regroupe les sept génotypes G75, G26, G34 et G8 de la variété *reichenbachi* et G138, G111, et G45 de la variété *leucomelan* avec une similarité de 50% à 100%.
- le deuxième cluster comprend le génotype G4 de la variété *reichenbachi* qui n'a aucune corrélation avec les autres génotypes.
- le troisième cluster est divisé en 2 groupes:

### Chapitre III : Résultats et discussion

- le premier englobe 9 géotypes G57, G74, G119, G93 et G95 de la variété *leucomelan* et G35, G72, G14 et 63 de la variété *reichenbachi* avec une similarité de 66,7% et 100% .
- le deuxième groupes comprend le géotype G19 de la variété *reichenbachi* qui a une faible corrélation avec l'ensemble des géotypes .

**Tableau 40** : Matrice de la similarité génétique des deux variétés *reichenbachi* et *leucomelan* basées sur la variation PCR-RAPD

	L93	L119	L57	L95	L74	R35	R19	R72	R63	R14	L111	L138	R34	R75	R4	R26	R8	L125	L139	L120	
L93	1																				
L119	0,472	1																			
L57	0,316	<b>0,837</b>	1																		
L95	0,471	0,535	0,447	1																	
L74	0,316	<b>0,837</b>	1	0,447	1																
R35	0,5	<b>0,661</b>	<b>0,791</b>	0,354	<b>0,791</b>	1															
R19	0,236	0	0,149	-0,333	0,149	0,354	1														
R72	<b>0,632</b>	0,478	0,6	0,447	<b>0,6</b>	<b>0,791</b>	0,149	1													
R63	0,316	0,478	0,6	0,149	<b>0,6</b>	<b>0,791</b>	0,447	<b>0,6</b>	1												
R14	0,125	0,236	0,316	0	0,316	0,438	0	0,316	0,316	1											
L111	-0,316	0,12	0,2	-0,149	0,2	-0,158	-0,447	-0,2	-0,2	-0,158	1										
L138	0,125	0,236	0,316	0	0,316	0,438	0	0,316	0,316	0,438	0,316	1									
R34	0,125	0,236	0,316	0	0,316	0,438	0	0,316	0,316	0,438	0,316	1	1								
R75	0,125	0,236	0,316	0	0,316	0,438	0	0,316	0,316	0,438	0,316	1	1	1							
R4	0,316	0,12	-0,2	-0,149	-0,2	-0,158	-0,149	-0,2	-0,2	-0,158	0,2	-0,158	-0,158	-0,158	1						
R26	0,125	0,236	0,316	0	0,316	0,438	0	0,316	0,316	0,438	0,316	1	1	1	-0,158	1					
R8	0,189	<b>0,679</b>	<b>0,837</b>	0,267	<b>0,837</b>	<b>0,661</b>	0	0,478	0,478	0,236	0,478	<b>0,661</b>	<b>0,661</b>	<b>0,661</b>	-0,239	<b>0,661</b>	1				
L125	0	0,478	0,6	0,149	0,6	0,316	-0,149	0,2	0,2	0,316	0,6	<b>0,791</b>	<b>0,791</b>	<b>0,791</b>	-0,2	<b>0,791</b>	<b>0,837</b>	1			
L139	0,343	0,454	0,542	0,243	0,542	<b>0,686</b>	0,243	0,542	0,542	<b>0,686</b>	-0,108	<b>0,686</b>	<b>0,686</b>	<b>0,686</b>	-0,108	<b>0,686</b>	0,454	0,542	1		
L120	0,343	0,454	0,542	0,243	0,542	<b>0,686</b>	0,243	0,542	0,542	<b>0,686</b>	-0,108	<b>0,686</b>	<b>0,686</b>	<b>0,686</b>	-0,108	<b>0,686</b>	0,454	0,542	1	1	



**Figure 32** : Dendrogramme du marqueur RAPD basé sur la distance Euclidienne des 20 géotypes étudiés (*leucomelan* et *reichenbachi*).

L'étude moléculaire des 20 géotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachii* pour les deux amorces prises ensemble un pourcentage de polymorphisme variable, certains géotypes montrent une similarité de 100% alors que d'autres leur similarité est très faible.

Nos résultats coïncident avec les études de Cifci et Yagdi, (2012) travaillant sur 16 variétés Turques de blé à l'aide des amorces RAPD, ont obtenue une similarité génétique était entre 32 % et 86%. Par ailleurs Pandey *et al.*, (2015) ont trouvé une similarité génétique de 72% -96% entre des variétés de blé Hexaploïdes.

Naghavi *et al.*, (2004) ont estimé la diversité génétique entre des variétés de blé tendre et ont trouvé un total de 188 bandes pour 17 amorces RAPD, et 101 fragments pour 35 amorces SSR. Le niveau de polymorphisme était de 88% avec RAPD et de 100% avec SSR respectivement. Les marqueurs RAPD utilisés constituent un outil précieux d'efficacité pour l'identification et l'évaluation de la diversité génétique et montrent qu'il existe une corrélation entre le polymorphisme et les conditions éco-géographiques (Sharma *et al.*, 2000; Figuliulo, 2000).

**En conclusion**, les résultats obtenus suggèrent que la diversité génétique dans le blé peut être déterminée par l'utilisation des marqueurs moléculaires. Une variation génétique modérée est observée entre les deux variétés *reichenbachii* et *leucomelan*.

En comparant les résultats obtenus des deux analyses RAPD menées en Egypte et en Tunisie pour les différentes amorces et des différentes techniques d'analyse d'ADN, on trouve que ces deux analyses présentent un polymorphisme très important de 95% et de 92,10% entre les géotypes considérés et révèlent que beaucoup de géotypes proches génétiquement sont des géotypes qui appartient à la même variété.

### 3.6.2 Marqueur ISSR des cinquante géotypes

Le nombre de bandes se situe entre 0 et 4 bandes au total, 32 bandes sont produites chez les cinquante géotypes, par les 10 amorces ISSR utilisées. 22 bandes se sont avérées polymorphes avec un taux de 60,8%.

Le nombre des fragments d'ADN obtenu varie de 1 pour l'amorce M12 à 5 fragments pour l'amorce F2, avec un poids moléculaire variant de 230 pb à environ 1500 pb (Fig 33. Tab.41).

#### Amorce ISSR M1

L'amorce ISSR M1 présente 4 bandes au total avec des poids moléculaires de 1000 pb, 780pb, 500pb et 250pb respectivement dont 3 bandes sont polymorphes de poids moléculaire de 780pb, 500pb et 250pb et une bande monomorphe avec un poids moléculaire égale à 1000pb. Cette amorce montre un polymorphisme de 75%.

Les géotypes G139, G113 et G120 de la variété *leucomelan* ont montré qu'une seule bande avec un poids moléculaire de 1000pb (Tab.41 et Fig. 33 A).

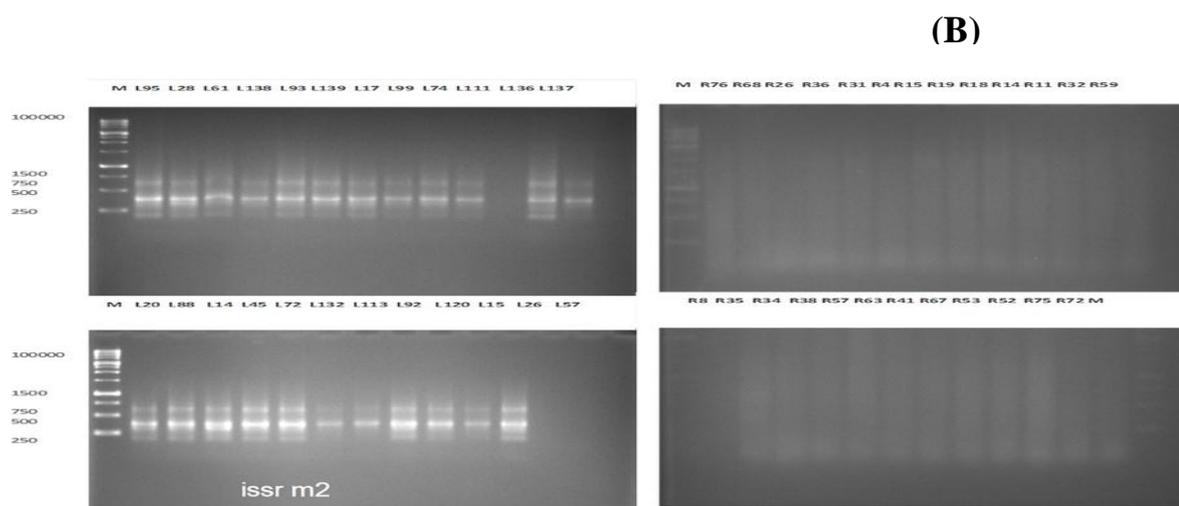


**Figure 33(A) :** Diagramme électrophorétique ISSR des 50 géotypes des deux variétés *reichenbachii* (R) et *leucomelan* (L)) générés par l'amorces ISSR M1

#### Amorce ISSR M2

L'amorce ISSR M2 révèle 4 bandes au total dont les poids moléculaires sont respectivement de 1500 pb, 750pb, 600pb et 255pb, 2 bandes sont polymorphes de poids moléculaire de 255 pb et 600 pb et 2 monomorphes de poids moléculaire de 750 pb et 1500 pb et un taux de polymorphisme égal à 50%.

Les 20 géotypes de la variété *reichenbachii* ont enregistré un total de 2 bandes avec un poids moléculaire de 1500 pb et 750pb respectivement (Tab.41 et Fig. 33 B).

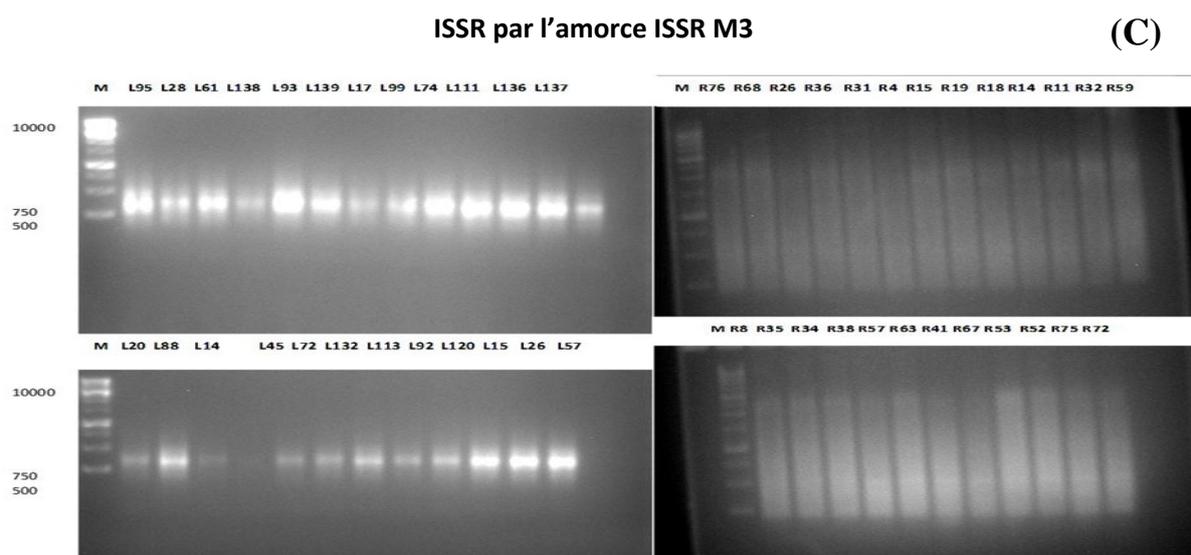


**Figure 33(B) :** Diagramme électrophorétique ISSR des 50 géotypes des deux variétés *leucomelan* (L) et *reichenbachii* (R) générés par l'amorces ISSR M2

### Amorce ISSR M3

L'amorce ISSRM3 montre seulement 2 bandes de poids moléculaire de 750pb et 550 pb ,1 bande monomorphe avec un poids moléculaire de 750pb et 1 monomorphe de poids moléculaire de 550pb avec un taux de polymorphisme de 50% pour l'ensemble des génotypes.

Les 20 génotypes de la variété *reichenbachii* enregistrent une seule bande totale de poids moléculaire de 750pb ( Fig.33C.Tab 41)



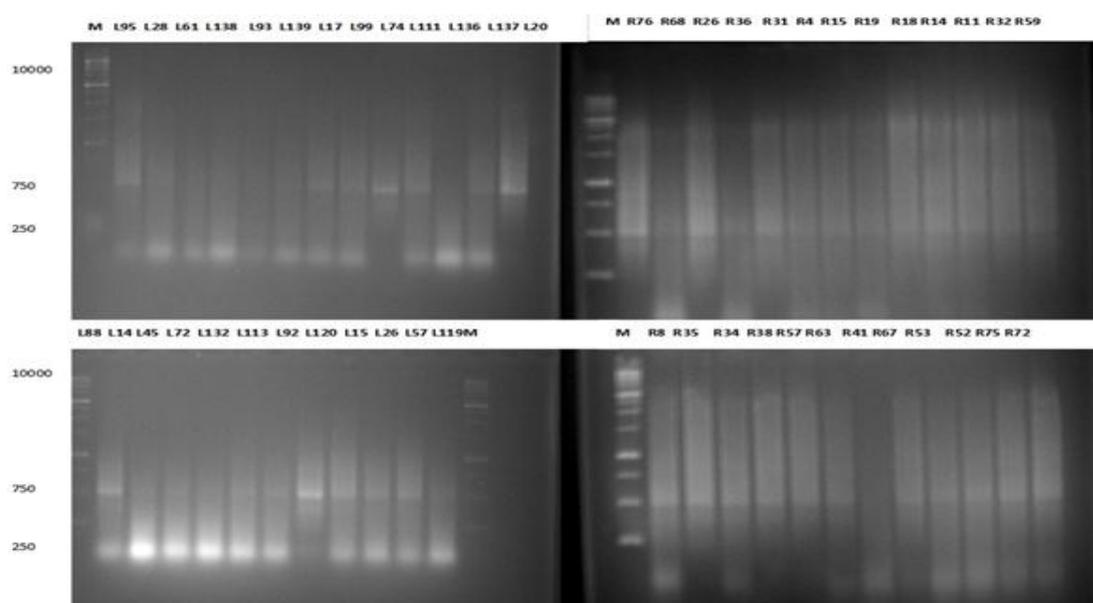
**Figure 33(C) :** Diagramme électrophorétique ISSR des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* (L) et *reichenbachii* (R) générés par l'amorces ISSR M3

### Amorce ISSR M8

L'amorce ISSR M8 a détecté au total 2 bandes de poids moléculaire de 770pb dont une monomorphe de poids moléculaire de 260pb et une polymorphe avec un polymorphisme de 50%.

Les 20 génotypes de la variété *leucomelan* ne présentent qu'une seule bande de poids moléculaire égal à 770pb, alors que les génotypes de la variété *reichenbachii* enregistrent les 2 bandes détectées par l'amorce M8 (Fig 33D.Tab 41).

(D)



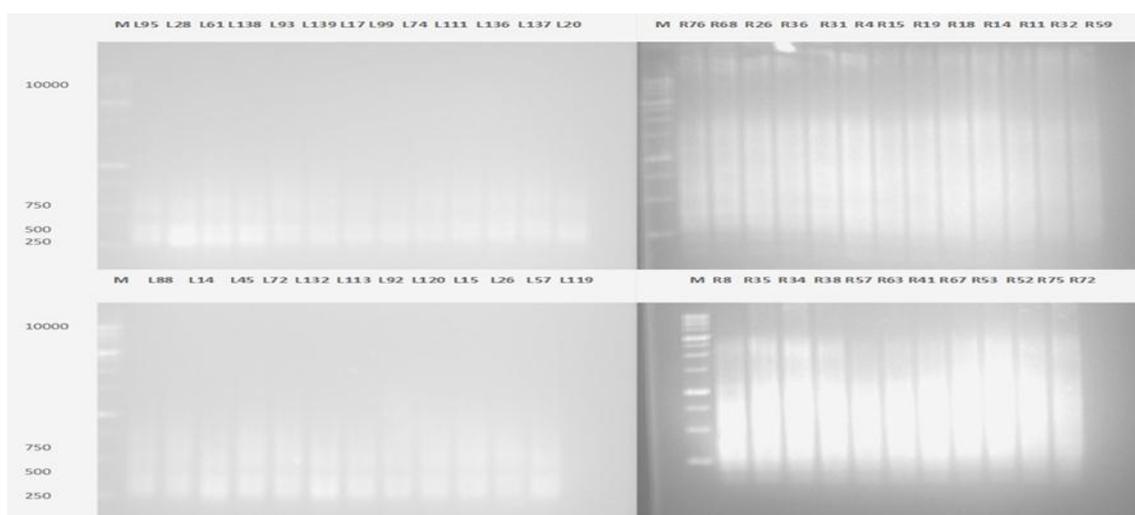
**Figure 33(D)** : Diagramme électrophorétique ISSR des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* (L) et *reichenbachi* (R) générés par l'amorces ISSRM8

#### Amorce ISSR M9

L'amorce ISSR M9 révèle 3 bandes polymorphes avec des poids moléculaires respectivement de 700pb, 450pb et 270pb avec un polymorphisme de 100%.

Les génotypes G14, G45, G72, G15, G57, G119 de la variété *leucomelan* et G68, G26, G36, G31, G4, G19, G8, G34, G38, G57 de la variété *reichenbachi* enregistrent les 3 bandes, alors que les génotypes G138, G99, G74, G26 de la variété *leucomelan* et G18 de la variété *reichenbachi* présentent uniquement 1 bande ( Fig 33E.Tab 41).

(E)

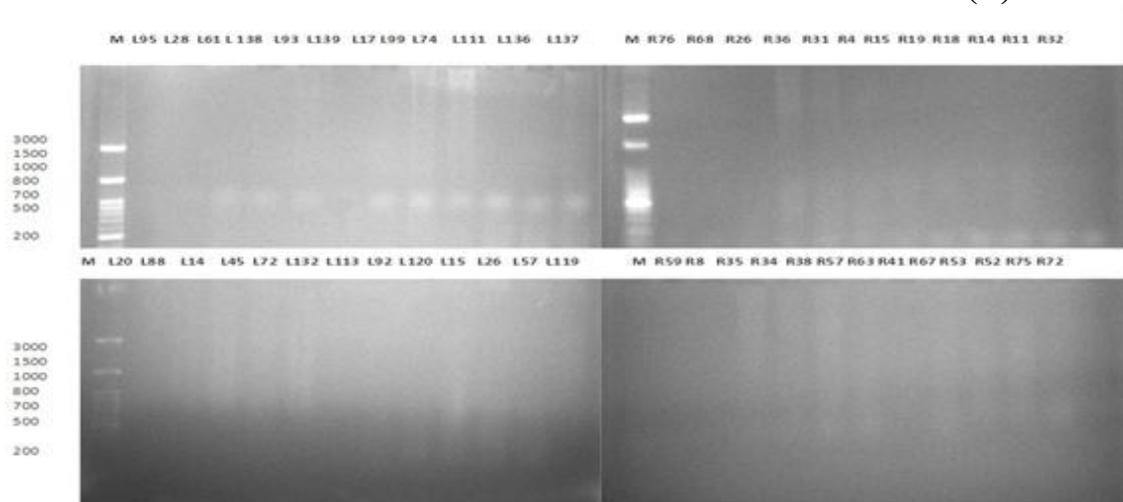


**Figure 33(E)**: Diagramme électrophorétique ISSR des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* (L) *reichenbachi* (R) générés par l'amorces ISSR M9

**Amorce ISSR M12**

L'amorce ISSR M12 a révélé une seule bande monomorphe de poids moléculaire de 580pb chez tous les génotypes (Fig 33F.Tab 41).

(F)

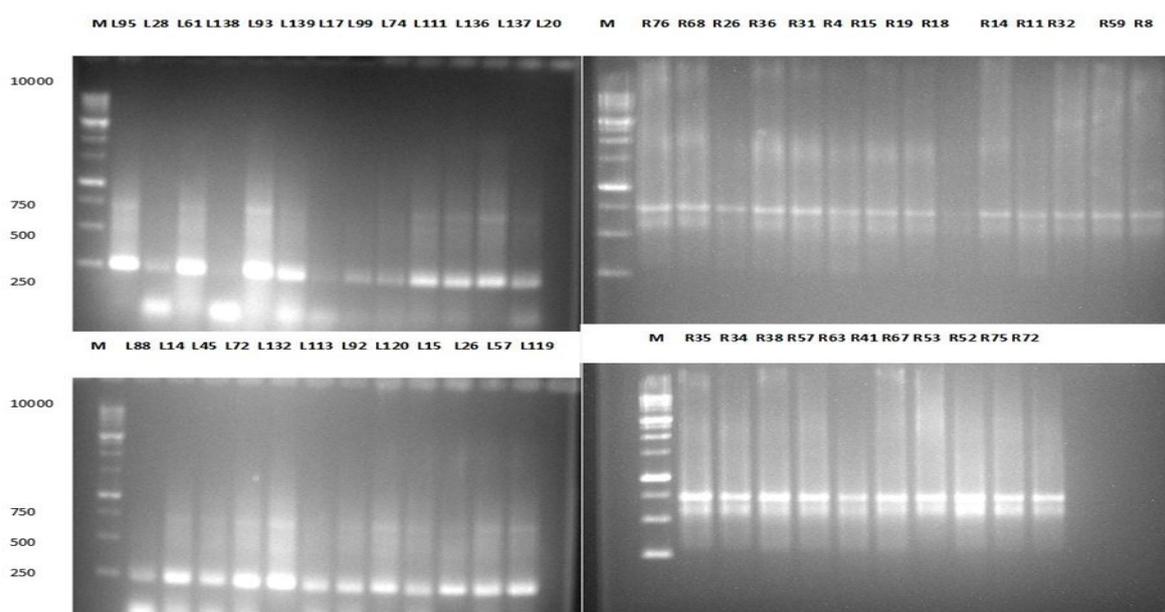


**Figure 33(F)** : Diagramme électrophorétique ISSR des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* (L) et *reichenbachii* (R) générés par l'amorces ISSRM12

**Amorce ISSR M17**

L'amorce ISSR M17 montre 3 bandes de poids moléculaires de 745pb, 630pb et 230pb dont 1 polymorphe avec un poids moléculaire de 745pb et 2 monomorphes de poids moléculaires de 630pb et 230pb avec un taux de polymorphisme de 33%. les 4 génotypes de la variété *leucomelan* G95 ,G61, G137, G120 enregistre les 3 bandes détectées par l'amorce M17 et les 50 génotypes des 2 variétés *leucomelan* et *reichenbachii* présentent 2 bandes communes de poids moléculaire de 630pb et 230pb.,(Fig 33J.Tab 41).

(G)



**Figure 33(G)** : Diagramme électrophorétique ISSR des 50 génotypes des deux variétés *reichenbachii* (R) et *leucomelan* (L)) générés par l'amorces ISSR M17

### Amorce ISSR F2

L'amorce ISSR F2 contient 55,55% de Guanine et Cytosine (GC) et réagit avec l'ensemble des génotypes, elle montre 5 bandes avec un poids moléculaire de 1100 pb, 764pb, 555pb, 300pb et 280pb et un polymorphisme de 100%.

Les génotypes G61 et G138 de la variété *leucomelan* sont caractérisés par 2 bandes communes, alors que le génotype G95 de la même variété ne montre aucune bande (Fig 33H. Tab.41).

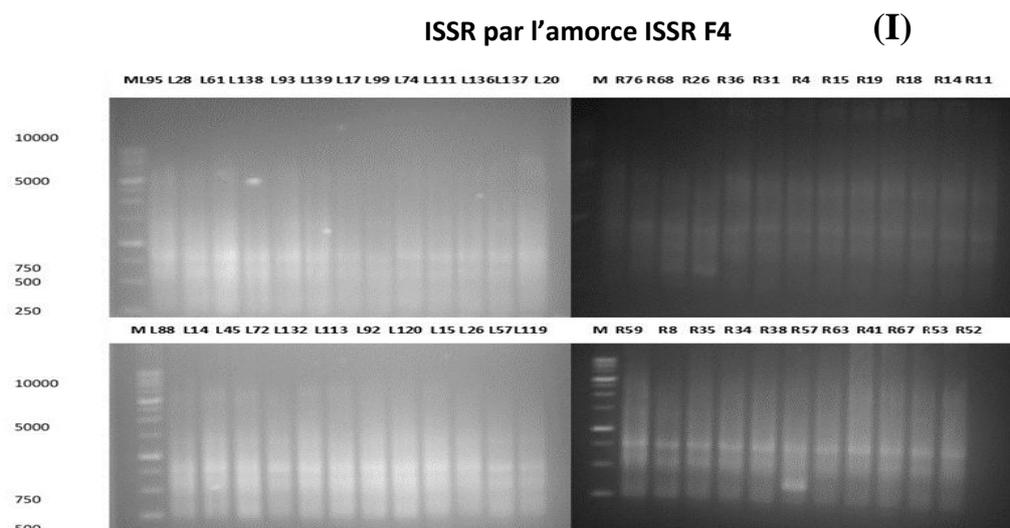


**Figure 33(H) :** Diagramme électrophorétique ISSR des 50 génotypes des deux variétés *leucomelan* (L) et *reichenbachii* (R) et générés par l'amorces ISSR F2

### Amorce ISSR F4

L'amorce ISSRF4 a révélé 4 bandes au total avec des poids moléculaires de 5000 pb, 785pb, 552pb, et 245pb respectivement, dont 2 sont monomorphes de poids moléculaire de 552pb et 245pb et 2 polymorphes de poids moléculaire de 5000pb et 785pb avec un polymorphisme de 50% pour l'ensemble des génotypes.

Les génotypes G138, G93 de la variété *leucomelan* et G26, G36 et G63 de la variété *reichenbachii* présentent 3 bandes soit le nombre le plus élevé et se caractérisent par 3 bandes communes (Tab.41 et Fig.33I).



**Figure 33(I) :** Diagramme électrophorétique ISSR des 50 géotypes des deux variétés *leucomelan* (L) et *reichenbachii* (R) générés par l'amorces ISSR F4

### Amorce ISSR F9

L'amorce ISSR F9 révèle 4 bandes polymorphes avec des poids moléculaires respectivement de 10000pb, 5000pb, 785pb et 599pb et un polymorphisme de 100%.

Les géotypes G68, G36, G31, G4, G15, G19 et G14 de la variété *reichenbachii* présentent le nombre de bandes le plus élevé de 4 bandes, alors qu'aucune bande n'est enregistrée chez la plupart des géotypes de la variété *leucomelan* tels que G95, G93, G139, G111, G136, G20, G14, G72, G132, G120, G57, G119 (Tab. 41 et Fig. 33J).



**Figure 33(J) :** Diagramme électrophorétique ISSR des 50 géotypes des deux variétés *leucomelan* (L) et *reichenbachii* (R) générés par l'amorces ISSR F9



**Comparaison des taux de polymorphisme de 10 amorces ISSR**

Le pourcentage de polymorphisme des dix amorces ISSR est de 60,8%. Le pourcentage polymorphique des amorces ISSR M9 et ISSR F2 est le plus élevé égal à 100%, suivi par l'amorce ISSR M1(75%) , puis les amorces ISSR M2,ISSR M3,ISSR M8 et ISSR F4(50%) et enfin l'amorce ISSR M17 avec un faible taux égal à 33%. Il est à noter que l'amorce M12 n'a montré aucun polymorphisme (Tab.42).

**Tableau 42:** Pourcentage du polymorphisme générés par dix amorces ISSR dans une accession de cinquante génotypes de blé dur

Amorce ISSR	Bande total	Bande monomorphique	Bande polymorphique		% de polymorphisme
			unique	non unique	
ISSR M1	4	1	0	3	75%
ISSR M2	4	2	0	2	50%
ISSR M3	2	1	0	1	50%
ISSR M8	2	1	0	1	50%
ISSR M9	3	0	0	3	100%
ISSR M12	1	1	0	0	0%
ISSR M17	3	2	0	1	33%
ISSR F2	5	0	0	5	100%
ISSR F4	4	2	0	2	50%
ISSR F9	4	0	0	4	100%

Il est généralement reconnu que la diversité génétique de la plante est abondante lorsque le pourcentage de polymorphisme des bandes atteignent environ 50% au niveau de la population (Ma et al., 2000; Liu et Jia, 2003; Sun et al., 2004).

Nos résultats coïncident avec ceux de Shirnasabian *et al.*, (2015) sur dix-huit variétés du blé dur en utilisant la technique ISSR ainsi huit amorces utilisées ont amplifié un total de 93 bandes, parmi lesquelles 77 bandes polymorphes (environ 83%). Au total les 77 fragments polymorphes ont montré une moyenne de 9,6 bandes polymorphes par amorce. La valeur du contenu d'information sur le polymorphisme variait entre 27% et 36% pour les amorces ISSR,

Karaca et Izbirak (2008), dans l'analyse de la diversité génétique pour des cultivars de blé dur turcs en utilisant des marqueurs ISSR, ont trouvé un polymorphisme moyen de 57,9%.

Carvalho *et al.*, (2008) ont analysé 51 cultivars du blé dur portugais appartenant à 26 variétés en utilisant des marqueurs ISSR. Ils ont révélé que les loci variaient de 150 à 3000 pb et le pourcentage moyen de polymorphisme était de 42,1%.

Du *et al.*, (2002) ont observé un polymorphisme de 87% en utilisant 11 amorces ISSR pour l'évaluation de la diversité de 47 hybrides des blés.

Carvalho *et al.*, (2009) ont analysé quarante-huit cultivars de blé tendre d'une ancienne collection portugaise à l'aide de marqueurs ISSR en utilisant 18 amorces ISSR qui ont donné un nombre total de 245 loci, dont 233 polymorphes.

Malik *et al.*, (2008) ont étudié la diversité génétique des variétés de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) de point de vue rendement, qualité et stress abiotique en Inde et ont constaté un polymorphisme de 68,42% en utilisant 20 marqueurs ISSR. Najaphy *et al.*, (2012) ont utilisé 10 amorces ISSR qui ont généré 80,2% de polymorphisme de 30 accessions de blé.

Shikhseyidova *et al.*, (2015) ont utilisé quinze amorces ISSR qui ont produit un total de 221 bandes de 41 et une accessions de blé dur, dont 163 bandes étaient polymorphes.

Zamianfard *et al.*, (2015) ont présenté la diversité moléculaire de vingt-cinq génotypes de blé. Les amorces génèrent 108 fragments, parmi lesquels 83 bandes (environ 77%) sont polymorphes. Des résultats semblables ont été rapportés par d'autres auteurs tels que Ebrahimi *et al.*, 2010, Pirseyedi *et al.*, 2010, Soriano *et al.*, 2011.

Nagaoka et Ogihara, (1997) ont indiqué que les relations génétiques des accessions de blé estimées par le polymorphisme des marqueurs ISSR étaient identiques à celles que les marqueurs RFLP et RAPD.

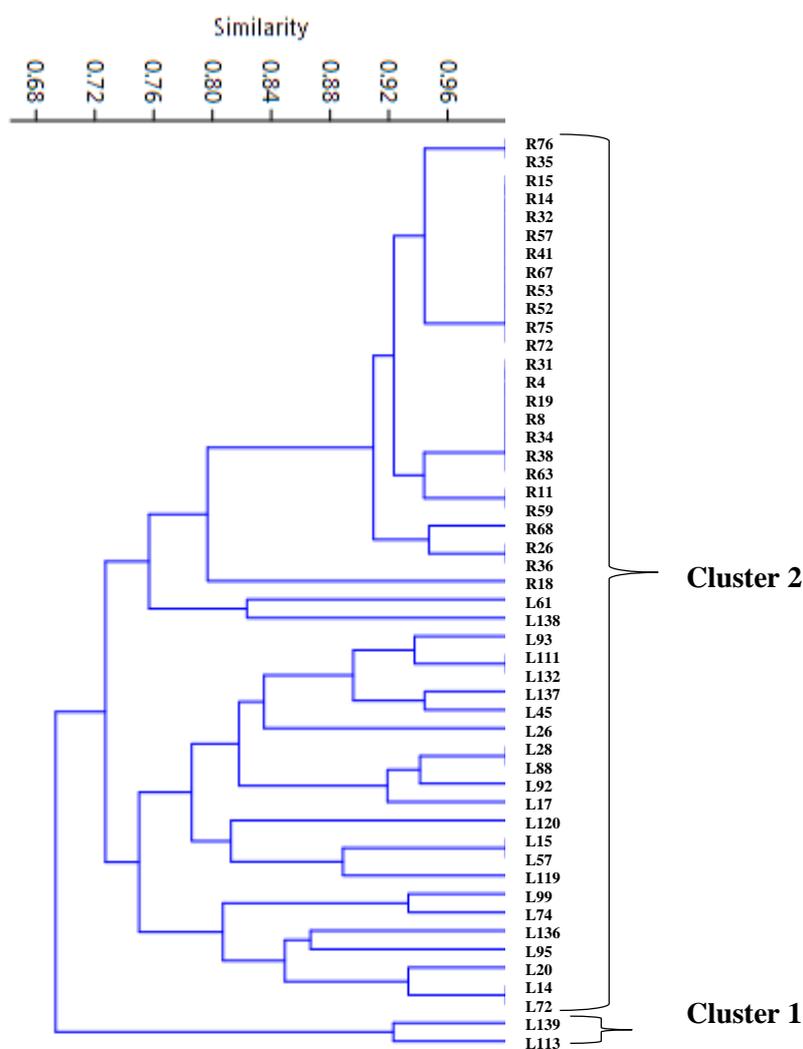
Razmjoo *et al.*, (2015) ont évalué la diversité génétique de 25 génotypes de blé dur à l'aide de marqueurs ISSR, un total de 70 loci ont été révélés par 10 amorces avec un polymorphisme moyen de 41%.

Salem *et al.*, (2008) ont utilisé quinze marqueurs microsatellites pour caractériser et évaluer la diversité génétique de sept génotypes de blé d'Égypte et de deux variétés exotiques d'Europe. Le coefficient de similarité pour les sept variétés de blé tendre basées sur leurs marqueurs microsatellites variait de 0,325 à 0,688.

Pasqualone *et al.*, (2000) ont testé l'efficacité des marqueurs ISSR pour distinguer un ensemble de 30 cultivars de blé dur d'Italie et ont constaté que l'efficacité était très élevée et deux amorces suffisaient à distinguer tous les cultivars de blé dur examinés.

Le Dendrogramme des marqueurs moléculaires ISSR a révélé deux principaux clusters distincts de similarité légèrement inférieure à 68% (Fig. 34.Tab 43).

- le premier cluster réunit deux génotypes G139 et G113 de la variété *leucomelan* avec une similarité de 92,3%.
- le deuxième cluster est divisé en deux groupes :
  - le premier groupe se subdivise en deux sous groupes:
    - le premier sous -groupe englobe les génotypes G72, G14, G20, G95, G136, G74 et G99 de la variété *leucomelan* avec une similarité de 81,3% et 93,3%.
    - le deuxième sous groupe comprend les génotypes G119, G57, G15, G120, G17, G92, G88, G28, G26, G45, G137, 132, G111, G93 de la variété *leucomelan* avec une similarité entre 68,4% et 100%.
  - le deuxième groupe se subdivise en deux sous groupes:
    - le premier sous – groupe comprend les génotypes G138 et G61 de la variété *leucomelan* avec une similarité de 82,4%.
    - le deuxième sous groupe se compose de tous les génotypes de la variété *reichenbachi* (G18, G36, G26, G68, G59, G11, G63, G38, G34, G8, G19, G4, G31, G72, G75, G52, G53, G67, G41, G57, G32, G14, G15, G35, G76) avec une similarité se situant entre 94,4% et 100%.



**Figure 34** : Dendrogramme des marqueurs ISSR basé sur la distance Euclidienne des cinquante génotypes de blé dur.



Chowdhury *et al.*, (2008) ont utilisé des marqueurs ISSR pour estimer la diversité génétique d'un ensemble de 27 géotypes qui comprenait des variétés indiennes de blé panifiable sur le plan rendement, qualité et stress abiotique et les traces spécifiques de traits ayant des pedigrees connus. Ils ont constaté que l'analyse par dendrogramme a placé ces géotypes en six groupes et est en accord avec leur origine connue.

Abou-Deif *et al.*, (2013) ont analysé la diversité génétique et les relations entre les géotypes de blé incluant les variétés hexaploïdes, tétraploïdes et diploïdes.. Le dendrogramme indique que les marqueurs ISSR ont réussi à distinguer la plupart des 20 variétés par rapport à leur origine génétique et origine géographique, que les variétés tétraploïdes ont été réunies dans un groupe ainsi que les variétés diploïdes.

Carvalho *et al.*, (2009) ont utilisé les ISSR pour l'analyse de la diversité génétique d'une collection de blé portugais est ont constaté que les cultivars étaient regroupés en fonction de leurs variétés botaniques .

Sofalian *et al.*, (2008) ont utilisé des marqueurs ISSR pour déterminer la diversité génétique de 39 accessions de blé panifiable, dont 33 variétés de blé et 6 cultivars de blé du nord-ouest de l'Iran. Les analyses de clusters suggèrent que les marqueurs ISSR sont des outils efficaces pour estimer la diversité génétique intra-spécifique dans le blé et que ces marqueurs moléculaires pourraient différencier les variétés locales obtenues à partir de différents endroits.

**En Conclusion,** Une variation intra et inter variétale est observée. Les deux géotypes G137 de la variété *leucomelan* et G36 de la variété *reichenbachi* révèlent le nombre le plus élevé de bandes soit 24. Alors que le géotype G113 de la variété *leucomelan* révèle le nombre de bandes le plus faible de 13.

Les 10 amorces ISSR ne montrent aucun marqueur spécifique pour les 50 géotypes étudiés.

En comparant le pourcentage de polymorphisme des 22 amorces des 2 marqueurs RAPD (93%) et ISSR (60,8%), on observe que le taux de variation est plus élevé en utilisant les marqueurs RAPD.

### 3.6.3 La classification hiérarchique des deux marqueurs RAPD et ISSR

Le Dendrogramme des deux marqueurs RAPD et ISSR pour les 50 géotypes étudiés a permis de distinguer deux principaux clusters ( Fig.35 .Tab.44) :

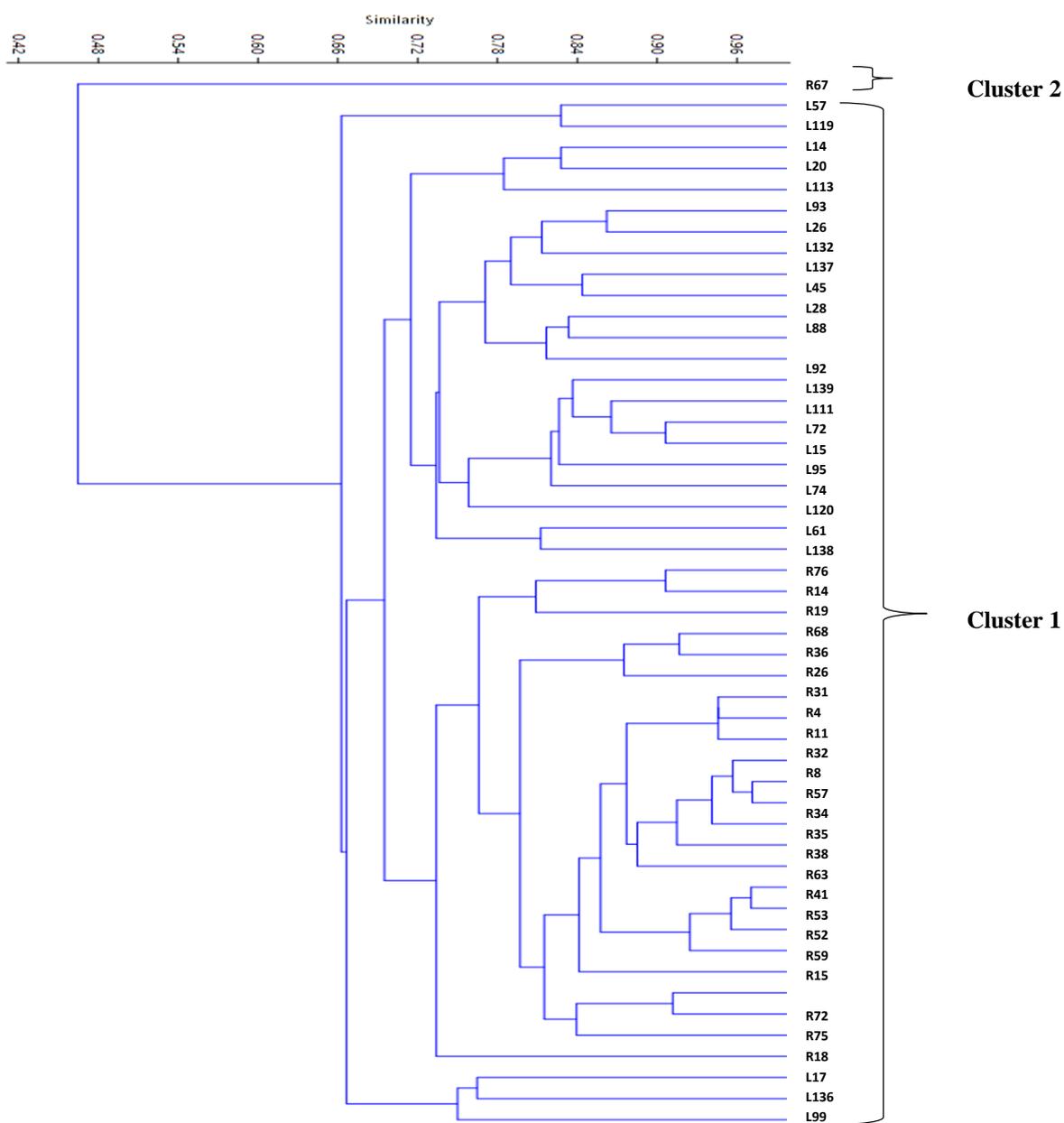
- le premier cluster se divise en deux grands groupes :
  - le premier grand groupe se subdivise en deux groupes :
    - le premier groupe comprend les géotypes G99, G136 et G11 de la variété *leucomelan* avec une similarité de 100%
    - le deuxième groupe se subdivise à son tour en deux sous -groupes :
      - le premier sous - groupe se divise en deux sous -sous groupes :
        - le premier sous -sous groupe comprend un seul géotype G18 de la variété *reichenbachi*.

- le deuxième sous- sous groupe englobe le nombre le plus élevé de génotypes de la variété *reichenbachii* (G75, G72, G75, G59, G52, G53, G41, G63, G38, G35, G34, G57, G8, G32, G4, G31, G26, G36, G68, G19, G14, G76) qui sont très proches avec une similarité de 79,4 à 90,6%.
- le deuxième sous- groupe se divise en deux sous -sous groupes :
  - le premier sous -sous groupe contient la plupart des génotypes de la variété *leucomelan* (G138,G61,G120,G74,G95,G15,G72,G111,G139,G92,G88,G28,G45,G137,G132,G26 et G93) avec une similarité de 74,2 à 83,9%.
  - le deuxième sous- sous groupe comprend également que 3 génotypes de la variété *leucomelan* (G113,G20 et G14) avec une similarité de 78% à 84%.
- Le deuxième grand groupe contient que 2 génotypes de la variété *leucomelan* ( G119 et G57).
- Le deuxième cluster présente le génotype G67 de la variété *reichenbachii* qui diffère de tous les autres génotypes des deux variétés *leucomelan* et *reichenbachii* .

Les résultats obtenus montrent que la plupart des génotypes appartenant à la même variété botanique étaient regroupés dans le même groupe principal, mais un polymorphisme ISSR - RAPD intra-variété a également été observé. ce qui est en accord avec les travaux de (Carvalho et al. 2008 ; Carvalho et al. 2009).

Plusieurs auteurs ont préconisé les marqueurs RAPD et ISSR (Bhutta *et al.*, 2006, Cao *et al.*, 1998, et Freitas *et al.*, 2000; Hao *et al.*, 2006, Khan *et al.*, 2010, Khavarinejad et Karimov, 2012, Malik *et al.*, 2008, Maric *et al.*, 2004, Mukhtar *et al.*, 2002, Najaphy *et al.*, 2011, Rehman *et al.*, 2013, Serova *et al.*, 2002, Shikhseyidova *et al.*, 2015).

El-Assal et Gaber, (2012) ont étudié la capacité discriminante des marqueurs RAPD et ISSR et leur efficacité dans l'établissement de la relation génétique et la diversité entre onze cultivars de blé et les races locales collectées en Egypte et en Arabie Saoudite. Le dendrogramme a classifié les génotypes évalués dans trois grappes principales correspondant aux régions de culture.



**Figure 35:** Dendrogramme des marqueurs RAPD-ISSR basé sur la distance Euclidienne des cinquantes génotypes de blé dur.



### 3.6.4 Conclusion

La présente étude démontre l'utilité des marqueurs RAPD et ISSR pour l'estimation des relations génétiques entre des génotypes appartenant à deux variétés de blé dur (*leucomelan* et *reihanbachi*). Les résultats ont montré que le choix des techniques de marqueurs aléatoires est toujours approprié et en raison des résultats fiables obtenus, d'un faible coût d'analyse et d'acquisition rapide des données. Les marqueurs RAPD ont rapporté 95% et 92,10% pour la moyenne du polymorphisme comparativement aux marqueurs ISSR dont le taux est de 68,7%.

La classification des 50 génotypes à l'aide des deux marqueurs RAPD et ISSR a révélé des résultats intéressants. Nous avons constaté que la plupart des génotypes étaient regroupés en fonction de leurs variétés botaniques.

Le polymorphisme détecté parmi les accessions de blé dur étudiées peuvent être utilisés dans les programmes d'amélioration et de sélection afin de maximiser l'utilisation des ressources génétiques. Les résultats obtenus dans cette étude enrichissent et complètent les données antérieures effectuées par les analyses pheno-morpho-physio et rendement.

*Conclusion*  
*générale*

## ***Conclusion générale et perspectives***

Le travail que nous avons réalisé est basé sur une comparaison entre 215 génotypes issue d'une collection de 2 variétés de blé dur : *reichenbachii* et *leucomelan* sur lesquelles ont été mesurés des paramètres : phénologiques, morpho-physiologiques et rendement et pour compléter cette étude biométrique et dans le but de mieux caractériser es génotypes, des marqueurs moléculaires ont été utilisés.

Les résultats obtenus ont été traités par des analyses statistiques multivariées qui ont permis de mettre en évidence une certaine variabilité intra et inter variétale à l'intérieur de cette accession de 215 génotypes.

Concernant les paramètres phénologiques, morpho-physiologiques et rendement, il est apparu que les génotypes étudiés montrent que la durée d'épiaison varie faiblement. La variété *leucomelan* montre des génotypes dont la précocité se situe entre 135 à 137 jours, alors que ceux de la variété *reichenbachii* 140 à 142 jours.

Les génotypes de la variété *leucomelan* se distinguent par une longueur du col, une longueur de la barbe d'épi, un poids de grains par épi et une hauteur de la plante élevés, alors que la plupart des génotypes de la variété *reichenbachii* ont une longueur de l'épi, un nombre d'épillets par épi et un nombre de grains par épi élevés et présentent une forte teneur en eau.

Le taux de chlorophylle le plus élevé est observé chez les deux génotypes G103 de la variété *leucomelan* et G25 de la variété *reichenbachii*.

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que les génotypes qui ont une longueur et une largeur de la feuille étandard élevées sont ceux appartenant à la variété *leucomelan* avec quelques génotypes de la variété *reichenbachii* (RG8, RG14, RG40et RG47).

L'analyse en composantes principales portant sur les variables morpho-physiologiques et rendement a permis de distinguer quatre principaux groupes : les génotypes les plus développés, ayant un haut rendement, une taille importante de la feuille étandard et les génotypes qui possèdent un taux de chlorophylle important.

L'analyse moléculaire par les marqueurs ISSR et RAPD a été d'une utilité reconnue permettant de déterminer les relations génétiques qui peuvent exister entre les génotypes des deux variétés.

L'analyse de 50 génotypes sélectionnés de l'ensemble de l'accession de 215 génotypes, par les marqueurs RAPD a mis en évidence une variation intra et inter variétale, ainsi le nombre le plus élevé de 25 bandes dont 22 sont polymorphes se rencontre chez le G68 de la variété *reichenbachii* et le plus réduit de 14 bandes chez les génotypes G45, G113 G 119 de la variété *leucomelan* et G 19 de la variété *reichenbachii*. Quant aux autres génotypes, ils présentent un nombre de bandes intermédiaire.

Les deux amorces CRAPD2 et RAPDb3 révèlent 2 marqueurs spécifiques pour les génotypes G 132 [220 pb (+)] et G15 [ 110 pb(+)] de la variété *leucomelan*.

Le Dendrogramme répartit les différents génotypes en deux grands clusters distincts de similarité situé entre 71,2 et 100%.

Parmi ces 50 génotypes, 20 sont retenus et analysés en utilisant 2 autres amorces ; DuPw004 et DuPw0023 qui ont amplifié 20 bandes dont 19 bandes polymorphes avec un pourcentage de 95%. L'amorce DuPw004 donne deux bandes spécifiques et 7 bandes non uniques avec un polymorphisme égal à 90%. L'amorce donne 5 bandes uniques et 5 bandes non uniques avec un polymorphisme optimal de 100%.

En comparant les résultats obtenus à partir des deux analyses RAPD menées en Egypte et en Tunisie pour les différentes amorces et les différentes techniques d'analyse d'ADN employées, on trouve que ces deux analyses présentent un polymorphisme très important respectivement de 95% et de 92,10% entre les génotypes considérés et révèlent que beaucoup de génotypes proches génétiquement sont des génotypes qui appartiennent à la même variété.

L'analyse de 50 génotypes par les marqueurs ISSR a permis les différencier, ainsi deux génotypes G137 de la variété *leucomelan* et G36 de la variété *reichenbachi* montrent le nombre le plus élevé de bandes soit 24. Les 10 amorces ISSR ne montrent aucun marqueur spécifique pour les 50 génotypes étudiés.

Les marqueurs RAPD ont rapporté 95% et 92,10% pour la moyenne du polymorphisme comparativement aux marqueurs ISSR dont le taux est de 60,8%.

Le polymorphisme détecté parmi les accessions de blé dur étudiées peuvent être utilisés dans les programmes d'amélioration et de sélection afin de maximiser l'utilisation des ressources génétiques.

les résultats obtenus suggèrent que la diversité génétique dans le blé peut être déterminée par l'utilisation des marqueurs moléculaires, car ces derniers ont révélé une variation génétique modérée entre les génotypes des deux variétés *reichenbachi* et *leucomelan*. Ces résultats enrichissent et complètent les données antérieures effectuées par les analyses phénologiques, morpho-physiologiques et rendement, et montrent que le choix des techniques de marqueurs aléatoires est toujours approprié en raison des résultats fiables obtenus, d'un faible coût d'analyse et d'acquisition rapide des données.

La combinaison des variables phénologiques, morpho- physiologiques et agronomiques déterminées et l'analyse moléculaire fournissent des informations nécessaires et complètes pour la gestion des ressources génétiques.

L'identification des génotypes permet pour le sélectionneur de faire un meilleur choix des parents à l'origine du croisement de départ et ainsi de mieux exploiter la diversité génétique dans un programme d'amélioration et de sélection.

L'originalité de ces travaux, permettant l'évaluation de la diversité phénotypique et génétique de deux variétés de blé dur, constitue une valeur scientifique considérable et prometteuse. En effet, l'ouverture de nouvelles perspectives, dans le but de rentabiliser davantage nos investigations reste judicieuse et il est souhaitable de :

– identifier des accessions ayant un rapport avec le rendement et la qualité en s'appuyant sur les données du polymorphisme moléculaires.

- utiliser d'autres marqueurs moléculaires pour une meilleure évaluation du polymorphisme génétique inter variétale.
- utiliser des marqueurs moléculaires spécifiques qui pourraient être liés à l'adaptation, au rendement et à la qualité des grains de blé.
- étudier l'expression génétique pour connaître les gènes intéressants qui sont sous le contrôle de plusieurs types de facteurs de transcription pour établir une stratégie de sélection des variétés reproductives et résistantes aux multiples conditions climatiques.
- confronter les résultats d'analyse de ressources génétiques à ceux de certains pays méditerranéens afin de construire un arbre phylogénétique global.
- étudier les descendants des croisements entre les variétés les plus distantes pour mieux comprendre le déterminisme génétique.

*Références  
bibliographiques*

- A -

- Abbad H., EL Jaafari S., Bort J., Araus J.L., (2004).** Comparaison of flag leaf and ear photosynthesis with biomass and grain yield of Durum wheats under various water conditions and genotypes. *Agronomie*:24,19-28.
- Abbassenne F., Bouzerzour H., Hachemi L., (1998).** Phénologie et production du blé dur en zone semi-aride d'altitude. *Annales INA - El Harrach* : 18, 24 – 36.
- Abdellatif K.F., AbouZeid H.M., (2011).** Assessment of genetic diversity of Mediterranean bread wheat using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* :9, 157 –163.
- Abou-Deif M.H., Rashed M.A.A., Sallam E.A.H., Mostafa W.A., (2013).** Characterization of twenty wheat varieties by ISSR markers. *Middle-East J. of Scientific Res*: 15,168-175.
- Acevedo E.,Silva P., Silva H., (2002).** Wheat growth and physiology. In: Curtis BC (Ed.). *Bread Wheat: Improvement and Production*, FAO.Plant Production and Protection Series No. 30. 560-567p.
- Adhikary S.K., Alam M.Z., Paul N.K., (2009).** Variation of grain growth of wheat cultivars. *Bangladesh J. Agril. Res*: 34(3), 351-359.
- Ahmed M.F., Iqbal M., Masood M.S., Rabbani M.A., Munir M., (2010).** Assessment of genetic diversity among Pakistani wheat (*Triticum aestivum* L.) advanced breeding lines using RAPD and SDS-PAGE. *Electron J Biotechn* 7(5): 33-39.
- Akar T., Ozgen M., (2007).** Genetic diversity in Turkish durum Wheat landraces. *Wheat Production in Stressed Environments Developments in Plant Breeding*: 12, 753-760.
- Ali Dib T., Monneveux Ph., Araus J., (1990).** Breeding durum wheat for draught tolerance proc – Inter symp. – Bulgaria – Albena . *Agri acad*: 224-240.
- Aliyev R.T., Abbasov M.A., Mammadov A.C., (2007).** Genetic identification of diploid and tetraploid wheat species with RAPD markers. *Turkish Journal of Biology*: 31,173 –180.
- Anand A., Gupta A.K., Teshale E.T., Mishra A., Khanna V.K., (2008).** Phylogenetic relationship to study the ploidy status and resistance to Karnal Bunt in Indian wheat cultivars using RAPD technique. *Biotechnology*: 7,430 –438.
- Anderson J.A., Churchill G.A., Autrique J.E., Tanksley S.D., Sorrells M.E., (1993).** Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*, February: vol. 36, no1, 181-186.
- Annie M., Karrer H., Taylor J. W., (1929).** The water content of wheat leaves at flowering time. *Brief papers*. 393-397p.
- Araus J.L., Alegre L., Ali Dib T., Benlaribi M., Monneveux Ph., (1991) .** Epidermal and stomatal conductance in seeding of durum wheat landraces and varieties: in physiology breeding of winter cereals for stressed. *Medit.environment.Colloque* :55, 225- 242.
- Arvalis, (2016).** Savoir quantifier les manques de grain dans les épis. [www.ile-de-france.chambagri.fr/pro/rep-production/grande.../2016\\_bsv](http://www.ile-de-france.chambagri.fr/pro/rep-production/grande.../2016_bsv) .22P

- Ashfaq M., Khan A.S., Ali Z., (2003).** Association of morphological traits with grain yield in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Int. J. Agric. Bio* : 5, 262-264.
- Attia F., (2007).** Effet du stress hydrique sur le comportement écophysio-physiologique et la maturité phénologique de la vigne (*Vitis vinifera* L.) : Etude de cinq cépages autochtones de Midi-Pyrénées. Thèse INP, Toulouse (France), 194p.
- Austin R.B., (1987).** Some crop characteristics of wheat and their influence on yield and water use. In: Drought tolerance in winter cereals (JP Srivastava, E Porceddu, E Acevedo, S Varma, eds) John Wiley and Sons, UK; 321-326.
- Awad H.A., Youssef M.A.H., Moustafa E.S.A., (2010).** Identification of Genetic Variation among Bread Wheat Genotypes for Lead Tolerance Using Morpho – Physiological and Molecular Markers. *Journal of American Science*: 6 (10), 1142-1153.
- B-**
- Backeljau T., De Bruyn L., De Wolf H., Jordaens K., Van Dongen S., Verhagen R., Winnepeninckx B., (1995).** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and parsimony methods. *Cladistics*: 11 , 119-30.
- Bahlouli F., Bouzerzour H., Benmahammed A., (2008).** Effets de la vitesse et de la durée du remplissage du grain ainsi que de l'accumulation des assimilats de la tige dans l'élaboration du rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) dans les conditions de culture des hautes plaines orientales d'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* : 12(1 ), 31 -39.
- Baghizadeh, A., Khosravi S., (2011).** Genetic diversity assessment of aegilops germplasm by RAPD molecular markers. *Agriculture and Biology Journal of North America*: 2(2), 197-202.
- Bagga A.K., Ruwal K.N., Asana R.D., (1970).** Comparaison of responses of some indian and semi – dwarf Mexican wheats to unirrigated cultivation. *Indian J. Agri. Sci*:40:421-427.
- Baldy C., (1973).** Sur l'énergie active en photosynthèse. Son utilisation par les graminées au cours de leur développement. *Ann. Agron.* 24 (1) :1-13.
- Bammoun A., (1997).** Contribution à l'étude de quelques caractères morpho- physiologiques, biochimiques et moléculaires chez des variétés de blé dur (*Triticum turgidum* ssp *durum*.) pour l'étude de la tolérance à la sécheresse dans la région des hauts plateaux de l'Ouest Algérien. Thèse de Magistère : pp 1-33.
- Barcaccia G., Molinari L., Porfiri O., Veronesi F., (2003).** Molecular characterization of emmer (*Triticum dicoccon* Schrank) Italian landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution*: 49,417 – 428.
- Barkat M., (2005).** Caractérisations morpho-physiologique et physico-chimique des descendants issus de cinq générations de back-cross et de leurs géniteurs de blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse Doctorat en Sciences de la Nature. 150p
- Barrs H., (1968).** Determination of water deficit in plant tissues. In: water deficit and plant growth. Koslowski T. (Ed). Academy Press, New York: 235-238.
- Belaid D., (1987).** Aspects de la céréaliculture Algérienne. Edition OPU. Alger, 207 p.

- Belaifa R., Lessard F., (2015).** Évaluation expérimentale de la sensibilité aux attaques du charançon du riz de variétés d'espèces céréalières cultivées en Algérie. *Cah Agric* : 24, 283-291.
- Belattar R., Boudour L., Sellal A., (2012).** Studies of Morpho-Physiological and Phenological Aspects for a Collection of Algerian Durum Wheat (*Triticum durum* Desf. ). *Pharmacognosy Communications* :2(4) ,16-22
- Belattar R., Boudour L., Chaib G., (2016).** Analyse De La Variation Morpho-Phenologique et Genetique De Vingt Accessions Du Ble Dur Algerien (*Triticum durum*). *European Scientific Journal*:12(44), 168-185.
- Belattar R., Chaib G., Boudour L., Bouchtab K., (2017).** Molecular characterization of genetic variation in algeria durum wheat accessions (*Triticum durum* Desf.) Using rapd and issr markers. *Advances in Environmental Biology*: 11 (5), 95-109.
- Ben Abdallah N., (1993).** Paramètres morpho- physiologiques des sélections pour la résistance à la sécheresse des céréales. In : Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration des variétés, (Montpellier, France, 15-17 Décembre). Eds. Ben Salem M. et Monneveux P., INRA, les colloques №64, 173-190.
- Benlaribi M., (1984).**Facteurs de productivité chez six variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) cultivées en Algérie. Thèse de Magister, I.S.B. Université de Constantine :111p.
- Berges H., Toul G., (2013).** Les banques BAC à l'ère des nouvelles technologies de séquençage : l'exemple du génome du blé. CNRGV-INRA. <http://cnrgv.toulouse.inra.fr/>
- Bhutta W.M., Akhtar J., Ibrahim M., Shahzad A., (2006).** Genetic variation between Pakistani wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes as revealed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers: 72,280-283.
- Bibi S., Dahot M.U., Khan I.A., Khatri A., Naqvi M.H., (2009).** Study of Genetic Diversity in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Using Random Amplified Polymorphic DNA (Rapid) Markers. *Pakistan J. Bot*: 41,1022-1027.
- Biscope P.V., Gallagher J., Littleton E.J., Monteinth K.L., Scott R.K., (1975).** Barley and its environment. Sources of assimilates. *J. Appl. Eco*:12,395.
- Blum A., (1988).** Plant breeding for stress environment –Baco.reaton.Florida – Ed CRC Press INC . 223p.
- Blum A., (1996).**Crop responses to drought and the interpretation of adapt plant growth regulation : 20,135-148.
- Bodenes C., Laigret F., Kremer A., (1996).**Inheritance and molecular variations of PCR-SSCP fragments in pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Theor Appl Genet* :93 , 348-54.
- Bojovic B., Stojanovic J., (2005).** Chlorophyll and carotenoid content in wheat cultivars as a function of mineral nutrition. *Archives of Biological Sciences* : 57, 283–290.
- Bolot S., Abrouk M., Masood-Quraishi U., Stein N., Messing J., Feuillet C., Salse J., (2009).** The “inner circle” of the cereal genomes. *Current opinion in plant biology*: 12(2) ,119–125.

- Boudour L., Djekoun A., Ghribi D., (2004).** Morphology diversity of Algerian durum wheat population. Arab. Univ. J. sci: 12(2),597-608.
- Boudour L., (2006).** Étude des ressources phyto-génétiques du blé dur (*Triticum durum* Desf.) algérien : analyse de la diversité génétique et des critères d'adaptation au milieu. Thèse Doctorat d'Etat. Université Mentouri Constantine, 142p.
- Boulassel A., (1998).** Utilisation rationnelle de l'irrigation d'appoint sur deux variétés de blé dur (Waha et Acsad 65). Thèse de Magistère. ENASA El-harrach Alger.120p
- Bousba R., (2012).** Caractérisation de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Analyse de la physiologie et de la capacité en production. Doctorat en science. Université Mentouri Constantine:117p.
- Boyer J.S., (1970).** Leaf elongation and metabolic rates in corn, soybean, and sunflower at various leaf water potential. Plant Physiol: 46, 233-235.
- Bouzerzour H., Oudine M., (1989).** Association de certains caracteres morphologiques au rendement grain chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) en conditions semi-arides. INRA; 3, 157-167.
- Bouzerzour H., Hafsi M., (1993).** Diagnostic du comportement variétal du blé dur dans les hautes plaines sétifiennes. In : Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier, France. Ed. INRA, Paris : 64, 205-215.
- Bouzerzour H., Djekoun A., Benmahammed A., Hassous L., (1998).** Contribution de la biomasse aérienne de l'indice de récolte et de la précocité à l'épiaison au rendement en grain (*Hordeum vulgare* L.) en zone semi d'altitude. *Cahiers d'Agriculture* : 8,133-137.
- Bozzini A., (1988).** Origin, distribution, and production of durum wheat in the world. In Fabriani, G. et Lintas, C. (éd.) *Durum: Chemistry and Technology*. AACC (American Association of Cereal Chemists), Inc. St. Paul, Minnesota, Etats-Unis. P :1 - 16.
- Braun A., Hoffmann J.A., Meister M., (1998).** Analysis of the Drosophila host defense in domino mutant larvae, which are devoid of hemocytes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A: 95(24),14337-14342.
- Bretting P.K., Widrechner M.P., (1995).** Genetic markers and plant genetic resource management. In : Janick J, ed. *Plant Breeding Reviews*, Vol 13. New York : John Wiley & Sons Inc, 11-86.
- Scarano, D. Rao, R. 2014.** DNA markers for food products authentication. *Diversity* :6, 579–596.
- Brinis L., (1995).** Effet du stress hydrique sur quelques mécanismes morpho physiologiques et biochimiques de traits d'adaptation et déterminisme génétique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Doctorat d'état en sciences. Physiologie végétale et amélioration génétiques des plantes. Université d'Annaba (Algérie).156 p.
- Brouillet H., Boudin D., jayka- sureur N., lilasy J., (2009).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments.V1, classificatin botanique de céréales. *Tec & Doc*. Paris .Lavoisier :381p.
- Buckman, (1990).** L'érosion est la principale cause des pertes en phosphate. Agriculture et fertilisation. 258p.

-C-

- Cao W.G., Hucl P., Scoles G., Chibbar R.N., (1998).** Genetic diversity within spelta and macha wheats based on RAPD analysis. *Euphytica*: 104,181-189.
- Carvalho A., Brito J.L., Macas B., Pinto H.G., (2008).** Genetic variability analysis of a collection of old Portuguese bread wheat using ISSRs. *Options Méditerranéennes. Ser. A. Sem. Médit.*:81,35-38.
- Carvalho A., Brito J.L., Macas B., Pinto H.G., (2009).** Genetic diversity and variation among botanical varieties of old Portuguese wheat cultivars revealed by ISSR assays. *Biochemical Genetics*: 47, 276-294.
- Casnin C., Madre J.F., Levesque H., (2013).** Le blé, une plante modèle pour étudier la biologie végétale. Ifé-ENS de Lyon.47p
- Castagna R., Gnocchi S., Perenzin M., Heun M., (1997).** Genetic variability of the wild diploid wheat *Triticum urartu* revealed by RFLP and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* : 94,424 –430
- Cecarelli S., Grando S., Van Leur, J. G. A., (1987).** Genetic diversity in barley landraces from Syria and Jordan. *Euphytica* :36, 389-405.
- Ceccarelli S., Grando S., Hamblin J., (1992).** Relationship between barley grain yield measured in low and high yielding environments .*Euphytica*: 64,49-58.
- Genkci S., Yildiz M., Konuk M., Eren Y., (2008).** RAPD analyses of some wild *Triticum* L. and *Aegilops* L. species and wheat cultivars in Turkey. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*: 50,35 –42.
- Chai S. X., Wang D.X., Chai S. C., (1993).** The use value of some characters concerning drought resistance in winter wheat under water stress. *Acta Agriculturae Boreali Sinica* 8(1): 1-6.
- Chaib G., Abdelsalem A.Z.E., Benlaribi M., Ibrahim M., (2015).** Biochemical and molecular Genetic Characterization of ten durum wheat genotypes (*Triticum durum* Desf.), BIOENG '15 / II. International Bioengineering Conference 25-26 November 2015 Istanbul , Turkey P:163- 178.
- Chalupska D., Lee H. Y., Faris J. D., Evrard A., Chalhoub B., (2008).** Acc homoeoloci and the evolution of wheat genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*: 105, 9691–9696.
- Charles M., (2010).** Évolution des génomes du blé (genres *Aegilops* et *Triticum*) au sein des *Poaceae*. Dynamique rapide de l'espace occupé par les éléments transposables et conservation relative des gènes. Thèse de Doctorat en sciences de l'université d'Évry-Val d'Essonne. France 149p
- Charrier A., Eskes A.B., (1997).** Les caféiers. In L'amélioration des plantes tropicales. Cirad.Paris.171-196.
- Chartzoulakisa K., Patakasb A., Kofidisc G., Bosabalidisc A., Nastoub A., (2002).** Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. *Scientia Horticulturae* : 95 , 39–50.
- Chehat F., (2016).** Développer la recherche pour augmenter la production. Inraa. Algérie. <http://inraa-veille.blogspot.com/2016/03/fouad-chehat-directeur-de-linraa-ble.html>.

- Choulet F., (2014).** Première séquence de référence d'un chromosome de blé. Centre Inra de Clermont-Ferrand-Theix-Lyon. (Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal).250p
- Chowdhry A.R., Shah A.M., Ali L., Bashir M., (1986).** Path coefficient analysis of yield and yield components in wheat. *Pak. J. Agric. Res:* 7, 71-75.
- Chowdhury R.M.V.K., Kundu S.J.S., Jain R.K., (2008).** Applicability of ISSR markers for genetic diversity evaluation in Indian bread wheat genotypes of known origin. *Environ. Ecol:* 26, 126-131.
- Chova M.M., Peña F., del Campillo M., Delgado A., Díaz, M.A., (2000).** Efecto de la corrección de la clorosis férrica en olivar con fosfato de hierro en los parámetros de calidad del aceite de oliva virgen, *Edafología*, 7-2.
- Cifci E.A., Yagdi K., (2012).** Study of Genetic Diversity in Wheat (*Triticum aestivum*) Varieties Using Random Amplified Polymorphic DNA (Rapid) Analysis. *Turk J Field Crops:* 17,91-95.
- Cirad Inra, IRD., (2015).** Qu'est-ce qu'une ressource génétique ?. Portail d'information sur la biodiversité et l'agriculture dans l'océan Indien.13p
- Clarke J.M., (1987).** Use of physiological and morphological traits in breeding programmes to improve drought resistance of cereals. In: *Drought tolerance in winter cereals* (JP Srivastava, E Porceddu, E Acevedo, S Varma, eds) John Wiley and Sons, UK,171-189.
- Clarke J. M., Mac-Craig T. N., (1982).** Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat. *Crop sciences:* 22, 503-506
- Cordeiro A.M., Alcantara E., Barranco D., (1995).** Differences in tolerance to iron deficiency among olive cultivar. In: *Iron nutrition in soils and plants.*, Ed. J. Abadia, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 197-200
- Couvreur F., (1981).** La culture du blé se raisonne .perspectives agricoles : 91,28-32.
- Cox, T.S., Harrell, L.G., Chen, P., Gill, B.S., (1991).** Reproductive behavior of hexaploid/diploid wheat hybrids. *Plant Breed.* , 107: 105-118.

### -D-

- Delaney D.E., Nasuda S., Endo T.R., Gill B.S., Hulbert S.H., (1995).** Cytologically based physical maps of the group 2 chromosomes of wheat. *Theor. Appl. Genet* :91, 568-573.
- Dellaporta S.L.,Wood J., & Hicks J.B., (1983).** A plant DNA miniprep: *Plant Mol. Boil. Rep.* 1, 19-21.
- Deswarte J.C., (2016).** Comment s'élabore le rendement des céréales à paille ? Arvalis - Institut du végétal. <http://www.action-agricole-picarde.com/actualites/comment-s-elabore-le-rendement-des-cereales-a-paille:UJ9MEM8E.html>.
- Deumier J.M., (1987).** Bilan de quelques années d'irrigation du blé. *Persp Agric* :114, 11-16.
- Dib. A T., (1990).** Breeding durum for drought tolerance analytical, synthetical approaches and their connections, in wheat breeding prospects and futur approchePanayotov T ; and Pavlov S, (eds). Albena, bulgaria ,224- 240.

**Donini P., Law J.R., Koebner R.M.D., Reeves J.C., Cooke R.J., (2000).** Temporal trends in the diversity of UK wheats. *Theor. Appl. Genet*: 100, 912-917.

**Donini P., (2005).** The impact of breeding on genetic diversity and erosion in bread wheat. *Plant Genetic Resources* : 3, 391-399.

**Donmez, E., Sears R.G., Shroyer J.P., Paulsen G.M., (2000).** Evaluation of Winter Durum Wheat for Kansas. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. 172 p.

**Dubcovsky J., Luo, M.C., Zhong G.Y., Bransteitter R., Desai A., Kilian A., Kleinhofs A.,**

**Doyle J.J et Doyle J.L., (1990).** Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.

**Dvorak J., (1996).** Genetic map of diploid wheat, *Triticum monococcum* L., and its comparison with maps of *Hordeum vulgare* L. *Genetics*: 143, 983-999.

**Dunstone, R. L., (1970).** Some physiological aspects of evolution in wheat. *Australian Journal of Biological Science*: 23 , 725-41 .

**Du J.K., Yao Y.Y., Ni Z.F., Peng H.R., Sun Q.X., (2002).** Genetic diversity revealed by ISSR molecular marker in common wheat, spelt, compactum and progeny of recurrent selection. *Yi Chuan Xue Bao*: 29,445-452.

### -E-

**Ebrahimi S., Sayed-Tabatabaei B.E., Sharifnabi B., (2010).** Microsatellite isolation and characterization in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Iranian J Biotechnol*: 8(3), 159-163.

**Eck H.V., (1986).** Effect of water déficits on yield, yield components and water use efficiency of irrigated corn. *Agronomy J.* Vol. 78 №6 p : 1035-1040.

**El-Assal S.E.D., Gaber A., (2012).** Discrimination capacity of RAPD, ISSR AND SSR markers and their effectiveness in establishing genetic relationship and diversity among Egyptian and Saudi wheat cultivars. *American Journal of Applied Sciences*: 9(5), 724-735.

**El Hakimi A., Monneveux P., Galiba G., (1995).** Soluble sugars, proline, and relative water content as traits for improving drought tolerance in *Triticum durum*. *J. Gen. Breed*:49, 234-244.

**Engledow F.L., Wadham S.M., (1993).** Investigation on yield in the cereals. Part 1. *J Agric. Sci* : 13, 390-439.

**Erroux, A., (1974).** *Agronomie méditerranéenne* .Edi . Lavoisier, 342P.

**Erchidi A.E., Benbella M., Talouizte A., ( 2000).** Relation entre certains paramètres contrôlant les pertes en eau et le rendement en grain chez neuf variétés de blé dur soumises au stress hydrique. *Options méditerranéennes, série A (Séminaires méditerranéens)* : 40, 279-82.

### -F-

**Fadoul HE., Marmar A., Siddig ELand Adil A., (2013).** Assessment of genetic diversity among Sudanese wheat cultivars using RAPD markers. *INT J CURR SCI*: 6, E 51 -57.

**FAO, (1983).** Commission on plant genetic resources. Resolution 8/83 of the 22nd session of the FAO conference. Rome.6-81.

**FAO/IPGRI Genebank Standards, (1994).** Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, International Plant Genetic Resources Institute, Rome. 92-9043-236-5.

**Febrero A., Brot J., Brown R.H., Araus J.L., (1990).** The role of durum wheat ear as photosynthetic organ during grain filling. In: advanced trends in photosynthetic, Mallorca, Spain (unpublished). pp 23-245.

**Fellah A., Benmahammed A., Djekoun A., Bouzerzour H., (2002).** Selection pour améliorer la tolérance aux stress abiotiques chez le blé dur(*Triticum durum*.Desf).Actes de l'IAV ,Hassan II,(Maroc) : 22,161-170.

**Figuliulo G., (2000).**A nested analysis to detect relationships between genetic markers and germoplasm classes of durum wheat: Plant Genetic Ressources Neweletter: 124,44- 50.

**Fisher R., Maurer A., (1978).**Drouht resistance in spring wheat cultivars. Grain yield responses.Aust J.Agr.Res:29,897-912.

**Focar M., Nguyen H.T., Blum A., (1998).** Heattolerance in spring wheat. Grain filling. Euphytica: 104,9-15.

**Fonseca A., Patterson F.L., (1968).** Hybrid vigour in a seven parent diallel cross in common winter wheat (*T. aestivum* L.). *Crop Sci* : 8, 85-88.

**Frankel O.H., (1977).** Natural variation and its conservation. In A. Muhammed and R.C. von Botstel,eds. Genetic diversity of plants. New York, NY, USA, Plenum Press: p. 21 -24

**Freitas L.B.D., Leandro J., Luis B.S., Mauro S.F., (2000).** Extreme homogeneity among Brazilian wheat genotypes determined by RAPD markers. *Pesq Agropec Bras Brasilia*: 35,2255-2260.

**Fukuoka S., Inoue T., Miyao A., Monna L., Zhong H.S., Sasaki T., Minobe Y., (1994).** Mapping of sequence-tagged sites in rice by single-strand conformation polymorphism. *DNA Research* :1 , 271-7.

**FU Y.B., (2006).** Impact of breeding on genetic diversity of the Canadian hard red spring wheat germplasm as revealed by EST-derived SSR markers. *Theor. Appl. Genet* : 112, 1239-1247.

### -G-

**Gallais A., (2013).** Évolution de la diversité génétique des variétés de plantes cultivées .Copyright. Académie d'Agriculture de France. 9 p.

**Gate P., Bouthier A., Woznica K., Manzo M.E., (1990).** La tolérance des variétés de blé tendre d'hiver à la sécheresse: premier résultats ITCF. *Persp Agric* : 145, 17-23.

**Gate P., Brain P., Colnenne J., Briffaux G ., ( 1992).** pour les céréales à paille à chaque variété son époque de survie - Perspectives agricoles : 148, 20-27.

**Gate P., Bouthier A., Casablanca H., Deleens E., (1993).** Caractères physiologiques décrivant la tolérance à la sécheresse des blés cultivés en France. Interprétation des corrélations entre le

rendement et la composition isotopique du carbone des grains. In : Tolérance à la sécheresse des céréales en zone Méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Ed. INRA, Montpellier (France) : 64, 61-73.

**Gate P., (1995).** Ecophysiologie du blé. Paris: Tec et Doc- Lavoisier Gill, K.S., Gill, B.S. and Endo, T.R. 1993. A chromosome region-specific mapping strategy reveals generic telomeric ends in wheat. *Chromosoma* : 102, 374-381.

**Goffaux R., Goldringer I., Bonneuil C., Montalent P., Bonnin I., (2011).** Quels indicateurs pour suivre la diversité génétique des plantes cultivées ?. Le cas du blé tendre cultivé en France depuis un siècle. Rapport FRB, Série Expertise et Synthèse, 44 p.

**Gradzielewska A., Tyrka M., Nazaruk J., Leśniowska-nowak J., (2014).** Genetic Relationships Among Representatives of *Dasypyrum*, *Secale* and *Triticum* Species Revealed with RAPD and ISSR Markers. *Not Bot Horti Agrobot*: 42(2),420-430.

**Grewal S., Kharb P., Malik R., Jain S., Jain R., (2007).** Assessment of genetic diversity among some Indian wheat cultivars using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Indian Journal of Biotechnology*: 6,18 –23.

**Grignac P., (1965).** Contribution à l'études du *triticum durum Desf* - Thèse de Doctorat – Univ . Toulouse 246p.

**Guettouche R.k., (1990).** Contribution à l'identification des caractères morpho physiologiques d'adaptation à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). Thèse diplôme d'agronomie approfondie. ENSA Montpellier. PP 236–246.

### -H-

**Haddad L., (2009).** Contribution à l'étude de la stabilité des rendements du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous climat méditerranéen. Magister, UFA Sétif. 70 p.

**Hadjichristodoulou A., (1985).** Stability of Performance of Cereals in Low- Rain fall Areas as Related to Adaptive Traits. Drought Tolerance in Winter Cereals Proceedings of an International Workshop, 27-31 October, Capri, Italy, 191 -199.

**Hadjichristodoulou A., (1989).** Environmental correlation among grain yield and other important trait of wheat in dry lands. *Euphytica*: 44 ,143-150.

**Hajiyev E.S., Akparov Z.I., Aliyev R.T., (2015).** Genetic polymorphism of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) accessions of azerbaijan. *Plant Genetics . Russ J Genet*, 51, pp863-870.

**Hallden C., Hansen M., Nilson N.O., Hjerdin A., Säll T., (1996).** Competition as a source of errors in RAPD analysis. *Theor Appl Genet* : 93 , 1185-92.

**Hamada Y., (2002).** Evaluation de la variabilité génétique et utilisation des espèces tétraploïdes du genre *Triticum* pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse Magister. Université Mentouri Constantine, 167p.

**Hammer O., David A., Harper T., Paul D., Ryan A., (2001).** PAST, Paleontological Statistical Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontological Association. USA. vol. 4, issue 1, art. 4: 9pp.

**Hannachi A., Fellahi Z., Bouzerzour H., Boutekrabort A., (2013).** Correlation, Path Analysis and Stepwise Regression in Durum Wheat (*Triticum Durum* Desf.) under Rainfed Conditions. *Journal of Agriculture and Sustainability* : 3 (2) ,122-131.

**Hannachi, (2013).**Analyse diallèle de quelques caractères associés à l'adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf.) au climat semi-aride. Mémoire de Magister, Université Saad Dahlab de Blida. 106 p.

**Hao C., Wang L., Zhang X., You G., Dong Y., Jia J., Liu X., Shang X., Liu S., Cao Y., (2006).** Genetic diversity in Chinese modern wheat varieties revealed by microsatellite markers. *Sci China C Life Sci*: 49,218-226.

**Harrath N., ( 2003) .** Analyse génétique de l'intégrité cellulaire et de la vitesse de dessèchement foliaire chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) . Institut des sciences de la nature, centre universitaire Larbi Ben Mhidi , OEM, 50 p.

**Hawkes J.G., (1991).**The importance of genetic resources in plant breeding. *Biological Journal of the Linnean Society.* :Volume : 43,3–10.

**Hernandez P., Martin A., Dorado G., (1999).** Development of SCARs by direct sequencing of RAPD products: a practical tool for the introgression and marker-assisted selection of wheat. *Mol. Breed* : 5 (3), p. 245–253.

**Hochman Z., (1982).** Effect of water stress with phasic development on yield of wheat grown in a semi-arid environment. *Field Crops Res*: 5, 55-67.

**Hsiao T.C., ( 1973).** Plants responses to water stress. *A. Rev. Pl. Physiol*: 24, 519-570.

**Huang S., Sirikhachornkit A., Su X.J., Faris J., Gill B., Hasekorn R., Gornicki P.,(2002).**Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate Kinase of the triticum/Aegilops complex and the evolutionary history of polyploidy wheat .*Proc Natl AcadSci USA* :99,8133-8138.

### -I-

**IBPGR, (1985).** *Ecogeographical Surveying and In Situ Conservation of Crop Relatives*, Conseil international des ressources phylogénétiques (*International Board for Plant Genetic Resources, IBPGR*), Rome, Italie.27p

**IGC, (2012).** Grain market report. In.Jagtap V., S. Bhargava, P. Streb, J. Feieraben; (1998). Comparative effect of water, heat and light stresses on photosynthetic reactions in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *J. Exp. Bot*: 49, 1715-1721.

**İlker E., Aykut T. F., Tosun M., (2010).** Heterosis for yield and its components in bread wheat crosses among powdery mildew resistant and susceptible genotypes. *Pak. J. Bot*: 42(1), 513-522

**Innes P., Blackwel R.D., Austin R.B., Ford M.A., (1981).** The effects of selection for number of ears on the yield and water economy of winter wheat. *J Agric .Sci Camb*: 97, 523-532.

### -J-

**Johanson I.R., Thornly J.H.M., (1983).**Vegetative crop growth model incorporation leaf area expansion and senescence, and applied to grass.Edit,Plant,Cell and Environnement: Vol.6,pp721-729.

**Johnson R.R., Moss D.V., (1976).** Effect of water stress on photosynthesis and transpiration of flag leaves and spikes of barley and wheat. *Crop. Sci:*14(5), 728-731.

**Johnson D.A., Richards R.A., Turner N.C., (1983).** Yield water relations, gas exchange and surface reflectance of near-isogenic wheat lines differing in glaucousness. *Crop Sci:* 23, 318-325.

**Joshi C.P., Nguyen H.T., (1993).** RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) analysis based intervarietal genetic relationships among hexaploid wheats. *Plant Sci:* 93, 95–103.

### -K-

**Kahali A., (1995).** Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *Plant. Physiol:* 145, 363-366.

**Karaca M., Izbirak A., (2008).** Comparative analysis of genetic diversity in Turkish durum wheat cultivars using RAPD and ISSR markers. *J. Food Agric. Environ:* 6, 219-225.

**Kellogg E.A., (2001).** Evolutionary history of the grasses. *PlantPhysiol:* 125,1198–1205.

**Khan A.J., Azam F., Ali A., (2010).** Relationship of morphological traits and grain yield in recombinant inbred wheat lines grown under drought conditions. *Pak. J. Bot:*42(1),259-267.

**Khan A.A., Iqbal A., Awan., F.S., Khan I.A., (2010).** Genetic Diversity in Wheat Germplasm Collections from Balochistan Province of Pakistan. *Pakistan J Bot:* 42,89-96.

**Khavarinejad M., Karimov M., (2012).** Assessment of genetic diversity in wheat spring genotypes by molecular markers in northern Iran. *Afr J Biotechnol.* 11,14724-14731.

**Kihara H., (1919).** Ueber cytologische Studien bei einigen Getreidearten. 1. Spezies-Bastarde des Weizens und Weizenroggen-Bastard. *Bot. Mag:* 32, 17-38.

**Kirkham M. B., Smith E. L., Danasobhon C., Draket, T. I., (1980).** Resistance to water loss of winter wheat flag leaves. *Cer. Res. Commun.* 8, 393 p.

**Knezevic D., Zecevic V., Stamenkovic S., Atanasijevic S., Milosevic S., (2012).** Variability of number of kernels per spike in wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Central European Agriculture:* 13(3), p.608-614

**Konate I., (2010).** Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.)et des Bactéries Endophytes qui lui sont Associées. Thèse de doctorat. Université mohammed v-agdal faculte des sciences .RABAT,167p.

**Kovacevic V., (2007).** Improvement of acid soils utilization by agromeliorative treatments. In: *Monograph «Improvement of agricultural production in Kosovo and Metohia,* (ed. D. Knežević) pp.158-167.

### -L-

**Ladigues P.V., (1975).** Some aspects of issue water relations in three populations of *Eucalyptus viminalis* Labill. *New phytol:* 75, 53-62.

**Larcher W., (1995).** Physiological plant ecology: Ecophysiology and stress physiology of functional groups, Ed Springer-Verlag, Third edition, 506 P.

- Lee J. A., and Kaltsikes P. J., (1973).** The application of Mahalanobis's generalised distances to measure genetic divergence in durum wheat. *Euphytica*: vol. 22: 124–131.
- Le buanec B., (2010).** Evolution de la diversité génétique des variétés commercialisées chez différentes espèces de grande culture. *Le Sélectionneur Français* : (61), 7 – 14.
- Leistrumaite A., (2001).** Investigation and evaluation of cereal crop varieties and breeding lines by morphological characteristics and most important agronomic qualities. *Biologija*: No.4, Supplement, 28-31.
- Lilienfield, F.A., (1951).** Genome analysis in *Triticum* and *Aegilops*. Concluding review. *Cytologia*: 16,101 -123.
- Liu G.H., Jia B.L., (2003).** The study of genetic diversity of *Ulmus pumila* var. *sabulosa*. *J. Arid Land Resour. Environ*: 17, 123-128.
- Ljubičić N., Petrović S., Dimitrijević M., Hristov N., Vukosavljev M., Srećkov Z., (2014).** Diallel Analysis for Spike Length in Winter Wheat. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*: 2, 1455-1459.
- Lounes, Y, Guerfi, A.,(2010)** . Contribution à l'étude du comportement agronomique de 27 nouvelles variétés de blé dur en vue de leur inscription au catalogue officiel national. State agronomy engineering diploma, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algeria.100p.
- M-**
- MAAARO (Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales de l'Ontario). 2009.** Systèmes de séchage. Guide agronomique des grandes cultures – publication 811F.<http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/field/reports/2009summary-ediblebean.htm>.
- Maachi L., (2005).** Etude de comportement d'une céréale à grains sous centre pivot dans la région de Ouargla : Evaluation de l'efficacité de l'irrigation et de la fertilisation azotée. Thèse., Ing, agro, Sah. ITAS, Ouargla, 91p.
- Ma J.X., Zhou R.H., Dong Y.S., Jia J.Z., (2000).** Control and inheritance of resistance to yellow rust in *Triticum aestivum*/*Lophopyrum elongatum* chromosome substitution lines. *Euphytica*: 111, 57-60.
- Maccaferri M., Sanguinetti M.C., Donini P., Tuberosa R., (2003).** Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. *Theor. Appl. Genet*: 107, 783-797.
- MacKay T.F.C., Stone E., Ayroles J., (2009).** The genetics of quantitative traits: Challenges and prospects. *Nature Reviews Genetics*: 10, 565-577.
- Madic M., Paunovic A., Knežević D., Zecevic, V., (2009).** Grain yield and yield components of two-row winter barley cultivars and lines. *Acta Agriculturae Serbica* :XIV, (27), 17-22.
- Mahjoub A., Abdellaoui R., Ben Naceur M., Ben Brahim N., (2012).** Genetic diversity of Tunisian accessions of *Aegilops geniculata* Roth and durum wheats (*Triticum durum* Desf.) using RAPD markers. *Acta Bot. Gallica*: 157 (1), 3-12.

- Malet J. C., Gunarde P.H., (1981)** . Macrophysiologie de la maturation du blé d'hiver en conditions naturelles. Nations de représentativité chronologique et norme d'échantillonnage. Agronomie. n° 1 (3), 235 –242.
- Malik R., Kundu S., Sareen S., Kumar R., Shoran J., Mishra B., (2008)**. KSSR and ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic diversity among bread wheat varieties of India. Directorate of Wheat Research. Progressive Agriculture Online ISSN : 0976-4615.
- Malysheva O. L., Martin W., Ganal A., John R., Law C., Reeves A., Marion S., (2007)**. Temporal trends of genetic diversity in European barley cultivars. Mol Breeding: 20,309-322.
- Maniatis, T., Fritsch E.F., Sambrook J., (1982)**. **Molecular Cloning: a Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory. PP 545.
- Manifesto M. M., Schlatter A. R., Hopp H. E., Suárez E. Y., Dubcovsky J., (2001)**. Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers. Crop Sci: 41, 682.
- Mantzavinou A., Babal P.J., Kaltsikes P.J., (2005)**. Estimating genetic diversity in Greek durum wheat landraces with RAPD markers. Australian Journal of Agricultural Research :56 , 1355–1364.
- Mark W.C and James L. R., (2009)**. Classification of the land plants to accompany APG III. Angiosperm Phylogeny Group. A phylogenetic.
- Maric S., Bolaric S., Martincic J., Pejic I., Kozumplik V., (2004)**. Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. Plant Breeding: 123,366-369.
- Marino C.L., Nelson J.C., Lu Y.H., Sorrells M.E., Leroy P., Tuleen N.A., Lopes C.R., Hart G.E., (1996)**. Molecular genetic maps of the group 6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.): *Genome*, 39, 359-366.
- Martinčić J., Bede M., Marić S., (1996)** .Connection between ear length and kernel yield and quality in winter wheat varieties. Proc. 10th Inter. Cereal Breed Congr., Port Caras, 111p.
- Mayer K. X., Agora O., Chorus C., Counter., (2014)**. A chromosome- based draft sequence of the hexaploide bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. Science. 346: 1 -11.
- Mebarek I., (2010)**. Analyse comparative de la diversité génétique et de la structure des populations chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) À l'aide de marqueurs ssr, dart et du pedigree. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en biologie végétale pour l'obtention du grade de Maître es Sciences (M.Sc.). QUÉBEC. 59p.
- Mekhlouf A., Bouzerzour H., Bemahammed A., Hadj Sahraoui A., Harkati N., (2006)**. Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum*, Desf.) au climat semi- aride. *Sécheresse* : 17 (4) ,507-513.
- Mekliche H.L., (1983)**. Etude agronomique, analyses diallèles et cytogénétique de quatre variétés de blé tendre cultivées en Algérie. Thèse de Magister. I.N.A. El-Harrache, 150 p.

- Meynard J.M., Sebillotte M., (1994).** L'élaboration du dement du blé, base pour l'étude des autres céréales à paille. In : Le Point sur l'élaboration du rendement (D Picard, L Combe, eds), Éditions INRA, Paris, 31-51.qsf.
- Meynard J.M., (1987).** L'analyse de l'élaboration du rendement sur les essais de fertilisation azotée. *Persp Agric* : 115, 76-83.
- Meziani L., Bammoun A., Hamou M., Brinis L., Monneveux P., (1993).** Essai de définition des caractères d'adaptation du blé dur dans différentes zones agro climatiques de l'Algérie. In Tolérance à la sécheresse des céréales en zones méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier (France) 15-17 Décembre 1992. Ed. INRA, Paris :64, 191-203.
- Miège E.M., (1927).** Observations sur la précocité du Blé. *Botanique appliquée et d'agriculture coloniale* :7(72) ; pp. 517-526.
- Monneveux Ph., (1991).** Quelle stratégie pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver ? In : Chalbi Demarly Y. éds. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey. INSA-INRA, P165 :186.
- Morgante M., Olivieri A.M., (1993).** PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J* :3 , 175-82.
- Morsli L., (2010).** Adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf) dans les conditions des hautes plaines constantinoises. Doctorat en sciences .69 p.
- Mossad M.A., Brown J.H., Ferguson H., (1995).** Leaf water potential relative water content and diffusivity resistance as screening techniques for drought resistance in barley .*Agron. J.*81,100-105.
- Moore G., Devos K.M., Wang Z., Gale MD., (1995).** Cereal genome evolution. Grasses, line up and form a circle. *Curr Biol.* 5:737-739.
- M-Benali A., Mehdadi Z., Toumi-Benali F., Hamel L., Benyahia M., (2014).** Water supply efficiency of brought for phenological stages on a few morpho-physiological parameters of the durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Agriculture, Forestry and Fisheries*: 3(6), 439-446.
- Mukhtar, M.S., Rahman M., Zafar Y., (2002).** Assessment of genetic diversity among wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars from a range of localities across Pakistan using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Euphytica*: 128, 417-425.

### - N -

- Nachit M., (1986) .** Durum wheat improvement. In VARMA Ed., Cereal improvement program 1986, ICARDA PUBL.112EN, Aleppo, pages, 78-101.
- Nachit M.M., Jarrah M., (1986).** Association of some morphological characters to grain yield in durum wheat under Mediterranean dry land conditions. *Rachis* : 5, 33-35.
- Nachit M., Nachit G., Keteta H., Gauch H.G., Zobel R.W., (1992).** Use of AMMI and linear regression models to analyse genotype environment interaction in durum wheat. *Theor. Appl. Gent* :83, 597-601.

- Nagaoka, T., Ogihara Y., (1997).** Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*: 94,597-602.
- Naghavi M.R., Mohsen M., Ramshini H.A., Bahman F., (2004).** Comparative analyses of the genetic diversity among bread wheat genotypes based on RAPD and SSR markers. *Iranian Journal of Biotechnology*: 2(3), 195-202.
- Najaphy A., Parchin R.A., Farshadfar E., ( 2011).** Evaluation of Genetic Diversity in Wheat Cultivars and Breeding Lines Using Inter Simple Sequence Repeat Markers. *Biotechnol Biotec Eq*: 25,2634- 2638.
- Najaphy A., Parchin R.A., Farshadfar E., (2012).** Comparison of phenotypic and molecular characterizations of some important wheat cultivars and advanced breeding lines. *Australian Journal of Crop Science*: 6(2), 326-332.
- Najimi B ., El Jaafari S., Jlibène M ., Jacquemin J.M ., (2003).** Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* : 7 (1), 17–35
- Nakamura H., (2001).** Genetic diversity of high-molecular-weight glutenin subunit compositions in landraces of hexaploid wheat from Japan. *Euphytica* : 120, 227-234.
- Nasernakhaei F., Rahiminejad M. R., Saeidi H., Tavassoli M., (2014).** PCR-SSCP: A method to fingerprint sequence variability in plant gene pools using the Iranian wild diploid *Triticum*. *Journal of Cell and Molecular Research* : 6 (1), 38-43
- Nazco R., Villegas D., Ammar K., Pena R.J., Moragues M., Royo C., (2012).** Can Mediterranean durum wheat landraces contribute to improved grain quality attributes in modern cultivars. *Euphytica*, 185, pp1-17.
- Nemmar M., (1980) .** Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum*L.) : Étude de l'accumulation de la proline sous l'effet du stress hydrique . ENSA. Montpellier. 65p.
- Nemmar M., (1983).** Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez les variétés de blé dur et du blé tendre – Evolution des teneurs en proline au cours du cycle de développement – Thèse de Doctorat ENSA – Montpellier.142p.
- NEI M., LI W.H., (1979).** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*: vol. 76, no. 10, p. 5269-5273.
- Nouri L., (2002).** Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.), en conditions de déficit hydrique. Thèse de magister en Biologie Végétale, pp: 4-16.
- O-**
- Ojaghi, J., Akhundova E., ( 2010).** Genetic analysis for yield and its components in doubled haploid wheat. *African Journal of Agriculture Research*: 5,306-315.

**Olivier et Chauvet, (1992).** La conservation *in Situ* de la diversité des espèces végétales in : Complexes d'espèces, lux des gènes et ressources génétiques des plantes. Actes du colloque en hommage à Jean Pemès, Paris 8-10 Janvier 1992. Bureau des Ressources Génétiques, Paris. pp. 455-465.

**Olson M., Hood L., Cantor C., Doststein D., (1989).** A common language for physical mapping of the human genome. *Science* : 254 , 1434-5.

**Oudjani W., (2009).** Diversité de 25 génotypes de blé dur (*Triticum durum* Dest) : étude des caractères de production et d'adaptation. Université Mentouri de Constantine. Algérie, 113p.

### - P -

**Palm R., (2000).** L'analyse de la variance multivariée et l'analyse canonique discriminante : principes et applications. Notes tat. Inform. (Gembloux), 40 p.

**Panaud O., Chen X., McCouch S.R., (1995).** Frequency of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Genome* : 38 , 1170-6.

**Pandey A., Khan M.K., Thomas G., Hakki E.E., Kayis S.A., Hamurcu M., Gezgi N.S., Topa A., Akkaya M.S., (2015).** Estimation of Indian and Turkish Hexaploid Wheat Population Structure Employing Molecular Markers. *Not Bot Horti Agrobo*: 43(1),70-78.

**Papadakis., (1983).** Ecologie agricoles. Ed Duculot . Gembloux. 313p.

**Paran I., Michelmore R.W., (1993).** Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor Appl Genet*: 85 , 985-93.

**Pasqualone A., Lotti C., Bruno P., Vita N., Fonzo A., Blanco A., (2000).** Use of ISSR markers for cultivar identification in durum wheat. *Options, Méditerranéennes. Ser. A., Sem. Médit*: 40,157-161.

**Paterson A. H., Bowers J. E., Chapman B. A., (2009).** Ancient polyploidization predating divergence of the cereals, and its consequences for comparative genomics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* :101,9903–9908.

**Pernès J., (1984) .** Gestion des ressources génétiques des plantes. Paris : Lavoisier, 550 p.

**Pheloung P.C., (1991).** Contribution of stem dry matter to grain yield in wheat cultivars. *Australian J. Plant Physiol* : 18, 53-64.

**Piccard E., (1988).** Sélection du blé dur. L'intégration de biotechnologies, pp: 48 – 58.

**Pirseyedi S.M., Valizadehghan S., Mardi M., Ghaffari M.H., Mahmoodi P., Zahravi M., Zeinalabedini M., Khayam Nekoui, S.M., (2010).** Isolation and Characterization of Novel Microsatellite Markers in Pomegranate (*Punica granatum* L.). *Int. J. Mol. Sci.*, 11: 2010-2016.

**Planchon C., (1976).** Essai de détermination de critères physiologiques en vue de l'amélioration de de blé tendre : les facteurs de la photosynthèse de la dernière feuille. *Ann. Amélior. Plant*: 26 (4), 714- 744.

**Plbnchon C., (1973).** Productivite, hétévososis ei photmynthère chez le blé tendre (*Triticum aestivum*). Thèse de Doctorat d'Etat, Université Paul Sabatier, Toulouse, 130 p.

- Prevost A., Wilkinson M.J., (1999).** A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor Appl Genet*: 98 , 107-12.
- Pujar S., Tamhankar S.A., Rao V.S., Gupta V.S., Naik S., Ranjekar P.K., (1999).** Arbitrarily primed-PCR based diversity assessment reflects hierarchical groupings of Indian tetraploid wheat genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* :99,868 –876.
- Pujar S., Tamhankar S.A., Gupta V.S., Rao V.S., Ranjekar P.K., (2002).** Note: diversity analysis of Indian tetraploid wheat using intersimple sequence repeat markers reveals their superiority over random amplified polymorphic DNA markers. *Biochemical Genetics*: 40,63 –69.
- Pyrenees M., (2008).** Résultats de l'essai variétés de blé dur en agriculture biologique C.R.E.A.B.11p.
- R-**
- Rascio A., (1985).** Water retention capacity of triticum durum cultivars receiving two different water regions – Gent – Agro: 39, 409 – 416.
- Rashidi V., Tarinejad A.R., Kazemiarbat H., (2013).** Genotypic variation of spikes' related traits and path analysis of grain yield in durum wheat lines. *African Journal of Agricultural*: 8(16), pp. 1559-1562.
- Rawson H.M., Bagga A.K., Bremner P.M., (1977).** Aspects of adaptation by wheat barley to soil moisture deficits. *Australian J. Plant Physiol*: 4, 189-401.
- Rayburn A.L., Gill B.S., (1985).** Use of biotin-labeled probes to map specific DNA sequences of wheat chromosomes. *J. Hered* : 76, 78-81.
- Rayburn A.L., Gill B.S., (1985).** Molecular evidence for the origin and evolution of chromosome 4A in polyploidy wheats. *Can.J.Genet.Cytol*:27,246-250.
- Razmjoo M., Mohammadi R., Shoostari L., (2015) .** Evaluation of genetic diversity in durum wheat genotypes (*Triticum turgidum* var. *durum*) using ISSR markers . *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*. p522-529.
- Rehman R., Shah K.N., Masood M.S., Arshad M., Ghaffoor A., (2013).** Genetic divergence among Pakistani bread wheat varieties and advanced line for randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Pakistan J Bot* :45,327-332.
- Reif J.C., Hamrit S., Heckenberger M., Schipprack W., Maurer H.P., Bohn M., Melchinger A.E., (2005).** Trends in genetic diversity among European maize cultivars and their parental components during the past 50 years. *Theor. Appl. Genet* : 111, 838-845.
- Reteau A., (2015).** Sécuriser les collections de ressources génétiques végétales - Le projet Safe PGR (sécurisation des ressources génétiques végétales ). <http://www.agriculture-biodiversite-oi.org/layout/set/print/Germination/Actualites/Securiser-les-collections-de-ressources-genetiques-vegetales-Le-projet-Safe-PGR>
- Richards R. A., (1991).** Crop improvement for temperate Australia: future opportunities. *Field Crops Research*: 26, 141-169.

**Rieseberg L.H., (1996).** Homology among RAPD fragments in interspecific comparisons. *Mol Ecol* : 5, 99-105.

**Roussel V., Koenig J., Beckert M., Balfourier F., (2004).** Molecular diversity in French bread wheat accessions related to temporal trends and breeding programmes. *Theor Appl. Genet* : 108, 920-930.

### - S -

**Sabo M., Bede M., Ž.U. Hardi Z.U., (2002).** Variability of grain yield components of some new winter wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.). *Rostlinná Výroba*: 48 (5), 230-235.

**Sadigova S., Sadigov H., Eshghi R., Salayeva S., Jaghi1 J., (2014).** Application of rapd and issr markers to analyses molecular relationships in azerbaijan wheat accessions (*TRITICUM AESTIVUM* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*: 20(1), 87-95.

**Saiki R.K., Gelfland D.H., Stoffel S., (1988).**Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science* : 239 , 487-91.

**Saleh B., (2012).** Characterization of some upland cotton varieties using AFLP and NIR techniques. *Agriculture*: 58,85–92.

**Salem K. F. M., El-Zanaty A. M., Esmail R. M., (2008).** Assessing wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic diversity using morphological characters and microsatellite markers // *World Journal of Agricultural Sciences*: vol. 4, No. 5, p. 538–544

**Salse J., Bolot S., Throude M., Jouffe V., Piegu B., Quraishi U., Calcagno T.,Cooke R., Delseny M., Feuillet C., (2008).** Identification and characterization of shared duplications between rice and wheat provide new insight into grass genome evolution. *The Plant Cell Online*. 20(1) :11.

**Sanchz Diaz M.F., Kramer P.J., (1971).** Behaviour of corn and sorghum under stress and during recovery. *Plant physiol*: 48, 613-616.

**Santoni S., Faivre-Rampant P., Prado E., Prat D., (2000).** Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahiers Agricultures* : 9 (4) : 311-327. Schilling, A.S ; Abaye A.O; Griffeya C.A; Branna D.E; Alleya .2003. Adaptation and performance of winter Durum Wheat in Virginia. *Agron J.*, 95pp.

**Sawalha K., Eideh H., Laham S., Hasasneh H., Mezeid B., (2008).** Genetic diversity studies on wheat landraces in Palestine using RAPD markers in comparison to phenotypic classification. *Journal of Applied Biological Sciences*: 2,29 –34.

**Sax K., (1922).** Sterility in wheat hybrids. II. Chromosome behavior in partially sterile hybrids. *Genetics*: 7, 513-550.

**Scarano D and Rao R.,(2014).** DNA Markers for Food Products Authentication. *Diversity* . 6, 579-596

**Schuhwerk D., Nakhforoosh A., Kutshka S., Bodner G., Rausgruber H., (2011).** Field-screening of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) for drought tolerance.. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning, Austria, p. 147-154.

- Scofield T., Evans J., Cook M.G., Wardlaw I.F., (1988).** Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Aust.J.Plant physiol*: 4, 785-797.
- Sears E.R., Sears L.M.S., (1978).** The telocentric chromosomes of common wheat. *In* S.Ramanujams, ed. *Proc. 5th Int. Wheat Genetics Symp.* New Delhi, Indian Agricultural Research Institute, p. 389-407.
- Sechonfeld M. P., Richard J. C., Carver B.P., Mornhi N.W., (1988).** Water relations in winter wheat as drought resistance Indicators. *Crop. Sci*: 28 , 526-531.
- Serova A.S., Ignatov A.N., Dorokhov D.B., (2002).** Complex molecular marker system applied for estimation of genetic polymorphism within genera *Aegilops* and *Triticum*. Yalta, Ukraine: Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, State Nikitsky Botanical Gardens: 85, 14-16, 63-64.
- Semiani M., (1997).** Etude de l'effet du stress hydrique sur quelque processus physiologique et de croissance de 2 variétés de blé tendre (*Triticum aestivum* L.). *Rech.Agr.*,23-32P,INRA.
- Shanahan J.F., Donnelly K.J., Smith D.H., Smika D.E., (1985).** Shoot development properties associated with grain yield in winter wheat. *Crop Sci*: 25, 770- 775.
- Sharma K.D., Singh B.M., Guleria S., (2000).** Molecular analysis of variability in *Podophyllum-hexan- durum* Royle-an endangered medicinal herb of northwestern Himalaya. *Plant Genetic-Ressources Newsletter*: 124, 57-61.
- Shikhseyidova G., Akhundova E., Quliyev R., Eshghi R., Salayeva S., Ojaghi J., (2015).** Molecular Diversity and Genetic Structure of Durum Wheat Landraces. *Albanian j. agric. sci.*, 14(2): 112-120.
- Shirnasabian S., Etminan A., Mohammadi R., Shooshtari L., (2015).** Molecular variation of improved durum wheat genotypes based on inter-simple sequence repeats fingerprinting. *International J. of Biosciences*: 5, 222-228
- Shorter R., Lawn R.J., Hammer G.L., (1991).** Improving genotypic adaptation in crops - A role for breeders, physiologist and modellers. *Experimental Agriculture*. 27: 155-175.
- Silveri D., Dalla Ragione I., Porfiri O., Torricelli R., Tosti N., Veronesi F., (2001).** The *Triticeae* genetic resources of central Italy: collection, evaluation and conservation. *Hereditas Newsletter*. No. 129,36-43.
- Simane B., Peacock J.M., Struik P.C., (1993).** Difference in development plasticity growth rate among drought. Resistant and susceptible cultivars of durum wheat (*Triticum durum* ). *Plant and soil* :157;155-166.
- Simova, L.J., Stoyanova Z., Demirevska K., ( 2001).** Ontogenic changes in leaf pigments, total soluble protein and Rubisco in two barley varieties in relation to yield. *Bulg. J. Plant Physiology* :27(1-2), 15-24.
- Sisson M., (2008) .** Role of durum wheat composition on the quality of pasta and bread. *Food, Global Science Books*: 2, pp75-90.
- Sivolap M., Kutsevich L., Palamarchuk I., Totsky V.N., (1997).** Molecular-genetic polymorphism of winter durum wheat determined by polymerase chain reaction with arbitrary primers. *Russian-AgriculturalSciences* :1 , 9-13.

**Sofalian O., Chaparzadeh N., Javanmard A., Hejazi MS., (2008).** Study the genetic diversity of Wheat landraces from Northwest of Iran Based on iSSR Molecular Markers. *International Journal of Agriculture & Biology*: 10, 466–468.

**Soriano J.M., Zuriaga E., Rubio P., Llacer G., Infante R., Badenes M.L., (2011).** Development and characterization of microsatellite markers in pomegranate (*Punica granatum L.*). *Mol Breeding*, 27:119-128.

**Spagnoletti-Zeuli T. L., Qualset P. O., (1990).** Flag leaf variation and the analysis of diversity in durum wheat. *Plant Breeding*: 105, 189 - 202.

**Stewart A., (1950).** Basal sterility in wheat. *Nature*. Wheat Research Institute, Christchurch, New Zealand. 165, 653-654.

**Stirbet A., Govindjee., (2011).** On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*: 104, 236–257.

**Strasser R.J., Srivastava A., Tsimilli-Michael M., (2000).** The Fluorescence Transient as a Tool to Characterize and Screen Photosynthetic Samples. *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*. Taylor and Francis, New York, London, p :445-483

**Sun X., Zhang Xu., Mao Y., Sui Zh., Qin S., (2004).** Identification of phase and sex-related ISSR markers of red alga *Gracilaria lemaneiformis*. *Journal of Ocean University of China*: 5(1), 82-84.

### -T-

**Tahir NA-R., (2008).** Assessment of genetic diversity among wheat varieties in Sulaimanyah using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Jordan Journal of Biological Sciences*: 1, 159 –164.

**Teich A.H., (1982).** Interaction of awns and environment on grain yield in winter wheat (*Triticum aestivum L.*). *Cereal Res. Commun*: 10, 11-15.

**Teshale E.T., Bansal S., Mishra A., (2003).** DNA fingerprinting of wheat genotypes by RAPD markers. *Wheat Information Service (Japan)* :96,23 –27.

**Thomas G., Mohabatra T., Rao A.R., Sharma R.P., (2006).** Distinguishing Indian commercial wheat varieties using RAPD based DNA fingerprints. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol 5. PP 200-206.

**Thornsberry J. M., Goodman M. M., Doebley J., Kresovich S., Nielsen D., (2001).** Dwarf8 polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nat. Genet*: 28, 286–289.

**Triboi E., Ollier J.L., (1990).** Évolution et rôle des réserves glucidiques azotées des tiges chez 21 génotypes de blé. *Agron.J* : 11 , 239-246.

**Turner N.C., (2004).** Sustainable production of crops and pastures under drought in a Mediterranean environment. *Annals of Applied Biology*: 144, 139-147.

### -V-

**Van Deynze A.E., Dubcovsky J., Gill K.S., Nelson J.C., Sorrells M.E., Dvorak J., Gill B.S., Lagudah E., Mcouch S.R., Appels R., (1995).** Molecular-genetic maps for group 1 chromosomes of Triticeae species and their relation to chromosomes in rice and oat. *Genome*: 38, 45-59.

**Van de Wouw M., van Hintum T., Kik C., van Treuren R., Visser B., (2010).** Genetic diversity trends in twentieth century crop cultivars: a meta analysis. *Theor Appl Genet* : 120(6),1241-52.

**Van Hintum, J. L., Elings, A., (1991).** Assessment of glutenin and phenotypic diversity of Syrian durum wheat landraces in relation to their geographical origin. *Euphytica*: 55, 209-215.

**Van oosteram Ve., Cecarelli S., Peacock Jm., (1993).** yield responses of barley to rainfall and temperature in Mediterranean environment. *Jagri sci* :121, 307 – 313.

**Vendramin G.G., Lelli L., Rossi P., Morgante M. A., (1996).** set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in pinaceae. *Mol Ecol*:5 , 595-8.

**Vincent R., (2013).** Identification des critères de sélection des blés chez .les paysans-boulangers. *convention avec l'INRA-SAD Paysage et l'ITAB. ISARA-Lyon. 44p*

### -W-

**Wardlaw I.F., (1967).** The effect of water stress on translocation in relation to photosynthesis and growth .I. effect during grain development in wheat .*Aust.J.Biol .Sci*:20,25-39.

**Wardlaw I.F., Moncur L., (1995).** The response of wheat to high temperature following anthesis. In: *The rate and duration of grain filling .Aust J.Plant.Physiol*:22,391-397.

**Wardlaw I.F., (2002).** Interaction between drought and chronic high temperature during kernel filling in wheat in a controlled environment .*Annal of Botany*: 90, 469-476.

**Weyrchi, R.A., (1995).** photosynthesis and water use efficiency of awned and awneletted near isogenic lines of hard winter wheat. *Crop Sci* : 35 ,172-176.

**Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V., (1990).** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18 (22), 6531-6533.

**Williams M.N.V., Pande N., Nair S., Mohan M., Bennett J., (1991).** Restriction fragment length polymorphis analysis of polymerase chain reaction products amplified from mapped loci of rice (*Oryza sativa* L.) genomic DNA. *Theor Appl Genet*: 82 , 489-98.

**Wolfe D.W., Sardes V.O., Villalobos J., Ferreres E., (1992).** Photosynthesis recovery from drought in relation to stress effects on leaf osmotic potential and nitrogen content. In: *Proceeding of the 13 th International Sunflowers. Pica, Italy*: 1, 658-663.

**Worland A.J., M.L., Apendina E.J., Sayers A., (1994).** The distribution in European winter wheat of genes that influence ecoclimatic adaptability while determining photoperiod insensitivity and plant height. *Euphytica*, **80** : 219-228.

### -Y-

**Yang D.L., Jing R.L., Chang X.P., Li W., (2007).** Identification of Quantitative Trait loci and Environmental Interactions for Accumulation and Remobilization of Water-Soluble Carbohydrates in Wheat (*Triticum aestivum* L.) *Stems Genetics*: 176, 571 –584.

**Yasmine A., Lounes G., (2010).** Contribution à l'étude du comportement agronomique de 27 nouvelles variétés de blé dur en vue de leur inscription au catalogue officiel national. Magister en Agronomie. 88 p.

**Yu J., Buckler E.S., (2006).** Genetic association mapping and genome organization of maize, *Curr. Opin. Biotechnol*: 17, 155–160.

### - Z -

**Zair M., (1994).** Contribution à l'étude de l'influence du déficit hydrique sur le développement du blé en zone semi aride. *Céréaliculture* :(27), p : 1-7.

**Zamanianfard Z., Etminan A., Mohammadi R., Shoostari L., (2015).** Evaluation of Molecular Diversity of durum wheat genotypes using ISSR markers. *Biological Forum – An International Journal*: 7(1), 214-218

**Zarco-Tejada P. J., Miller J. R., Morales A., Berjon A., Aguera J., (2004).** Hyperspectral indices and model simulation for chlorophyll estimation in open-canopy tree crops. *Remote Sensing of Environment*: 90(4), 463–476.

**Zečević V., Knežević D., Bošković J., Mićanović D., Dimitrijević B., (2009).** Genetic and phenotypic variability of number of spikelets per spike in winter wheat. *Kragujevac J. Sci*: 31, 85-90

**Zhao S., Wang Q., Yao Y., Du S., Zhang C., Li J., Zhao J., (2016).** Estimating and Validating Wheat Leaf Water Content with Three MODIS Spectral Indexes: A Case Study in Ningxia Plain, China. *J. Agr. Sci. Tech. Vol*: 18, 387-398.

**Zietkiewicz E., Raflaski A., Labuda D., (1994).** Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*: 20(2), 176-183.

# Annexes

## Annexe 1 : Valeurs moyennes prises par les caractères morphologiques des 139 géotypes de la variété *leucomelan*

hauteur de la plante				largeur de la feuille étandard				longueur de la feuille étandard				
MIN	MAX	MOY	ET	MIN	MAX	MOY	ET	MIN	MAX	MOY	ET	
135,9	142,1	139	4,38	1,8	2,4	2,1	0,42	22	28	25	4,24	1
140,5	143,5	142	2,12	2,2	3	2,6	0,57	27	31,4	29,2	3,11	2
15,4	220,6	118	145,10	2,1	2,7	2,4	0,42	31	38,2	34,6	5,09	3
130,2	134,8	132,5	3,25	1,8	2,2	2	0,28	27	31,4	29,2	3,11	4
114,6	120,4	117,5	4,10	2,1	2,3	2,2	0,14	20,2	25	22,6	3,39	5
125,4	129,6	127,5	2,97	1,8	2,4	2,1	0,42	28,5	32,5	30,5	2,83	6
118,2	122,4	120,3	2,97	1,7	2,3	2	0,42	27,5	30,9	29,2	2,40	7
129,2	134,4	131,8	3,68	1,4	2	1,7	0,42	31,2	34,8	33	2,55	8
105,9	115,7	110,8	6,93	1,9	2,7	2,3	0,57	30,2	35,8	33	3,96	9
104,6	110,4	107,5	4,10	1,8	2,4	2,1	0,42	27,5	32,1	29,8	3,25	10
119	124	121,5	3,54	1,7	2,3	2	0,42	28	32	30	2,83	11
154	162,4	158,2	5,94	1,8	2,6	2,2	0,57	32,2	37	34,6	3,39	12
124,3	128,1	126,2	2,69	1,7	2,3	2	0,42	21,2	24,8	23	2,55	13
123,2	131,4	127,3	5,80	1,8	2,4	2,1	0,42	22,2	26,8	24,5	3,25	14
117,2	123,4	120,3	4,38	1,8	2,4	2,1	0,42	22,3	28,1	25,2	4,10	15
124,3	132,1	128,2	5,52	1,7	2,3	2	0,42	20,5	24,9	22,7	3,11	16
142,3	148,1	145,2	4,10	1,8	2,2	2	0,28	25	30	27,5	3,54	17
114,2	119,4	116,8	3,68	1,8	2	1,9	0,14	34	38	36	2,83	18
129,2	134	131,6	3,39	1,4	1,8	1,6	0,28	31	35	33	2,83	19
118,3	123,3	120,8	3,54	1,5	1,9	1,7	0,28	22,2	28,8	25,5	4,67	20
127,4	132	129,7	3,25	1,8	2,4	2,1	0,42	32,2	37,8	35	3,96	21
114,4	120	117,2	3,96	1,7	2,5	2,1	0,57	25,2	29,8	27,5	3,25	22
125,9	131,5	128,7	3,96	1,8	2,4	2,1	0,42	27,2	31,2	29,2	2,83	23
127,5	130,1	128,8	1,84	1,6	2,6	2,1	0,71	29,2	33,8	31,5	3,25	24
114,3	119,1	116,7	3,39	1,7	2,1	1,9	0,28	28,2	31,8	30	2,55	25
128,5	134,1	131,3	3,96	1,5	1,9	1,7	0,28	31,2	35,4	33,3	2,97	26
108,2	113	110,6	3,39	2,1	2,7	2,4	0,42	18,3	22,9	20,6	3,25	27
127	132,4	129,7	3,82	1,5	1,9	1,7	0,28	30,5	37,9	34,2	5,23	28
122,5	125,1	123,8	1,84	1,4	2	1,7	0,42	21,2	24,8	23	2,55	29
134,2	138,2	136,2	2,83	1,5	2,1	1,8	0,42	31,2	38,8	35	5,37	30
108,6	112,8	110,7	2,97	1,4	2	1,7	0,42	36,2	41,2	38,7	3,54	31
116,4	119,6	118	2,26	1,8	2,4	2,1	0,42	29,6	34,4	32	3,39	32
118,5	122,9	120,7	3,11	1,4	1,8	1,6	0,28	31,6	39,6	35,6	5,66	33
123	126	124,5	2,12	2,1	2,9	2,5	0,57	25,9	30,1	28	2,97	34
132,3	138,9	135,6	4,67	2,1	3,3	2,7	0,85	25,6	28,4	27	1,98	35
130,5	134,9	132,7	3,11	2,1	2,5	2,3	0,28	27,3	31,7	29,5	3,11	36
141,2	145,8	143,5	3,25	2,1	2,9	2,5	0,57	25,6	29,4	27,5	2,69	37
120,2	124,8	122,5	3,25	1,9	2,7	2,3	0,57	27,9	31,1	29,5	2,26	38
135,4	139	137,2	2,55	2,1	2,9	2,5	0,57	24,9	30,1	27,5	3,68	39
111,9	114,5	113,2	1,84	1,7	2,3	2	0,42	24,6	27,4	26	1,98	40
127,5	129,5	128,5	1,41	1,4	2	1,7	0,42	31	36	33,5	3,54	41
118,3	124,1	121,2	4,10	1,6	2,2	1,9	0,42	30,5	35,5	33	3,54	42
140	145	142,5	3,54	1,8	2,4	2,1	0,42	30	34,8	32,4	3,39	43
162,5	167,9	165,2	3,82	1,8	2,4	2,1	0,42	27	32	29,5	3,54	44
140	153	146,5	9,19	2,1	2,7	2,4	0,42	21,5	26,5	24	3,54	45
121,2	128,8	125	5,37	2,2	3,4	2,8	0,85	24,5	27,5	26	2,12	46
101	107	104	4,24	2,3	3,36	2,83	0,75	23,2	26,8	25	2,55	47
118,5	122,5	120,5	2,83	2	3	2,5	0,71	22,2	25,8	24	2,55	48
128,3	132,7	130,5	3,11	1,5	2,1	1,8	0,42	29,2	33,8	31,5	3,25	49
133,2	139,2	136,2	4,24	2	3	2,5	0,71	27,2	31,8	29,5	3,25	50
122,4	130	126,2	5,37	1,8	2,4	2,1	0,42	27,4	30,6	29	2,26	51
120	123,6	121,8	2,55	1,7	2,3	2	0,42	23,2	27,2	25,2	2,83	52
115,2	120,8	118	3,96	1,7	2,3	2	0,42	27,2	31,8	29,5	3,25	53
124,3	128,7	126,5	3,11	1,8	2,4	2,1	0,42	29,3	32,7	31	2,40	54
118,2	124,8	121,5	4,67	2,2	3,4	2,8	0,85	20,1	23,9	22	2,69	55
112,2	120,2	116,2	5,66	1,9	2,5	2,2	0,42	30	36	33	4,24	56
104,3	112,7	108,5	5,94	1,8	2,4	2,1	0,42	21,5	24,5	23	2,12	57
108,2	112,8	110,5	3,25	1,9	2,5	2,2	0,42	24,2	27,8	26	2,55	58
85,2	94,8	90	6,79	1,8	2,6	2,2	0,57	28,6	32,8	30,7	2,97	59
114,3	118,7	116,5	3,11	1,8	2,4	2,1	0,42	24,2	27,8	26	2,55	60
135,3	139,1	137,2	2,69	1,7	2,3	2	0,42	29,2	34,8	32	3,96	61
111,3	121,7	116,5	7,35	1,8	2,2	2	0,28	24,2	27,8	26	2,55	62
95,5	98,5	97	2,12	2,2	3	2,6	0,57	19,2	25,8	22,5	4,67	63
121,2	124,8	123	2,55	1,5	2,1	1,8	0,42	24,2	30,2	27,2	4,24	64
110,2	115,4	112,8	3,68	1,8	2,6	2,2	0,57	19,6	24,4	22	3,39	65
128,3	131,7	130	2,40	1,8	2,6	2,2	0,57	18,5	23,5	21	3,54	66
111	115	113	2,83	2,2	3	2,6	0,57	26,3	29,7	28	2,40	67
75,5	81,5	78,5	4,24	1,9	2,7	2,3	0,57	15,9	20,1	18	2,97	68

81,2	87,8	84,5	4,67	1,5	2,1	1,8	0,42	20,5	23,5	22	2,12	69
85,2	91,8	88,5	4,67	1,5	2,1	1,8	0,42	21,5	26,5	24	3,54	70
118,3	126,7	122,5	5,94	2,2	3,2	2,7	0,71	20,2	21,8	21	1,13	71
97,2	105,8	101,5	6,08	1,9	2,5	2,2	0,42	19,5	24,5	22	3,54	72
95	110	102,5	10,61	1,9	2,7	2,3	0,57	20,4	25,6	23	3,68	73
97	105	101	5,66	1,9	2,5	2,2	0,42	20	26	23	4,24	74
101,2	109,8	105,5	6,08	2,1	2,9	2,5	0,57	20,5	25,5	23	3,54	75
85,4	90,6	88	3,68	1,8	2,4	2,1	0,42	20,6	25,4	23	3,39	76
71,3	76,7	74	3,82	1,9	2,5	2,2	0,42	19,5	26,5	23	4,95	77
79,2	86,4	82,8	5,09	2,1	2,7	2,4	0,42	23,5	30,5	27	4,95	78
72,4	79,2	75,8	4,81	0,6	1	0,8	0,28	24,3	29,7	27	3,82	79
91,4	96,6	94	3,68	0,6	1,2	0,9	0,42	22,5	31,5	27	6,36	80
102,3	108,7	105,5	4,53	0,8	1,4	1,1	0,42	29,5	34,5	32	3,54	81
102,5	107,9	105,2	3,82	1,4	2	1,7	0,42	21,5	28,5	25	4,95	82
125,5	129,5	127,5	2,83	1,9	2,7	2,3	0,57	22,1	25,9	24	2,69	83
119,5	123,5	121,5	2,83	2,3	3,1	2,7	0,57	27,6	32,4	30	3,39	84
108,9	117,1	113	5,80	2,1	2,9	2,5	0,57	24,3	27,7	26	2,40	85
101,3	109,7	105,5	5,94	2,1	2,7	2,4	0,42	22,5	27,5	25	3,54	86
118,5	125,1	121,8	4,67	1,5	2,1	1,8	0,42	26,5	29,5	28	2,12	87
94,2	98,2	96,2	2,83	2,1	2,9	2,5	0,57	25,7	26,3	26	0,42	88
112,5	119,9	116,2	5,23	1,8	2,4	2,1	0,42	22,4	27,6	25	3,68	89
111,5	125,5	118,5	9,90	1,9	2,3	2,1	0,28	25,2	30,8	28	3,96	90
125,6	134	129,8	5,94	1,8	2,4	2,1	0,42	27,2	30,8	29	2,55	91
108,5	114,5	111,5	4,24	1,7	2,3	2	0,42	21,2	26,8	24	3,96	92
115,9	125,1	120,5	6,51	1,6	2,4	2	0,57	28,2	31,8	30	2,55	93
127,3	133,7	130,5	4,53	1,9	2,5	2,2	0,42	29,5	34,9	32,2	3,82	94
116,2	121,8	119	3,96	1,8	2,6	2,2	0,57	25,6	30,4	28	3,39	95
120,4	125,6	123	3,68	1,7	2,3	2	0,42	26,4	29,6	28	2,26	96
121,2	127,8	124,5	4,67	1,6	2,2	1,9	0,42	20,2	23,8	22	2,55	97
116,2	121,2	118,7	3,54	2,3	3,3	2,8	0,71	35	39	37	2,83	98
125,5	129,5	127,5	2,83	2,2	3,4	2,8	0,85	24,2	27,8	26	2,55	99
118,2	125,8	122	5,37	1,8	2,2	2	0,28	22,3	27,7	25	3,82	100
108,5	112,5	110,5	2,83	1,7	2,3	2	0,42	22,1	27,9	25	4,10	101
106,2	113,8	110	5,37	1,4	2	1,7	0,42	28,2	33,8	31	3,96	102
90,4	98,6	94,5	5,80	1,8	2,4	2,1	0,42	30,5	35,5	33	3,54	103
104,3	109,7	107	3,82	1,8	2,2	2	0,28	29,5	36,5	33	4,95	104
101,3	106,7	104	3,82	1,6	2,4	2	0,57	27,6	32	29,8	3,11	105
109,3	116,7	113	5,23	2,1	2,9	2,5	0,57	28,9	31,1	30	1,56	106
128	135	131,5	4,95	1,9	2,3	2,1	0,28	31,4	37,8	34,6	4,53	107
126,3	130,7	128,5	3,11	1,8	2,4	2,1	0,42	20,6	25,4	23	3,39	108
136,5	141,5	139	3,54	1,7	2,5	2,1	0,57	22,3	27,7	25	3,82	109
106	108	107	1,41	1,7	2,3	2	0,42	30,1	34,3	32,2	2,97	110
119	125	122	4,24	1,8	2,2	2	0,28	21,3	27,7	24,5	4,53	111
115,2	120,8	118	3,96	1,8	2,6	2,2	0,57	22,5	27,9	25,2	3,82	112
118,3	124,7	121,5	4,53	1,7	2,3	2	0,42	22,6	32,4	27,5	6,93	113
139,3	149,7	144,5	7,35	1,5	2,3	1,9	0,57	33,6	38,4	36	3,39	114
106	112	109	4,24	2,1	3,5	2,8	0,99	30,5	35,5	33	3,54	115
118,2	124,8	121,5	4,67	2,3	3,3	2,8	0,71	23,5	27,5	25,5	2,83	116
111	115	113	2,83	1,8	2,2	2	0,28	32,4	37,6	35	3,68	117
105,4	111,6	108,5	4,38	1,6	2,4	2	0,57	24,5	30,5	27,5	4,24	118
142,3	149,7	146	5,23	1,4	2	1,7	0,42	26,3	32,1	29,2	4,10	119
98,3	105,7	102	5,23	1,7	2,5	2,1	0,57	20,4	25,6	23	3,68	120
118,2	125,8	122	5,37	1,7	2,3	2	0,42	21,5	24,5	23	2,12	121
106,3	111,7	109	3,82	1,6	2,4	2	0,57	20,3	25,7	23	3,82	122
112,3	119,7	116	5,23	1,7	2,3	2	0,42	22,6	31,4	27	6,22	123
130,2	138,8	134,5	6,08	1,5	2,3	1,9	0,57	25,6	28,4	27	1,98	124
128	134	131	4,24	1,1	2,1	1,6	0,71	24,9	29,1	27	2,97	125
119	124	121,5	3,54	1,2	2,2	1,7	0,71	29,8	34,2	32	3,11	126
105,2	111,8	108,5	4,67	1,8	2,4	2,1	0,42	24,1	25,9	25	1,27	127
142,3	149,7	146	5,23	1,8	2,4	2,1	0,42	22,6	25,4	24	1,98	128
100,2	106,6	103,4	4,53	1,7	2,5	2,1	0,57	28,6	31,4	30	1,98	129
135,6	144,4	140	6,22	2,1	2,7	2,4	0,42	24,3	27,7	26	2,40	130
100	106	103	4,24	1,8	2,6	2,2	0,57	26,4	29,6	28	2,26	131
122,2	128,6	125,4	4,53	1,2	2,2	1,7	0,71	27,3	30,7	29	2,40	132
130,2	137,8	134	5,37	1,2	2,4	1,8	0,85	21,6	26,4	24	3,39	133
112,3	122,7	117,5	7,35	1,2	2,2	1,7	0,71	26,5	33,5	30	4,95	134
122,1	129,9	126	5,52	1,8	2,4	2,1	0,42	29,6	34,8	32,2	3,68	135
130,2	137,2	133,7	4,95	1,2	2	1,6	0,57	26,5	29,5	28	2,12	136
109,5	114,5	112	3,54	2,1	2,9	2,5	0,57	25,5	30,5	28	3,54	137
98,2	103,8	101	3,96	2,1	2,5	2,3	0,28	35,3	38,7	37	2,40	138
101,2	108,2	104,7	4,95	2,1	2,9	2,5	0,57	24,2	27,8	26	2,55	139
		119,11				2,10				27,94		



73	7,4	8,8	8,1	0,99	19,2	21,8	20,5	1,84	28,2	33,4	30,8	3,68
74	6,2	7,4	6,8	0,85	16	17	16,5	0,71	35,2	38,8	37	2,55
75	5,4	7	6,2	1,13	18,2	19,8	19	1,13	35,5	40,5	38	3,54
76	5,8	7,6	6,7	1,27	17,4	18,6	18	0,85	40	44	42	2,83
77	3,8	4,6	4,2	0,57	14,2	17,4	15,8	2,26	25	30	27,5	3,54
78	4,6	6,8	5,7	1,56	19,2	21,8	20,5	1,84	27,5	34,1	30,8	4,67
79	4,6	7	5,8	1,70	19	21,4	20,2	1,70	20,5	24,7	22,6	2,97
80	4,7	6,5	5,6	1,27	15,2	17,2	16,2	1,41	27,5	31,9	29,7	3,11
81	6,4	9,2	7,8	1,98	20,4	24,6	22,5	2,97	27,4	30,6	29	2,26
82	5,8	6,6	6,2	0,57	12,9	14,1	13,5	0,85	37	42	39,5	3,54
83	6,8	8,8	7,8	1,41	16	19	17,5	2,12	49,5	54,1	51,8	3,25
84	5,8	7,6	6,7	1,27	15,7	17,3	16,5	1,13	35,5	37,5	36,5	1,41
85	4,7	6,82	5,76	1,50	15,4	17	16,2	1,13	57	61	59	2,83
86	5,4	6,6	6	0,85	18	19	18,5	0,71	41,5	44,5	43	2,12
87	5,2	6,4	5,8	0,85	17,5	19,5	18,5	1,41	46	50,4	48,2	3,11
88	6,3	8,1	7,2	1,27	15,4	17,6	16,5	1,56	32,5	36,9	34,7	3,11
89	5,4	7,4	6,4	1,41	17	20,8	18,9	2,69	45	50	47,5	3,54
90	5,2	6,4	5,8	0,85	19,2	21,8	20,5	1,84	32,4	37	34,7	3,25
91	5,4	6,2	5,8	0,57	17,4	19,6	18,5	1,56	45,3	49,9	47,6	3,25
92	6,8	8	7,4	0,85	18,2	19,8	19	1,13	43,2	47,8	45,5	3,25
93	5,2	6,4	5,8	0,85	16,2	18,8	17,5	1,84	41,5	44,5	43	2,12
94	5,4	6,2	5,8	0,57	16,9	20,1	18,5	2,26	44,9	52,1	48,5	5,09
95	5,8	6,4	6,1	0,42	18,2	19,8	19	1,13	40,5	44,5	42,5	2,83
96	6,8	8,4	7,6	1,13	19,5	22,1	20,8	1,84	41,5	45,3	43,4	2,69
97	5,2	6	5,6	0,57	15,4	17,6	16,5	1,56	43,5	47,5	45,5	2,83
98	6,8	7,6	7,2	0,57	17,9	21,1	19,5	2,26	44,5	45,9	45,2	0,99
99	5,8	7,2	6,5	0,99	15,4	18,2	16,8	1,98	48,2	52,2	50,2	2,83
100	5,7	7,7	6,7	1,41	16,5	19,1	17,8	1,84	42,3	46,1	44,2	2,69
101	6,2	7,4	6,8	0,85	16	19	17,5	2,12	35,5	40,1	37,8	3,25
102	5,4	7	6,2	1,13	19,5	23,5	21,5	2,83	37,2	40,2	38,7	2,12
103	5,2	6,2	5,7	0,71	15,5	17,5	16,5	1,41	27,2	32,4	29,8	3,68
104	4,8	6,4	5,6	1,13	15,8	17,2	16,5	0,99	42	46	44	2,83
105	5,4	6,2	5,8	0,57	14,5	17,5	16	2,12	44,3	51,7	48	5,23
106	6,2	7,2	6,7	0,71	16,9	21,1	19	2,97	34,7	41,3	38	4,67
107	7,8	9,2	8,5	0,99	16,2	18,8	17,5	1,84	45,3	51,7	48,5	4,53
108	7,9	8,3	8,1	0,28	19,5	22,9	21,2	2,40	37,2	41,8	39,5	3,25
109	9,4	11,6	10,5	1,56	17,5	20,5	19	2,12	53,5	58,1	55,8	3,25
110	7,5	9,5	8,5	1,41	20,5	22,9	21,7	1,70	30,2	33,8	32	2,55
111	8,5	11,1	9,8	1,84	17,4	20,6	19	2,26	37,2	42,8	40	3,96
112	6,8	8,8	7,8	1,41	16,8	20,2	18,5	2,40	38,4	44	41,2	3,96
113	6,2	7,4	6,8	0,85	17,5	19,5	18,5	1,41	44,9	50,1	47,5	3,68
114	7,5	9,9	8,7	1,70	13,8	17,2	15,5	2,40	54,9	63,1	59	5,80
115	8,6	9,8	9,2	0,85	20,4	22,6	21,5	1,56	44,3	47,7	46	2,40
116	6,4	7,2	6,8	0,57	16,2	19,8	18	2,55	44,2	50,8	47,5	4,67
117	5,4	7,8	6,6	1,70	16	18,4	17,2	1,70	35,5	39,5	37,5	2,83
118	5,8	7,6	6,7	1,27	16,5	20,5	18,5	2,83	18,5	20,5	19,5	1,41
119	8,4	10,6	9,5	1,56	19,4	22,6	21	2,26	57,4	60	58,7	1,84
120	8,6	9,8	9,2	0,85	14,2	16,8	15,5	1,84	42	46	44	2,83
121	8,7	10,9	9,8	1,56	16,5	19,5	18	2,12	52,5	55,1	53,8	1,84
122	8,2	9	8,6	0,57	16	19	17,5	2,12	41,5	44,5	43	2,12
123	5,9	7,5	6,7	1,13	14	18	16	2,83	40,5	44,5	42,5	2,83
124	9,4	11	10,2	1,13	18,9	26,1	22,5	5,09	47,6	51,4	49,5	2,69
125	6,8	8,2	7,5	0,99	14,2	17,8	16	2,55	55,5	59,5	57,5	2,83
126	6,5	8,5	7,5	1,41	18	21	19,5	2,12	46,7	50,7	48,7	2,83
127	6,4	7	6,7	0,42	17,5	19,5	18,5	1,41	17,9	21,1	19,5	2,26
128	9,2	10	9,6	0,57	19	23	21	2,83	57,5	59,1	58,3	1,13
129	8,7	9,7	9,2	0,71	14	17	15,5	2,12	42,5	45,5	44	2,12
130	8,9	10,5	9,7	1,13	18	20,4	19,2	1,70	46,5	49,5	48	2,12
131	7,8	9,2	8,5	0,99	13,8	16,2	15	1,70	38,9	41,1	40	1,56
132	9,4	11,4	10,4	1,41	11,2	14,4	12,8	2,26	45,8	47,8	46,8	1,41
133	9,6	10,8	10,2	0,85	15	19	17	2,83	45,5	46,9	46,2	0,99
134	6,7	8,9	7,8	1,56	19,8	22,2	21	1,70	39,5	40,9	40,2	0,99
135	9,8	11,8	10,8	1,41	11,5	13,5	12,5	1,41	45,2	47,8	46,5	1,84
136	9,2	11,2	10,2	1,41	16,4	18,4	17,4	1,41	45,3	47,1	46,2	1,27
137	6,8	8,2	7,5	0,99	14,8	17,2	16	1,70	45	49,6	47,3	3,25
138	5,8	6,6	6,2	0,57	14,5	16,5	15,5	1,41	43,5	46,5	45	2,12
139	6,7	7,9	7,3	0,85	18	19,2	18,6	0,85	42	45,6	43,8	2,55
			7,23				17,92				43,61	





**Annexe 3 : Valeurs moyennes prises par les caractères physiologiques des 139 géotypes de la variété  
*leucomelan***

Géotypes	CHT				TRE			
	MIN	MAX	MOY	ET	MIN	MAX	MOY	ET
1	28,2	33,6	30,9	3,82	0,18	0,24	0,21	0,04
2	41,2	44,8	43	2,55	0,11	0,15	0,13	0,03
3	34,5	38,7	36,6	2,97	0,29	0,45	0,37	0,11
4	45,6	51	48,3	3,82	0,54	0,72	0,63	0,13
5	44,2	49,8	47	3,96	0,45	0,61	0,53	0,11
6	24,3	29,5	26,9	3,68	0,39	0,53	0,46	0,10
7	41,5	48,3	44,9	4,81	0,45	0,57	0,51	0,08
8	39,2	43,8	41,5	3,25	0,41	0,55	0,48	0,10
9	43,5	51,5	47,5	5,66	0,38	0,54	0,46	0,11
10	42,5	54,1	48,3	8,20	0,29	0,43	0,36	0,10
11	44,6	52,8	48,7	5,80	0,42	0,54	0,48	0,08
12	36,2	39,4	37,8	2,26	0,28	0,32	0,30	0,03
13	34,2	37,8	36	2,55	0,18	0,26	0,22	0,06
14	31,4	35,2	33,3	2,69	0,42	0,52	0,47	0,07
15	45,2	49,2	47,2	2,83	0,008	0,002	0,01	0,00
16	35,6	48,2	41,9	8,91	0,23	0,37	0,30	0,10
17	41,3	51,9	46,6	7,50	0,11	0,23	0,17	0,08
18	40,3	48,3	44,3	5,66	0,21	0,35	0,28	0,10
19	32,5	41,3	36,9	6,22	0,11	0,25	0,18	0,10
20	39,5	43,3	41,4	2,69	0,39	0,55	0,47	0,11
21	37,2	44,2	40,7	4,95	0,28	0,36	0,32	0,06
22	33,5	43,9	38,7	7,35	0,24	0,38	0,31	0,10
23	42,5	49,5	46	4,95	0,12	0,16	0,14	0,03
24	31,2	37,4	34,3	4,38	0,32	0,38	0,35	0,04
25	41,2	51,2	46,2	7,07	0,37	0,45	0,41	0,06
26	40,5	49,7	45,1	6,51	0,29	0,33	0,31	0,03
27	32,7	46,3	39,5	9,62	0,42	0,52	0,47	0,07
28	32,5	43,7	38,1	7,92	0,49	0,59	0,54	0,07
29	39,5	42,9	41,2	2,40	0,29	0,37	0,33	0,06
30	32,4	47,4	39,9	10,61	0,08	0,12	0,10	0,03
31	32,4	42,2	37,3	6,93	0,06	0,1	0,08	0,03
32	37,5	44,3	40,9	4,81	0,01	0,03	0,02	0,01
33	34,5	42,5	38,5	5,66	0,54	0,7	0,62	0,11
34	39,6	43,4	41,5	2,69	0,33	0,65	0,49	0,23
35	18,9	25,5	22,2	4,67	0,45	0,67	0,56	0,16
36	39,5	41,7	40,6	1,56	0,19	0,29	0,24	0,07
37	46,5	49,9	48,2	2,40	0,29	0,45	0,37	0,11
38	39,2	44,8	42	3,96	0,54	0,68	0,61	0,10
39	46,5	52,7	49,6	4,38	0,32	0,42	0,37	0,07
40	51,2	57,4	54,3	4,38	0,39	0,45	0,42	0,04
41	47,2	52,4	49,8	3,68	0,21	0,29	0,25	0,06
42	39,6	43,6	41,6	2,83	0,11	0,15	0,13	0,03
43	40,2	44,2	42,2	2,83	0,31	0,39	0,35	0,06
44	35,2	43	39,1	5,52	0,25	0,37	0,31	0,08
45	46,3	33,7	40	8,91	0,23	0,31	0,27	0,06
46	38,3	45,5	41,9	5,09	0,29	0,45	0,37	0,11
47	39,3	45,5	42,4	4,38	0,28	0,38	0,33	0,07
48	36,2	41,6	38,9	3,82	0,36	0,46	0,41	0,07
49	39,4	43,6	41,5	2,97	0,26	0,36	0,31	0,07
50	45,2	54,4	49,8	6,51	0,48	0,56	0,52	0,06
51	39,4	44,4	41,9	3,54	0,58	0,66	0,62	0,06
52	26,9	33,1	30	4,38	0,59	0,77	0,68	0,13
53	31,2	38,6	34,9	5,23	0,18	0,3	0,24	0,08
54	38,2	42	40,1	2,69	0,39	0,49	0,44	0,07
55	33,2	36,8	35	2,55	0,32	0,42	0,37	0,07
56	44,5	55,7	50,1	7,92	0,48	0,56	0,52	0,06
57	42,6	51,8	47,2	6,51	0,45	0,55	0,50	0,07
58	32,5	41,1	36,8	6,08	0,22	0,36	0,29	0,10
59	35,2	40,8	38	3,96	0,32	0,46	0,39	0,10
60	33,2	37,8	35,5	3,25	0,54	0,68	0,61	0,10
61	35,9	40,9	38,4	3,54	0,28	0,36	0,32	0,06
62	24,2	52	38,1	19,66	0,21	0,31	0,26	0,07
63	39,2	44,8	42	3,96	0,19	0,33	0,26	0,10
64	32,2	41,4	36,8	6,51	0,45	0,57	0,51	0,08
65	38,3	43,3	40,8	3,54	0,3	0,42	0,36	0,08
66	44,6	51	47,8	4,53	0,32	0,48	0,40	0,11
67	33,5	38,9	36,2	3,82	0,35	0,53	0,44	0,13
68	29,3	32,1	30,7	1,98	0,42	0,56	0,49	0,10
69	33,6	39,6	36,6	4,24	0,39	0,49	0,44	0,07

70	27,8	33,2	30,5	3,82	0,38	0,44	0,41	0,04
71	30,2	36	33,1	4,10	0,58	0,76	0,67	0,13
72	29,4	35,8	32,6	4,53	0,18	0,26	0,22	0,06
73	42,3	54,3	48,3	8,49	0,19	0,35	0,27	0,11
74	28,3	37,3	32,8	6,36	0,08	0,12	0,10	0,03
75	41,3	49,3	45,3	5,66	0,1	0,18	0,14	0,06
76	29,5	37,7	33,6	5,80	0,28	0,5	0,39	0,16
77	27,6	30,8	29,2	2,26	0,2	0,32	0,26	0,08
78	39,3	45,9	42,6	4,67	0,11	0,25	0,18	0,10
79	39,5	43,5	41,5	2,83	0,17	0,29	0,23	0,08
80	42,3	50,1	46,2	5,52	0,3	0,4	0,35	0,07
81	41,2	44,8	43	2,55	0,24	0,38	0,31	0,10
82	32,1	42,3	37,2	7,21	0,12	0,24	0,18	0,08
83	39,5	43,7	41,6	2,97	0,32	0,68	0,50	0,25
84	24,3	30,7	27,5	4,53	0,04	0,08	0,06	0,03
85	29	35	32	4,24	0,12	0,2	0,16	0,06
86	36,9	42,9	39,9	4,24	0,28	0,38	0,33	0,07
87	38,4	46,8	42,6	5,94	0,57	0,63	0,60	0,04
88	31,2	36,8	34	3,96	0,32	0,42	0,37	0,07
89	38,9	43,5	41,2	3,25	0,48	0,52	0,50	0,03
90	28,5	32,5	30,5	2,83	0,42	0,62	0,52	0,14
91	41,2	49,2	45,2	5,66	0,19	0,29	0,24	0,07
92	39,6	44,4	42	3,39	0,32	0,42	0,37	0,07
93	30,2	37	33,6	4,81	0,31	0,43	0,37	0,08
94	33,2	40,4	36,8	5,09	0,39	0,49	0,44	0,07
95	40,2	46,6	43,4	4,53	0,22	0,32	0,27	0,07
96	45,9	54,7	50,3	6,22	0,18	0,26	0,22	0,06
97	49,6	53,2	51,4	2,55	0,32	0,42	0,37	0,07
98	44,5	51,3	47,9	4,81	0,1	0,16	0,13	0,04
99	41,3	56,3	48,8	10,61	0,48	0,56	0,52	0,06
100	39,5	46,7	43,1	5,09	0,2	0,26	0,23	0,04
101	33,3	46,9	40,1	9,62	0,12	0,26	0,19	0,10
102	28,6	33,8	31,2	3,68	0,19	0,29	0,24	0,07
103	52,6	61,4	57	6,22	0,22	0,32	0,27	0,07
104	25,6	38,4	32	9,05	0,32	0,44	0,38	0,08
105	28,9	35,7	32,3	4,81	0,45	0,63	0,54	0,13
106	30,5	44,5	37,5	9,90	0,22	0,34	0,28	0,08
107	47,8	56	51,9	5,80	0,29	0,33	0,31	0,03
108	48,5	56,5	52,5	5,66	0,32	0,42	0,37	0,07
109	46,3	58,3	52,3	8,49	0,3	0,44	0,37	0,10
110	28,6	35,2	31,9	4,67	0,72	0,88	0,80	0,11
111	33,6	46	39,8	8,77	0,65	0,81	0,73	0,11
112	30,4	35,2	32,8	3,39	0,45	0,73	0,59	0,20
113	42,5	50,5	46,5	5,66	0,39	0,55	0,47	0,11
114	41,2	50,6	45,9	6,65	0,31	0,41	0,36	0,07
115	40,3	48,7	44,5	5,94	0,29	0,37	0,33	0,06
116	36,5	44,1	40,3	5,37	0,28	0,44	0,36	0,11
117	32,5	45,3	38,9	9,05	0,48	0,58	0,53	0,07
118	38,5	44,1	41,3	3,96	0,31	0,39	0,35	0,06
119	28,3	35,3	31,8	4,95	0,18	0,26	0,22	0,06
120	27,9	37,1	32,5	6,51	0,41	0,57	0,49	0,11
121	31,2	37,8	34,5	4,67	0,32	0,46	0,39	0,10
122	34,5	44,3	39,4	6,93	0,31	0,47	0,39	0,11
123	44,5	51,5	48	4,95	0,24	0,36	0,30	0,08
124	49,6	57,8	53,7	5,80	0,32	0,46	0,39	0,10
125	42,5	53,9	48,2	8,06	0,3	0,44	0,37	0,10
126	38,2	44,8	41,5	4,67	0,24	0,4	0,32	0,11
127	39,2	44	41,6	3,39	0,14	0,26	0,20	0,08
128	32,7	45,9	39,3	9,33	0,15	0,25	0,20	0,07
129	24,5	33,1	28,8	6,08	0,24	0,36	0,30	0,08
130	32,4	43	37,7	7,50	0,38	0,46	0,42	0,06
131	34,5	45,1	39,8	7,50	0,11	0,17	0,14	0,04
132	45,2	55,4	50,3	7,21	0,47	0,59	0,53	0,08
133	39,5	43,9	41,7	3,11	0,48	0,64	0,56	0,11
134	18,3	24,1	21,2	4,10	0,48	0,58	0,53	0,07
135	40,2	46,2	43,2	4,24	0,46	0,72	0,59	0,18
136	34,5	43,5	39	6,36	0,22	0,34	0,28	0,08
137	33,5	41,1	37,3	5,37	0,39	0,45	0,42	0,04
138	42,3	48,9	45,6	4,67	0,31	0,37	0,34	0,04
139	34,8	44,6	39,7	6,93	0,48	0,58	0,53	0,07
			40,50				0,37	

**Annexe 4 : Valeurs moyennes prises par les caractères physiologiques des 76 géotypes de la variété *reichenbachi***

	CHLOROPHYLLE TOTALE			ET	MIN	TE		ET	Géotypes
	MIN	MAX	MOY			MAX	MOY		
	48,2	54,0	51,1	4,10	0,29	0,33	0,31	0,03	1
	44,2	48,2	46,2	2,83	0,28	0,40	0,34	0,08	2
	41,3	47,3	44,3	4,24	0,32	0,46	0,39	0,10	3
	47,6	52,8	50,2	3,68	0,39	0,47	0,43	0,06	4
	39,5	46,7	43,1	5,09	0,45	0,63	0,54	0,13	5
	37,6	40,4	39	1,98	0,42	0,56	0,49	0,10	6
	36,5	43,3	39,9	4,81	0,36	0,58	0,47	0,16	7
	36,5	44,3	40,4	5,52	0,32	0,42	0,37	0,07	8
	45,9	54,5	50,2	6,08	0,37	0,51	0,44	0,10	9
	48,9	53,5	51,2	3,25	0,31	0,41	0,36	0,07	10
	42,6	51,6	47,1	6,36	0,20	0,32	0,26	0,08	11
	42,5	47,7	45,1	3,68	0,29	0,39	0,34	0,07	12
	42,6	46,0	44,3	2,40	0,42	0,54	0,48	0,08	13
	32,6	43,8	38,2	7,92	0,59	0,67	0,63	0,06	14
	28,3	32,7	30,5	3,11	0,31	0,43	0,37	0,08	15
	36,5	48,7	42,6	8,63	0,29	0,39	0,34	0,07	16
	41,3	49,9	45,6	6,08	0,18	0,22	0,20	0,03	17
	41,5	55,1	48,3	9,62	0,32	0,46	0,39	0,10	18
	42,6	53,0	47,8	7,35	0,78	0,98	0,88	0,14	19
	23,5	33,7	28,6	7,21	0,19	0,31	0,25	0,08	20
	49,5	54,5	52	3,54	0,42	0,52	0,47	0,07	21
	48,6	55,0	51,8	4,53	0,55	0,67	0,61	0,08	22
	41,3	45,7	43,5	3,11	0,42	0,56	0,49	0,10	23
	39,6	46,6	43,1	4,95	0,28	0,38	0,33	0,07	24
	54,3	61,9	58,1	5,37	0,32	0,44	0,38	0,08	25
	46,9	54,9	50,9	5,66	0,12	0,22	0,17	0,07	26
	45,3	48,3	46,8	2,12	0,04	0,10	0,07	0,04	27
	41,3	46,3	43,8	3,54	0,19	0,27	0,23	0,06	28
	31,2	41,0	36,1	6,93	0,45	0,85	0,65	0,28	29
	32,1	42,3	37,2	7,21	0,11	0,17	0,14	0,04	30
	42,8	56,0	49,4	9,33	0,32	0,48	0,40	0,11	31
	39,6	52,4	46	9,05	0,28	0,34	0,31	0,04	32
	41,6	50,2	45,9	6,08	0,22	0,38	0,30	0,11	33
	34,9	48,1	41,5	9,33	0,29	0,35	0,32	0,04	34
	39,5	43,3	41,4	2,69	0,69	0,89	0,79	0,14	35
	32,5	45,3	38,9	9,05	0,29	0,33	0,31	0,03	36
	39,5	42,7	41,1	2,26	0,11	0,15	0,13	0,03	37
	36,9	44,3	40,6	5,23	0,31	0,39	0,35	0,06	38
	49,6	60,0	54,8	7,35	0,19	0,25	0,22	0,04	39
	36,5	44,9	40,7	5,94	0,32	0,44	0,38	0,08	40
	26,8	35,6	31,2	6,22	0,31	0,37	0,34	0,04	41
	29,6	35,4	32,5	4,10	0,19	0,27	0,23	0,06	42
	33,5	45,5	39,5	8,49	0,18	0,24	0,21	0,04	43
	38,9	44,5	41,7	3,96	0,29	0,33	0,31	0,03	44
	48,6	57,0	52,8	5,94	0,55	0,77	0,66	0,16	45
	29,6	34,8	32,2	3,68	0,25	0,31	0,28	0,04	46
	33,6	37,8	35,7	2,97	0,75	1,03	0,89	0,20	47
	27,8	31,8	29,8	2,83	0,57	0,67	0,62	0,07	48
	33,4	35,0	34,2	1,13	0,12	0,22	0,17	0,07	49
	25,6	34,0	29,8	5,94	0,49	0,67	0,58	0,13	50
	35,6	41,2	38,4	3,96	0,68	0,90	0,79	0,16	51
	38,6	42,6	40,6	2,83	0,64	0,84	0,74	0,14	52
	44,6	55,0	49,8	7,35	0,19	0,27	0,23	0,06	53
	45,3	47,1	46,2	1,27	0,20	0,28	0,24	0,06	54
	43,6	49,8	46,7	4,38	0,34	0,46	0,40	0,08	55
	48,2	57,0	52,6	6,22	0,69	0,87	0,78	0,13	56
	38,5	43,9	41,2	3,82	0,58	0,62	0,60	0,03	57
	26,5	33,1	29,8	4,67	0,98	1,10	1,04	0,08	58
	34,2	42,6	38,4	5,94	0,84	0,96	0,90	0,08	59
	36,2	45,0	40,6	6,22	0,42	0,68	0,55	0,18	60
	43,5	56,1	49,8	8,91	0,40	0,52	0,46	0,08	61
	44,2	48,2	46,2	2,83	0,49	0,69	0,59	0,14	62
	42,5	50,9	46,7	5,94	0,59	0,67	0,63	0,06	63
	48,3	56,9	52,6	6,08	0,61	0,69	0,65	0,06	64
	47,6	55,6	51,6	5,66	0,49	0,65	0,57	0,11	65
	48,3	57,5	52,9	6,51	0,29	0,33	0,31	0,03	66
	42,3	47,5	44,9	3,68	0,69	0,81	0,75	0,08	67
	44,6	51,4	48	4,81	0,14	0,20	0,17	0,04	68
	50,5	54,5	52,5	2,83	0,45	0,53	0,49	0,06	69
	41,3	46,5	43,9	3,68	0,68	0,74	0,71	0,04	70
	45,6	57,8	51,7	8,63	0,48	0,58	0,53	0,07	71
	48,3	54,3	51,3	4,24	0,45	0,57	0,51	0,08	72
	51,3	56,9	54,1	3,96	0,47	0,55	0,51	0,06	73
	36,5	41,7	39,1	3,68	0,58	0,62	0,60	0,03	74
	40,3	48,7	44,5	5,94	0,49	0,63	0,56	0,10	75
	48,6	55,6	52,1	4,95	0,37	0,49	0,43	0,08	76
			43,99				0,45		





















Annexe 10 : L'analyse de la variance à un facteur globale pour le parametre NG(les groupes formés)

Modalit	Moyenr	Regroupements						
R12	74	A						
R36	74	A						
L120	74	A						
R53	74	A						
R44	74	A						
L131	64	A	B					
R54	64	A	B					
R13	64	A	B					
R45	64	A	B					
R28	64	A	B					
R37	64	A	B					
L121	64	A	B					
L106	62		B	C				
R55	58		B	C	D			
R46	58		B	C	D			
R38	58		B	C	D			
R14	58		B	C	D			
L132	58		B	C	D			
R29	58		B	C	D			
L122	58		B	C	D			
L57	57		B	C	D	E		
R27	57		B	C	D	E		
R74	57		B	C	D	E		
L81	57		B	C	D	E		
R60	57		B	C	D	E		
R43	57		B	C	D	E		
L64	57		B	C	D	E		
L11	55,66		B	C	D	E	F	
R42	55,66		B	C	D	E	F	
R73	55,66		B	C	D	E	F	
R59	55,66		B	C	D	E	F	
L36	55,66		B	C	D	E	F	
L21	55,66		B	C	D	E	F	
L44	55,66		B	C	D	E	F	
L69	55,33		B	C	D	E	F	
R75	55		B	C	D	E	F	G
R25	54		B	C	D	E	F	G
L107	54		B	C	D	E	F	G
L118	54		B	C	D	E	F	G
R34	54		B	C	D	E	F	G
R10	54		B	C	D	E	F	G
R51	54		B	C	D	E	F	G
R72	53,33		B	C	D	E	F	G
L29	52,66		B	C	D	E	F	G
R65	52,66		B	C	D	E	F	G
L14	52,66		B	C	D	E	F	G
L62	52,33		B	C	D	E	F	G
L55	52,33		B	C	D	E	F	G
R64	52,33		B	C	D	E	F	G
L79	52,33		B	C	D	E	F	G
L128	52,33		B	C	D	E	F	G
L59	52		B	C	D	E	F	G
L136	52		B	C	D	E	F	G
L77	52		B	C	D	E	F	G
L7	52		B	C	D	E	F	G
L94	52		B	C	D	E	F	G
L60	52		B	C	D	E	F	G
L138	52		B	C	D	E	F	G
L2	51,444		B	C	D	E	F	G
L3	51,444		B	C	D	E	F	G
L5	51,444		B	C	D	E	F	G
L50	51,333		B	C	D	E	F	G
L61	51,333		B	C	D	E	F	G
L78	51,333		B	C	D	E	F	G
R69	51,333		B	C	D	E	F	G
L96	51,333		B	C	D	E	F	G
R2	51,333		B	C	D	E	F	G
R66	51,333		B	C	D	E	F	G
L9	51,333		B	C	D	E	F	G
L139	51,333		B	C	D	E	F	G
R61	51,333		B	C	D	E	F	G
L93	51,333		B	C	D	E	F	G
L75	51,333		B	C	D	E	F	G
L25	51,333		B	C	D	E	F	G
L73	51,333		B	C	D	E	F	G
L130	51,333		B	C	D	E	F	G
L72	51,333		B	C	D	E	F	G
L71	51,333		B	C	D	E	F	G
L70	51,333		B	C	D	E	F	G
L19	51,333		B	C	D	E	F	G
L40	51,333		B	C	D	E	F	G
L52	51,333		B	C	D	E	F	G
L34	51,333		B	C	D	E	F	G
R76	51		B	C	D	E	F	G
R39	51		B	C	D	E	F	G
L74	51		B	C	D	E	F	G
L108	51		B	C	D	E	F	G
R15	51		B	C	D	E	F	G
L123	51		B	C	D	E	F	G
R30	51		B	C	D	E	F	G
L31	51		B	C	D	E	F	G
R8	51		B	C	D	E	F	G
R56	51		B	C	D	E	F	G
R23	51		B	C	D	E	F	G
L133	51		B	C	D	E	F	G
L16	51		B	C	D	E	F	G
L116	51		B	C	D	E	F	G
R47	51		B	C	D	E	F	G
L6	51		B	C	D	E	F	G
R3	51		B	C	D	E	F	G
R4	50,66		B	C	D	E	F	G
L129	50,66		B	C	D	E	F	G
R6	50,66		B	C	D	E	F	G
L92	50,66		B	C	D	E	F	G



## Annexe 11: L'analyse de la variance à un facteur globale pour le parametre PG (les groupes formés)

Modalité	Moyen	Regroupements			
L120	3,82	A			
R30	2,97	B			
R11	2,97	B			
L47	2,88	B	C		
R51	2,88	B	C		
L39	2,88	B	C		
L90	2,87	B	C		
L15	2,86	B	C		
L108	2,84	B	C		
L106	2,8	B	C		
R45	2,79	B	C		
R23	2,79	B	C		
L33	2,79	B	C		
L129	2,78	B	C		
L86	2,78	B	C		
L132	2,78	B	C		
R28	2,78	B	C		
R67	2,78	B	C		
L138	2,77	B	C		
R75	2,77	B	C		
L136	2,75	B	C		
L17	2,74	B	C		
L94	2,74	B	C		
L69	2,74	B	C		
L113	2,71	B	C		
L97	2,69	B	C		
L20	2,69	B	C		
L72	2,69	B	C		
R10	2,68	B	C	D	
L116	2,68	B	C	D	
R25	2,67	B	C	D	
R63	2,67	B	C	D	
L114	2,67	B	C	D	
R40	2,67	B	C	D	
R60	2,67	B	C	D	
L2	2,66	B	C	D	
R3	2,64	B	C	D	
R32	2,64	B	C	D	
L19	2,64	B	C	D	
L71	2,64	B	C	D	
R13	2,64	B	C	D	
L96	2,64	B	C	D	
L35	2,64	B	C	D	
R68	2,64	B	C	D	
R44	2,58	B	C	D	
L14	2,58	B	C	D	
L26	2,58	B	C	D	
L32	2,58	B	C	D	
L11	2,58	B	C	D	
L28	2,54	B	C	D	
L134	2,54	B	C	D	
R61	2,54	B	C	D	
L119	2,51	B	C	D	E
L95	2,49	B	C	D	E
L18	2,49	B	C	D	E
L70	2,49	B	C	D	E
L22	2,48	B	C	D	E
L101	2,48	B	C	D	E
L54	2,48	B	C	D	E
L99	2,48	B	C	D	E
L76	2,48	B	C	D	E
R54	2,48	B	C	D	E
L64	2,48	B	C	D	E
L74	2,48	B	C	D	E
L29	2,48	B	C	D	E
L52	2,48	B	C	D	E
L24	2,48	B	C	D	E
L7	2,46	B	C	D	E
R15	2,46	B	C	D	E
L16	2,46	B	C	D	E
R34	2,46	B	C	D	E
L21	2,45	B	C	D	E
L98	2,45	B	C	D	E
L30	2,45	B	C	D	E



## Annexe 12 : L'analyse des marqueurs moléculaires PCR/RAPD et PCR/ISSR

Tableau 1: Les produits chimiques utilisés dans l'isolement de l'ADN et l'analyse PCR (RAPD /ISSR)

S.No.	Produits chimiques	Source
1	Agarose	Prona
2	Acide borique	Merck
3	Chloroforme	Merck
4	CTAB	Applichem
5	dNTP Mélanger	Thermo scientific
6	EDTA	Applichem
7	Ethanol	Applichem
8	Bromure d'éthidium	Sigma Aldrich
9	Echelle Generuler ADN de 100 pb plus	Thermo scientific
10	Acide acétique glacial 100%	Atabay
11	Acide hydrochlorique	Tekkim
12	Alcool isoamylique	Applichem
13	Isopropanol	Merck
14	Chargement colorant (6X)	Thermo scientific
15	Chlorure de magnesium	Thermo scientific
16	Agarose	Prona and Sigma
17	Phénol: chloroforme: isoamyle	Amresco
18	ARNase A	Fermentas
19	Acétate de sodium	Merck
20	Chlorure de sodium	Merck
21	Hydroxyde de sodium	Merck
22	Tampon Taq contenant du sulfate d'ammonium	Thermo scientific
23	Tampon Taq contenant du sulfate d'ammonium et chlorure de potassium	Thermo scientific
24	Tampon Taq contenant du chlorure de potassium	Thermo scientific
25	Taq ADN Polymerase	Thermo scientific
26	Tris (hydroxyméthyl aminométhane)	Amresco
27	Eau	Pfizer
28	$\beta$ -mercaptoethanol	Merck

Tableau 2: Equipements utilisés pour l'analyse de marqueur d'ADN

S. No.	Equipements	Source
1	Système d'électrophorèse sur gel d'Agarose	Thermo Scientific / OWLa2
2	Autoclave	Hiclave HV 85
3	Congélateur (-20 ° C)	Arçelik et Beko
4	Congélateur (-80 ° C)	-80 °C Thermo Forma ULT Freezer
5	Double unité de distillation	Corporation humaine: Système de purification d'eau
6	Balance électronique	Sartorius LE 623 S
7	Système de documentation de gel	Thermoscientific
8	Four à air chaud	GALLENKAMP
9	Glacière machine	Scotsman AF 100
10	Agitateur magnétique	Nuve MK 318
11	Micropipette	Eppendorf
12	Four micro-onde	Arçelik
13	Machine PCR	Eppendorf/Mastercycler gradient
14	pH mètre	Thermoelectron corporation
15	Centrifugeuse réfrigérée haute vitesse	Eppendorf /Minispin plus
16	Transilluminateur	Vilber Lourmat
17	Spectrophotomètre	NanoDrop ND1000
18	Torche UV	Vilber Lourmat
19	Bain marie	Nüve BM 402
20	Bloc chaud	LAB-LINE multi block heater

Tableau 3: Quantité de différents constituants chimiques du mélange de réaction PCR

S. No.	Concentration et volume des constituants chimiques par réaction du mélange de réaction PCR			Make
	Constituant chimique et la concentration	Volume pour la réaction RAPD(µl)	Volume pour la réaction ISSR(µl)	
1	matrice d'ADN (50 ng / ul)	1	2	-
2	Taq Buffer (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> or KCl (10X)	1.5	2.5	Thermoscientific
3	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2.5	3	Thermoscientific

4	dNTP / RAPD (1mM) dNTP / ISSR (25 mM)	3	0.4	Thermoscientific
5	Amorce pour RAPD (5 µM) ;Amorce pour ISSR (10 µM)	1.5	0.5	MWG BIOTECH-AC/ METABION
6	Taq Polymerase (5U/µl)	0.6	0.3	Thermoscientific
7	Eau millQ	4.9	16.3	Pfizer Ltd
	Volume total	15	25	-

### Annexe 13 :PCR ;les produit utilisés pour la PCR en Tunisie.

#### 1/Tampon d'extraction d'ADN

	Cg	Ci	V
- Tris Hcl	- 100mM	- 1M (pH = 7)	- 10ml
- Nacl	- 500mM	- 5M	- 10ml
- EDTA	- 50mM	- 0.5M (pH= 8)	- 10ml
- SDS	- 1.25%	- 10%	- 12.5

#### 2/ Electrophorèse d'ADN

##### - Composantes du gel d'agarose 1%

Agarose	0.3g
TAE 1×	30ml
BET	1gotte

##### - Le tampon de charge 10 X (pH 8)

Bleu de bromophénol (2%)	0.75 ml
Glycérol (100%)	5 ml
Na- EDTA	2 ml
Xylène cyanole (2%)	0.75 ml
H2O	1.5 ml

Annexe14 : Quelques génotypes des deux variétés Leucomelan et Reichenbachi (L92,L99,L20,L72,L120,L132,L88,L139 ,R68,R59,R76,R4,R14,R63,R31etR35)



**Nom et Prénom : BELATTAR Rima**  
**Thèse pour l'obtention du grade de : Doctorat en Science**  
**Filière : Biologie Végétale**  
**Option : Biodiversité et Production Végétale**

**Thème :**  
**Application des marqueurs moléculaires à la gestion des ressources génétiques d'une accession de blé dur algérien (*Triticum durum* Desf.).**

**Résumé**

Dans ce travail, nous avons étudié une accession du blé dur cultivé en Algérie comprenant deux variétés : *leucomeulon* et *reichenbachi*, sur lesquelles des caractères phénologiques, morpho-physiologiques et moléculaires ont été mesurés. Les différents résultats obtenus ont permis d'identifier plusieurs groupes distincts au sein de cette accession.

Les paramètres phénologiques et morpho-physiologiques ont mis en évidence une certaine variabilité intra et inter variétale. C'est ainsi que la plupart des génotypes de la variété *reichenbachi* se sont avérés plus performants pour les paramètres morphologiques et physiologiques, alors que de nombreux génotypes de la variété *leucomelon* ont donné un meilleur rendement.

Sur l'ensemble de l'accession, 50 génotypes sélectionnés appartenant aux deux variétés ont été analysés par les marqueurs moléculaires RAPD et ISSR.

Pour les marqueurs RAPD, sur 10 amorces utilisées, 2 ont mis en évidence des bandes monomorphes et un pourcentage de polymorphisme élevé de 92,10%. Par ailleurs le Dendrogramme a réparti les différents génotypes en deux clusters distincts de similarité située entre 71,2 et 100%.

Parmi ces 50 génotypes, 20 sont retenus pour les marqueurs RAPD et analysés en utilisant 2 autres amorces qui ont générés 19 marqueurs polymorphes avec un fort pourcentage de polymorphisme égal à 95%.

Pour les marqueurs ISSR, les 10 amorces utilisées pour les 50 génotypes sélectionnés se sont révélées polymorphes avec un total de 32 bandes reproductibles dont 22 sont polymorphes (68,7%). Le Dendrogramme des marqueurs moléculaires ISSR a révélé deux clusters hétérogènes distincts de similarité légèrement inférieure à 68%.

Par ailleurs la classification hiérarchique des deux marqueurs RAPD et ISSR des 50 génotypes étudiés a permis de distinguer deux principaux groupes avec une similarité située entre 33 et 97,4%. L'évaluation de la diversité génétique à l'aide des deux marqueurs moléculaires RAPD et ISSR utilisés est plus discriminante pour les RAPD qui ont montré un polymorphisme génétique inter variétale important. Nous avons constaté que la répartition des 50 génotypes testés s'est faite en fonction de leur variété botanique.

En conclusion, l'étude des paramètres phénologiques, morpho-physiologiques, rendement et moléculaire analysés par les différentes techniques et méthodes, a mis en évidence une certaine variabilité inter variétale mais au sein de chacune des deux variétés les génotypes se sont avérés génétiquement proches.

**Mots clés :** *Triticum durum*, phénologie, morphologie, physiologie, diversité génétique, marqueurs moléculaires ISSR, RAPD et polymorphisme.

**Laboratoire :** Développement et Valorisation des Ressources Phytogénétiques

**Jury :**

<b>M'barak BAKA</b>	Président	Univ. Des Frère Mentouri - Constantine 1
<b>Leila BOUDOUR</b>	Rapporteur	Univ. Des Frère Mentouri - Constantine 1
<b>Amar BENMAHAMMED</b>	Examinateur	Univ. Ferhat Abbas -Sétif 1
<b>Mohamed Mourad SNOUSSI</b>	Examinateur	Univ. Larbi Ben M'hidi-Oum El Bouaghi
<b>Yahia ABDELOUAHAB</b>	Examinateur	CU Abdelhafid Boussouf -Mila
<b>Ghania CHAIB</b>	Examinateur	Univ. Des Frère Mentouri - Constantine 1