

Evaluation de la diversité génétique des populations locales de blé dur pour renforcer l'approche de conservation In Situ au Maroc

Labhilili M.¹, Taghouti M. , Jacquemin J.M., et Eljaafari S.

¹*Unité de Biotechnologie, Centre Régional de Recherche Agronomique de Rabat, INRA, PB 415. Rabat.*

²*Département de biotechnologie, chaussée de Charleroi, 243, B- 5030 Gembloux. Belgique*

³*Département de biologie, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, Meknès, Maroc.*



ملخص

هدف هذه الدراسة هو التوصيف الجزيئي للتنوع الوراثي لعشيرة من القمح الصلب المحلي لأقليم الراشيدية ودعم طريقة المحافظة المحلية في المغرب . وقد تمت دراسة 34 عشيرة من القمح الصلب مع استعمال أصناف قمح محسنة كمؤشرات باستعمال تقنيات *Microsatellite* وقد أظهرت تحليلات النتائج تقارب التنوع الوراثي للعشائر المحلية وتباعدها عن الأصناف المحسنة، مما يدل على تأقلم العشائر المحلية للبيئة المناخية الخاصة لأقليم الراشيدية، وبالتالي يجب ضرورة حمايتها من الإلتلاف ودعم المحافظة عليها بتثبيت زراعتها في هذه المنطقة حتى يمكن استعمالها في التحسين الوراثي.

الكلمات المفتاحية : القمح الصلب، الأصناف المحلية، التصنيف الوراثي، المغرب

Résumé

Cette étude a pour but d'évaluer la structure génétique des populations locales de blé dur pour contribuer au développement de l'approche de conservation In Situ au Maroc. Trente quatre populations locales de blé dur de la région d'Errachidia ont été analysées. Trois variétés de blé dur (Cham 1, Marzak, Omrabia) et une variété de blé tendre (Saada) ont été utilisées comme référence dans cette étude. Cent trente trois microsattellites ont été étudiés, 25 microsattellites se sont révélés polymorphes (18,7%). Douze microsattellites amorces ont été utilisées dans l'évaluation de la diversité génétique de toutes les populations. Les analyses montrent une faible diversité entre les différentes populations. La dissimilarité ainsi que le dendrogramme obtenus regroupent toutes les populations en un seul groupe ou métapopulation et les variétés utilisées comme référence en un autre groupe. La faible diversité observée et le réarrangement de toutes les populations en un groupe ou métapopulation peut être le résultat d'une adaptation spécifique à la région (sélection naturelle), d'une sélection par les agriculteurs de la région ou d'un faible échange des semences avec les agriculteurs des autres régions.

Mots clés : Populations locales, blé dur, microsattellites, conservation In-Situ, diversité génétique, Maroc.

Abstract

This study was carried to evaluate the genetic structure of durum wheat landrace populations in order to contribute to the development of the In Situ conservation approach initiated in Morocco. These landraces are the outcome of natural selection and farmers manipulation. Thirty-four durum wheat local populations were evaluated. Wheat microsattellites was used in the assessment of the genetic diversity of these landraces. Three durum wheat varieties (Cham 1, Marzak, and Omrabia) and one bread wheat variety were used as checks. One hundred and thirty three wheat microsattellites were used, 25 microsattellites were polymorphs. Low diversity has been detected among different populations. The dissimilarity and clustering analysis showed that all local populations were classified in one group or meta-population, and were different from the check varieties. This can be explained by specific adaptation of these populations to Errachidia environment, strong farmers selection and low exchange of seed with farmers from outside regions.

Key words : durum wheat, In Situ Conservation, microsattellites, genetic diversity, local populations, Morocco.

Introduction

Le Maroc est l'un des centres de diversité génétique de blé dur dans le monde. Ces ressources ont été utilisées pendant plusieurs années comme source génétique par les agriculteurs pour la création des populations adaptées localement, et par les améliorateurs pour la création de nouvelles variétés adaptées dans plusieurs régions agro-climatiques du monde. La domestication de blé dur a engendré la création de plusieurs populations locales au Maroc et dans le monde (Manfred Heun et al., 1997). Plusieurs de ces populations sont encore cultivées par les petits agriculteurs des zones marginalisées. Elles constituent la source économique principale et fourragère de ces zones. L'existence de plusieurs sites écologiques au Maroc a permis le maintien d'une grande diversité génétique et la création de plusieurs populations locales de blé dur et d'orge ce qui permet de classer le Maroc comme un centre de biodiversité et un foyer de domestication de ces espèces (Molino-Cano J.L., et al., 1987).

Pendant les deux dernières décennies, la sécheresse est devenue un phénomène fréquent voir même structurel. Ceci a entraîné la baisse de la production agricole et la perte de plusieurs ressources génétiques en particulier des populations anciennes de blé dur qui pourraient constituer une source pour la création de nouvelles variétés. Pour développer un système de conservation *In Situ* et assurer leur protection, une analyse de la variabilité génétique de ces populations est nécessaire.

Plusieurs techniques moléculaires ont été utilisées dans l'évaluation des ressources génétiques. Les techniques moléculaires, basées sur l'amplification par PCR ont beaucoup facilité ces études. La technique RAPD (Random Amplify Polymorphic DNA) a été utilisée depuis 1985 pour l'étude de la diversité génétique des plantes (Dawson et al., 1993 ; MacRoberts N et al., 1999). La technique AFLP (Amplify Fragment Length Polymorphic DNA), découverte vers 1995 (Vos et al, 1995) a été utilisée pour l'étude de la diversité génétique de l'orge (Pakniyat et al., 1997), du blé diploïde (Chabane et al., 1999) et de plusieurs autres plantes. La technique de microsatellites ou 'simple séquence répétitive' a été développée chez plusieurs espèces en particulier chez l'orge (Becker et al; 1995 ; Liu et al. 1996 ; Ramsay et al., 2000 ; Russell et al., 1995 ; 1997 ; Saghai Maroof et al., 1994 ; Struss et al., 1998) et le blé (Bryan et al., 1997 ; Rodder et al., 1995, 1998.). La technique microsatellite régénère des marqueurs de type codominant ce qui la privilégie aux techniques RAPD et AFLP qui régénèrent des marqueurs dominants.

L'objectif de cette étude est l'évaluation de la variabilité génétique des populations locales de blé dur du Maroc afin de mieux orienter l'approche de la conservation *In Situ* conduite dans le pays ; ceci par le maintien d'une variabilité génétique élevée et le développement d'un outil pour la classification de ces mêmes populations lors de la conservation *Ex Situ* dans la banque de gène du Maroc.

Matériel et méthodes

Matériel génétique

Les missions de collecte des populations locales de blé dur ont été basées sur les informations fournies par la caractérisation socioéconomique et agro-écologique des sites ainsi que sur les données monographiques de distribution des cultures et des villages. La région de Rich qui se trouve dans la province d'Errachidia a été choisie pour la réalisation de cette collecte (Tableau 1). La collecte a commencé en 1998/99, et s'est poursuivie jusqu'en 2000-2001. La collecte a été réalisée sur la récolte de la semence à partir des plantes individuelles au champ avant la récolte ou sur le prélèvement d'échantillons à partir de semences en vrac de l'agriculteur après la récolte. Dans le premier cas, 30 à 100 pieds ont été prélevés individuellement et de manière aléatoire dans le champ de collecte afin de couvrir la variabilité de la parcelle.

Ces populations ont été semées par épis ligne dans la station expérimentale de Marchouch pour la multiplication de semences et pour les évaluations agro-morphologiques. Etant donné l'impossibilité d'analyser toutes les populations locales collectées, un échantillonnage représentatif de la diversité dans chaque site a été réalisé (Tableau 1)

Tableau 1. Sites de collection des populations locales de blé dur collectées en 1998/99 et 1999/2000.

Province	Commune rurale	Village	Nombre de populations collectées	Code population	
Errachidia	Rich	Ait ben Yahia	10	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 16, 19	
		Tabia	3	9, 17, 24	
		Tigharmitine	5	10, 18, 27, 28, 29	
		Tighaghort	2	30, 33	
		M'zizel	Balit	3	11, 12, 14
			Z. Sidi Boukil	2	13,34
			Ouallal	3	15, 20, 31
			M'zizel	1	23
			Bouchifa	1	26
	Sidi Ayad	Gofoy	1	25	
		Tangout	1	32	
		Ait Said	2	36, 37	
		Ait Moussa	1	105	
		Guers	Tadraklout	3	21, 22, 39
			Ait Ammar	2	35,38
		Tallouline	Chorfa	3	103

Extraction de l'ADN

Les populations ont été semées sous serre. Les feuilles ont été prélevées à partir des plantules au stade 3 feuilles, coupées et mises dans l'azote liquide et stockées à -70°C. L'ADN a été extrait

à partir de ces feuilles en utilisant la technique CTAB décrite par Saghai-Marroof et al. (1984) avec une légère modification. Un à 3g de matière fraîche ont été broyés dans l'azote liquide au quel sont ajoutés 10 ml du tampon d'extraction [Tris 150mM, EDTA 15mM, NaCl 1,05M, 1,5% de CTAB, pH7.5] et 1% du Mercaptoethanol. L'extrait est mélangé légèrement, puis mis à 65°C pendant 1 heure sous agitation, puis il est refroidi dans la glace pendant 5 minutes. 10 ml du mélange chloroforme/alcool iso amylique (24:1) sont ajoutés puis laissés pendant 20 minutes dans la glace sous agitation. L'extrait est centrifugé ensuite à 5000 trs/mn pendant 30 minutes. La phase aqueuse est récupérée, puis l'ADN est précipité avec 10 ml d'Isopropanol (vol/vol) en mélangeant doucement. Le culot formé est récupéré puis lavé deux fois avec 1ml d'Ethanol 75%. Il est dissout ensuite dans 300 μ l de TE0,1 (10mM Tris, 0,1mM EDTA, pH 7.5). Après dissolution, l'ARN est digéré par 2 μ l d'ARNase (10 μ g/ μ l) pendant 30 minutes à 37°C. L'ADN est ensuite précipité par 2 volumes d'éthanol absolu froid et 0,25M de NaCl puis lavé deux fois avec 1 ml d'éthanol 75%. Il est séché ensuite, puis mis dans 300 μ l du TE0,1 pour dissolution toute la nuit à 4°C sous légère agitation.

Réaction PCR

Cinq à 10 échantillons ont été utilisés pour analyser la variabilité génétique de chaque population. 10 μ g d'ADN de chaque échantillon ont été utilisés pour faire un pool d'ADN de chaque population. La réaction PCR a été réalisée dans un volume de 25 μ l contenant 50 ng d'ADN de chaque échantillon, 250 μ M de chacune des deux amorces de microsatellite (Roder et al. ; 1998) (tableau 2) marquées par un fluochrome CY5, 1X du tampon PCR contenant 2,5 μ M de Mg²⁺ fourni avec l'enzyme Taq DNA polymérase, 200 μ M de chaque dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) et une unité de l'enzyme Taq DNA polymérase (Roche). Les programmes d'amplification PCR étaient identiques pour toutes les amorces sauf la température d'hybridation de l'amorce à l'ADN qui était fixée selon les conditions optimisées par Roder et al., (1998). Ce programme est composé d'une étape de dénaturation initiale à 94°C pendant 4 minutes suivie de 35 cycles. Chaque cycle est composé d'une étape de dénaturation de 30 secondes à 94°C, d'une étape d'hybridation de l'amorce à l'ADN de 30 secondes à une température de 50, 55 ou 60 selon l'amorce utilisée (tableau 2) et d'une étape d'extension de 60 secondes à 72°C. Ce programme s'est terminé par une phase d'extension finale de 5 minutes à 72°C.

Analyse des produits d'amplification par le séquenceur ALF Express

Les produits d'amplification ont été séparés sur gel acrylamide 6% [6% acrylamide/ bis-acrylamide (19 :1) ; 7 M d'urée ; 1XTBE (100mM du Tris, 83mM d'acide borique, 1mM EDTA), pH 8,3 ; 0,333% d'Ammonium persulfate 10% ; 0,033% du Temed] en conditions dénaturantes par le séquenceur ALF Express selon les protocoles décrits par Pharmacia. 2,5 μ l du tampon de dépôt (5 mg du Bleu dextrane 1 ml de formamide) contenant 50 ng du marqueur de taille, ont été ajoutés à 2,5 μ l du produit de réaction PCR, puis dénaturés à 94°C pendant 3 minutes. La migration se fait en condition dénaturante (55°C, 900V, 45 mA et 35 Watt) dans le tampon 1XTBE.

Analyse des données

Après analyse des produits d'amplification, les marqueurs polymorphes ont été notés présent (1) ou absent (0) pour chaque population. L'analyse de la matrice des données pour le calcul de la matrice des distances génétiques et le dendrogramme a été réalisée par le programme statistique NTSYS version 2.00 (1997). La matrice de dissimilarité a été obtenue par la méthode SIMGEND. Le dendrogramme a été construit par l'analyse UPGMA en utilisant la méthode SAHN (Sneath and Sokal 1973).

Tableau 2 . Liste des amorces de microsatellites du blé testées pour l'analyse de la variabilité génétique des populations locales de blé dur. Tp An: température d'annealing (d'hybridation) ; Opata bp: taille de fragment obtenu chez la variété Opata du blé tendre

No	Locus	Amorce gauche	Amorce droite	Repeat	Tp AnO	Pata bp
1	Xgwm3-3D	GCA GCG GCA CTG GTA CAT TT	AAT ATC GCA TCA CTA TCC CA	(CA)18	55°	84
2	Xgwm4-4A	GCT GAT GCA TAT AAT GCT GT	CAC TGT CTG TAT CAC TCT GCT	(CA)13(TA)26	55°	257
3	Xgwm33-1A-1B-1D	GGG GTC ACA CTT GTT TGT GCA	CAC TGC ACA CCT AAC TAC CTG C	(GA)19	60°	116
4	Xgwm37-7D	ACT TCA TTG TTG ATC TTG CAT G	CGA CGA ATT CCC AGC TAA AC	(AG)8GG(AG)21	60°	189
5	Xgwm43-7B	CAC CGA CCG TTT CCC TAG AGT	GGT GAG TGC AAA TGT CAT GTG	(CA)22	60°	184
6	Xgwm44-7D	GTT GAG CTT TTC AGT TCG GC	ACT GGC ATC CAC TGA GCT G	(GA)28	60°	178
7	Xgwm46-7B	GCA CGT GAA TGG ATT GGA C	TGA CCC AAT AGT GGT GGT CA	(GA)2GG(CA)33	60°	186
8	Xgwm47.1-2A	TTG CTA CCA TGC ATG ACC AT	TTC ACC TCG ATT GAG GTC CT	(CT)7TT(CT)16	60°	150
9	Xgwm52-3D	CTA TGA GGC GGA GGT TGA AG	TGC GGT GCT CTT CCA TTT	(GT)4AT(GT)20	60°	142
10	Xgwm55.2-2B-6D	GCA TCT GGT ACA CTA GCT GCC	TCA TGG ATG CAT CAC ATC CT	(TC)3(T)3(CT)17	60°	122-128
11	Xgwm60-7A	TGT CCT ACA CCG ACC ACG T	GCA TTG ACA GAT GCA CAC G	(CA)30	60°	190
12	Xgwm67-5B	ACC ACA CAA ACA AGG TAA GCG	CAA CCC TCT TAA TTT TGT TGG G	(CA)10	60°	94
13	Xgwm68-5B-7B	AGG CCA GAA TCT GGG AAT G	CTC CCT AGA TGG GAG AAG GG	(CA)3(G)3(GA)25	60°	197
14	Xgwm70-6B	AGT GGC TGG GAG AGT GTC AT	GCC CAT TAC CGA GGA CAC	(GT)7GG(GT)11	60°	120-126
15	Xgwm71.1.2-2A-3D	GGC AGA GCA GCG AGA CTC	CAA GTG GAG CAT TAG GTA CAC G	(GT)20	60°	120-126
16	Xgwm77-3B	ACA AAG GTA AGC AGC ACC TG	ACC CTC TTG CCC GTG TTG	(CA)10(GA)40IMP	60°	162
17	Xgwm88-6B	CAC TAC AAC TAT GCG CTC GC	TCC ATT GGC TTC TCT CTC AA	(GT)18TT(GA)4	60°	128
18	Xgwm95-2A	GAT CAA ACA CAC ACC CCT CC	AAT GCA AAG TGA AAA ACC CG	(AC)16	60°	117
19	Xgwm99-1A	AAG ATG GAC GTA TGC ATC ACA	GCC ATA TTT GAT GAC GCA TA	(CA)21	60°	153
20	Xgwm102-2D	TCT CCC ATC CAA CCG CTC	TGT TGG TGG CTT GAC TAT TG	(CT)15	60°	188
21	Xgwm106-1D	CTG TTC TTG CGT GGC ATT AA	AAT AAG GAC ACA ATT GGG ATG G	(GA)024	60°	135
22	Xgwm107-4B	ATT AAT ACC TGA GGG AGG TGC	GGT CTC AGG AGC AAG AAC AC	(CT)21	60°	206
23	Xgwm108-3B	CGA CAA TGG GGT CTT AGC AT	TGC ACA CTT AAA TTA CAT CCG C	(GT)35IMP	60°	162
24	Xgwm111-7D	TCT GTA GGC TCT CTC CGA CTG	ACC TGA TCA GAT CCC ACT CG	(CT)32(GT)17	55°	190
25	Xgwm120-2B	GAT CCA CCT TCC TCT CTC TC	GAT TAT ACT GGT GCC GAA AC	(CT)11(CA)18	60°	190
26	Xgwm124-1B	GCC ATG GCT ATC ACC CAG	ACT GTT CCG TGC AAT TTG AG	(CT)027(GT)18IMP	60°	196
27	Xgwm126-5A	CAC ACG CTC CAC CAT GAC	GTT GAG TTG ATG CCG GAG G	(CA)15	60°	196

Tableau 2. Suite

28	Xgwm130-7A	AGC TCT GCT TCA CGA GGA AG	CTC CTCT TTT ATA TCG CGT CCC	(GT)22	60°	126
29	Xgwm131-1B	AAT CCC CAC CGA TTC TTC TC	AGT TCG TGG GTC TCT GAT GG(CT)22	60°	165
30	Xgwm132-6B	TAC CAA ATC GAA ACA CAT CAG G	CAT ATC AAG GTC TCC TTC CCC	(GA)24(GAA)6imp	60°	118
31	Xgwm133-6B	ATC TAA ACA AGA CCG CGG TG	ATC TGT GAC AAC CCG TGA GA	(CT)39imp	60°	128
32	Xgwm135-1A	TGT CAA CAT CGT TTT GAA AAG G	ACA CTG TCA ACC TGG CAA TG	(GA)20	60°	153
33	Xgwm136-1A	GAC AGC ACC TTG CC TTT G	CAT CGG CAA CAT GCT CAT C	(CT)58	60°	278
34	Xgwm149-4B	CAT TGT TTT CTG CCT CTA GCC	CTA GCA TCG AAC CTG AA C AAG	(GA)23imp	55°	161
35	Xgwm153-1B	GAT CTC GTC ACC CGG AAT TC	TGG TAG AGA AGG ACG GAG AG	(GA)18	60°	183
36	Xgwm154-5B	TCA CAG AGA GAG AGG GAG GG	ATG TGT ACA TGT TGG CTG CA	(GA)37imp	55°	102
37	Xgwm156-5A	CCA ACC GTG CTA TTA GTC ATT C	CAA TGC AGG CCC TCC TAA C	(CT)14	60°	300
38	Xgwm157-2D	GTC GTC GCG GTA AGC TTG	GAG TGA ACA CAC GAG GCT TG	(CT)14	60°	106
39	Xgwm159-5B	GGG CCA ACA CTG GAA CAC	GCA GAA GCT TGT TGG TAG GC	(GT)15	60°	189
40	Xgwm160-4A	TTC AAT TCA GTC TTG GCT TGG	CTG CAG GAA AAA AAG TAC ACC C	(GA)21	60°	184
41	Xgwm161-3D	GAT CGA GTG ATG GCA GAT GG	TGT GAA TTA CTT GGA CGT GG	(CT)15	60°	154
42	Xgwm162-3A	AGT GGA TCG ACA AGG CTC TG	AGA AGA AGC AAA GCC TTC CC	(CA)14A(CA)4	60°	202
43	Xgwm164-1A	ACA TTT CTC CCC CAT CGT C	TTG TAA ACA AAT CGC ATG CG(CT)16	55°	122
44	Xgwm165-4A-4B-4D	TGC AGT GGT CAG ATG TTT CC	CTT TTC TTT CAG ATT GCG CC	(GA)20	60°	188
45	Xgwm169-6A	ACC ACT GCA GAG AAC ACA TAC G	GTG CTC TGC TCT AAG TGT GGG	(GA)23	60°	220
46	Xgwm174-5D	GGG TTC CTA TCT GGT AAA TCC C	GAC ACA CAT GTT CCT GCC AC	(CT)22	55°	233
47	Xgwm179-5A	AAG TTG AGT TGA TGC GGG AG	CCA TGA CCA GCA TCC ACT C	(GT)15	55°	181
48	Xgwm182-5D	TGA TGT AGT GAG CCC ATA GGC	TTG CAC ACA GCC AAA TAA GG	(CT)18	60°	163
49	Xgwm183-3D	GTG TTC CCA TCT CGC AAG AG	CTC GAC TCC CAT GTG GAT G	(GA)21(N)51©25	55°	
50	Xgwm186-5A	GCA GAG CCT GGT TCA AAA AG	CGC CTC TAG CGA GAG CTA TG	(GA)26	60°	132
51	Xgwm192-5D	GGT TTT CTT TCA GAT TGC GC	CGT TGT CTA ATC TTG CCT TGC	(CT)46	60°	191
52	Xgwm210-2B	TGC ATC AAG AAT AGT GTG GAA G	TGA GAG GAA GGC TCA CAC CT	(GA)20	60°	303
53	Xgwm212-5D	AAG CAA CAT TTG CTG CAA TG	TGC AGT TAA CTT GTT GAA AGG A	(CT)20	60°	102
54	Xgwm219-6B	GAT GAG CGA CAC CTA GCC TC	GGG GTC CGA GTC CAC AAC	(GA)35imp	60°	184
55	Xgwm232-1D	ATC TCA ACG GCA AGC CG	CTG ATG CAA GCA ATC CACC	(GA)19	55°	140

Tableau 2. Suite

56	Xgwm234-5B	GAG TCC TGA TGT GAA GCT GTT G	CTC AIT GGG GTG TGT ACG TG	(CT)16(CA)20	55°
250					
57	Xgwm251-4B	CAA CTG GTT GCT ACA CAA GCA	GGG ATG TCT GTT CCA TCT TAG	(CA)28	55° 110
58	Xgwm257-2B	AGA GTG CAT GGT GGG ACG	CCA AGA CGA TGC TGA AGT CA	(GT)30	60° 190
59	Xgwm259-1B	AGG GAA AAG ACA TCT TTT TTT TC	CGA CCGACT TCG GGT TC	(GA)17	55° 105
60	Xgwm260-7A	GCC CCC TTG CAC AAT C	CGC AGC TAC AGG AGG AGG CC	(GA)20	55° 169
61	Xgwm261-2D	CTC CCT GTA CGC CTA AGG C	CTC GCG CTA CTA GCC ATT G	(CT)21	55° 164
62	Xgwm264-1B	GAG AAA CAT GCC GAA CAA CA	GCA TGC ATG AGA ATA GGA ACT G	(CA)9A(CA)24	60° 157
63	Xgwm271-5D	CAA GAT CGT GGA GCC AGC	AGC TGC TAG CTT TTG GGA CA	(CT)4imp(GA)10	60°
64	Xgwm291-5A	CAT CCC TAC GCC ACT CTG C	AAT GGT ATC TAT TCC GAC CCG	(CA)35	60° 160
65	Xgwm292-5D	TCA CCG TGG TCA CCG AC	CCA CCG AGC CGA TAA TGT AC	(CT)38	60° 214
66	Xgwm293-5A	TAC TGG TTC ACA TTG GTG CG	TCG CCA TCA CTC GTT CAA G	(CA)24	55°
67	Xgwm294-2A	GGA TTG GAG TTA AGA GAG AAC CG	GCA GAG TGA TCA ATG CCA CA	(GA)9TA(GA)15	55° 96
68	Xgwm295-7D	GTG AAG CAG ACC CAC AAC AC	GAC GGC TGC GAC GTA GAG	(GA)25	60° 254
69	Xgwm296-2D-2A	AAT TCA ACC TAC CAA TCT CTG	GCC TAA TAA ACT GAA AAC GAG	(CT)28	55° 182
70	Xgwm299-3B	ACT ACT TAG GCC TCC CGC C	TGA CCC ACT TGC AAT TCA TC	(GA)31(TAG)4	55° 206
71	Xgwm301-2D	GAG GAG TAA GAC ACA TGC CC	GTG GCT GGA GAT TCA GGT TC	(GA)31(G)12	55°
72	Xgwm304-5A	AGG AAA CAG AAA TAT CGC GG	AGG ACT GTG GGG AAT GAA TG	(CT)22	55° 202
73	Xgwm314-3D	AGG AGC TCC TCT GTG CCA C	TTC GGG ACT CTC TTC CCT G	(CT)25imp	55 182
74	Xgwm320-2D	CGA GAT ACT ATG GAA GGT GAG G	ATC TTT GCA AGG AIT GCC C	(GT)9(GA)15	55°
75	Xgwm325-6D	TTT CTT CTG TCG TTC TCT TCC C	TTT TTA CGC GTC AAC GAC G	(CT)16	60° 133
76	Xgwm334-6A	AAT TTC AAA AAG GAG AGA GA	AAC ATG TGT TTT TAG CTA TC	(GA)19	50° 114
77	Xgwm337-1D	CCT CTT CCT CCC TCA CTT AGC	TGC TAA CTG GCC TTT GCC	(CT)5(CACT)6(CA)43	55° 191
78	Xgwm340-3B	GCA ATC TTT TTT CTG ACC ACG	ACG AGG CAA GAA CAC ACA TG	(GA)26	60° 159
79	Xgwm344-7B	CAA GGA AAT AGG CCG TAA CT	ATT TGA GTC TGA AGT TTG CA	(GT)24	55° 121
80	Xgwm350-7A	ACC TCA TCC ACA TGT TCT ACG	GCA TGG ATA GGA CGC CC	(GT)14	55° 215
81	Xgwm358-5D	AAA CAG CCG AIT TCA TCG AG	TCC GCT GTT GTT CTG ATC TC	(GA)18(G)2(GA)4	55° 164
82	Xgwm359-2A	CTA ATT GCA ACA GGT CAT GGG	TAC TTG TGT TCT GGG ACA ATG G	(CT)20(CTT)13imp	55° 212
83	Xgwm368-4B	CCA TTT CAC CTA ATG CCT GC	AAT AAA ACC ATG AGC TCA CTT GC	(AT)25	60° 259
84	Xgwm369-3A	CTG CAG GCC ATG ATG ATG	ACC GTG GGT GTT GTG AGC	(CT)11(CT)2(CT)21	60° 184

Tableau 2. Suite

85	Xgwm372-2A	AAT AGA GCC CTG GGA CTG GG	GAA GGA CGA CAT TCC ACC TG	(GA)>51	60°	310
86	Xgwm374-2B	ATA GTG TGT TGC ATG CTG TGT G	TCT AAT TAG CGT TGG CTG CC	(GT)17	60°	210
87	Xgwm382-2A	GTC AGA TAA CGC CGT CCA AT	CTA CGT GCA CCA TTT TG	(GA)26	60°	
88	Xgwm383-3D	ACG CCA GTT GAT CCG TAA AC	GAC ATC AAT AAC CGT GGA TGG	(GT)27	60°	188
89	Xgwm389-3B	ATC ATG TCG ATC TCC TTG ACG	TGC CAT GCA CAT TAG CAG AT	(CT)14(GT)16	60°	117
90	Xgwm391-3A	ATA GCG AAG TCT CCC TAC TCC A	ATG TGC ATG TCG GAC GC	(CA)17(GA)9	55°	
91	Xgwm397-4A	TGT CAT GGA TTA TTT GGT CCG	CTG CAC TCT CGG TAT ACC AGC	(CT)21	55°	175
92	Xgwm400-7B	GTG CTG CCA CCA CTT GC	TGT AGG CAC TGC TTG GGA G	(CA)21	60°	143
93	Xgwm403-1B	CGA CAT TGG CTT CCG TG	ATA AAA CAG TGC GGT CCA GG	(CA)13	55°	140
94	Xgwm410-2B-5A	GCT TGA GAC CCG CAC AGT	CGA GAC CTT GAG GGT CTA GA	(CA)11(CA)10(CA)8	55°	335
95	Xgwm415-5A	GAT CTC CCA TGT CCG CC	CGA CAG TCG TCA CTT GCC TA	(GA)25imp	55°	133
96	Xgwm428-7D	CGA GGC AGC GAG GAT TT	TTC TCC ACT AGC CCC GG	(GA)22	60°	137
97	Xgwm443-5B	GGG TCT TCA TCC GGA ACT CT	CCA TGA TTT ATA AAT TCC ACC	(CA)20(GA)22	55°	209
98	Xgwm456-3D	TCT GAA CAT TAC ACA ACC CTG A	TGC TCT CTC TGA ACC TGA AGC	(GA)21	55°	138
99	Xgwm459-6A	ATG GAG TGG TCA CAC TTT GAA	AGC TTC TCT GAC CAA CTT CTC G	(GA)>28	55°	118
100	Xgwm469-6D	CAA CTC AGT GCT CAC ACA ACG	CGA TAA CCA CTC ATC CAC ACC	(CT)19(CA)10	60°	172
101	Xgwm480-3A	TGC TGC TAC TTG TAC AGA GGA C	CCG AAT TGT CCG CCA TAG	(CT)16(CA)13	60°	172
102	Xgwm484-2D	ACA TCG CTC TTC ACA AAC CC	AGT TCC GGT CAT GGG TAG G	(CT)29	55°	153
103	Xgwm493-3B	TTC CCA TAA CTA AAA CCG CG	GGA ACA TCA TTT CTG GAC TTT G	(CA)43imp	60°	179
104	Xgwm494-6A	ATT GAA CAG GAA GAC ATC AGG G	TTC CTG GAG CTG TCT GGG	(CA)13	60°	194
105	Xgwm499-5B	ACT TGT ATG CTC CAT TGA TTG G	GGG GAG TGG AAA CTG CAT AA	(GA)32	60°	131
106	Xgwm501-2B	GGC TAT CTC TGG CGC TAA AA	TCC ACA AAC AAG TAG CGC C	(CA)33	60°	176
107	Xgwm515-2A	AAC ACA ATG GCA AAT GCA GA	CCT TCC TAG TAA GTG TGC CTC A	(GT)17(TCAT)(GT)6	60°	130
108	Xgwm518-6B	AAT CAC AAC AAG GCG TGA CA	CAG GGT GGT GCA TGC AT	(CA)34	55°	166
109	Xgwm526-2B	CAA TAG TTC TGT GAG AGC TGC G	CCA ACC CAA ATA CAC ATT CTC A	(CT)16	55°	148
110	Xgwm533.1-3B	AAG GCG AAT CAA ACG GAA TA	GTT GCT TTA GGG GAA AAG CC	(CT)18(CA)20	60°	
111	Xgwm540-5B	TCT CGC TGT GAA ATC CTA TTT C	AGG CAT GGA TAG AGG GGC	(CT)3(CC)(CT)16	55°	133
112	Xgwm547-3B	GTT GTC CCT ATG AGA AGG AAC G	TTC TGC TGC TGT TTT CAT TTA C	(CA)12	60°	171
113	Xgwm550-1B	CCC ACA AGA ACC TTT GAA GA	CAT TGT GTG TGC AAG GCA C	(CT)8(GT)18	55°	156

Tableau 2 . Suite

114	X _{gwm} 554-5B	TGC CCA CAA CGG AAC TTG	GCA ACC ACC AAG CAC AAA GT	(CT)13(GT)14	60°	148
115	X _{gwm} 565-5D	GCG TCA GAT ATG CCT ACC TAG G	AGT GAG TTA GCC CTG AGC CA	(CA)10	60°	142
116	X _{gwm} 570-6A	TGC CCT TTT ACA GTC GGC	ATG GGT AGC TGA GAG CCA AA	(CT)14(GT)18	60°	149
117	X _{gwm} 577-7B	ATG GCA TAA TTT GGT GAA ATT G	TGT TTC AAG CCC AAC TTC TAT T	(CA)14(TA)6	55°	164
118	X _{gwm} 583-5D	TTC ACA CCC AAC CAA TAG CA	TCT AGG GAG ACA CAT GCC TG	(CA)27	60°	165
119	X _{gwm} 601-4A	ATC GAG GAC GAC ATG AAG GT	TTA AGT TGC TGC CAA TGT TCC	(CT)17	60°	152
120	X _{gwm} 608-2D	ACA TTG TGT GTG CGG CC	GAT CCC TCT CCG CTA GAA GC	(GA)16	60°	166
121	X _{gwm} 610-4A	CTG CCT TCT CCA TGG TTT GT	AAT GGC CAA AGG TTA TGA AGG	(GA)17imp	60°	162
122	X _{gwm} 611-7B	CAT GGA AAC ACC TAC CGA AA	CGT GCA AAT CAT GTG GTA GG	(GA)32imp	55°	166
123	X _{gwm} 613-6B	CCG ACC CGA CCT ACT TCT CT	TTG CCG TCG TAG ACT GG	(CT)23	60°	114
124	X _{gwm} 614-2A	GAT CAC ATG CAT GCG TCA TG	TTT TAC CGT TCC GGC CTT	(GA)23imp	60°	126
125	X _{gwm} 617-5A	GAT CTT GGC GCT GAG AGA GA	CTC CGA TGG ATT ACT CGC AC	(GA)43	60°	154
126	X _{gwm} 630-2B	GTG CCT GTG CCA TCG TC	CGA AAG TAA CAG CGC AGT GA	(GT)16	60°	120
127	X _{gwm} 637-4A	AAA GAG GTC TGC CGC TAA CA	TAT ACG GTT TTG TGA GGG GG	(CA)18	60°	159
128	X _{gwm} 639-5A-5B-5D	CTC TCT CCA TTC GGT TTT CC	CAT GCC CCC CTT TTC TG	(GA)19	55°	141
129	X _{gwm} 642-1D	ACG GCG AGA AGG TGC TC	CAT GAA AGG CAA GTT CGT CA	(GT)14	60°	187
130	X _{gwm} 644-6B-7B	GTG GGT CAA GGC CAA GG	AGG AGT AGC GTG AGG GGC	(GA)20	60°	193
131	X _{gwm} 645-3D	TGA CCG GAA AAG GGC AGA	GCC CCT GCA GGA GTT TAA GT	(CT)23imp	55°	161
132	X _{gwm} 654-5D	TGC TGA TGT TCT AAG AAG GC	TGC GTC AGA TAT GCC TAC CT	(GT)28	55°	129
133	X _{gwm} 666-5A	GCA CCC ACA TCT TCG ACC	TGC TGC TGG TCT CTG TGC	(CA)13	60°	110

Résultats

Pour l'étude de la diversité génétique des populations locales de blé dur du Maroc, la technique de microsatellites a été appliquée en utilisant les amorces développées pour les microsatellites du blé XWMG (Roder et al., 1998). Les produits d'amplifications ont été analysés par le séquenceur ALF Express (fig. 1). Trente quatre populations locales de blé dur ont été analysées en utilisant comme référence 3 variétés de blé dur (Cham1 qui présente une large adaptation dans toute la zone méditerranéenne, Marzak variété ancienne et qui est aussi adaptée aux zones arides et semi-arides et Oum Rabia 5 ou Cham5 une nouvelle variété sélectionnée en Syrie), et une variété de blé tendre Saada sélectionnée au Maroc.

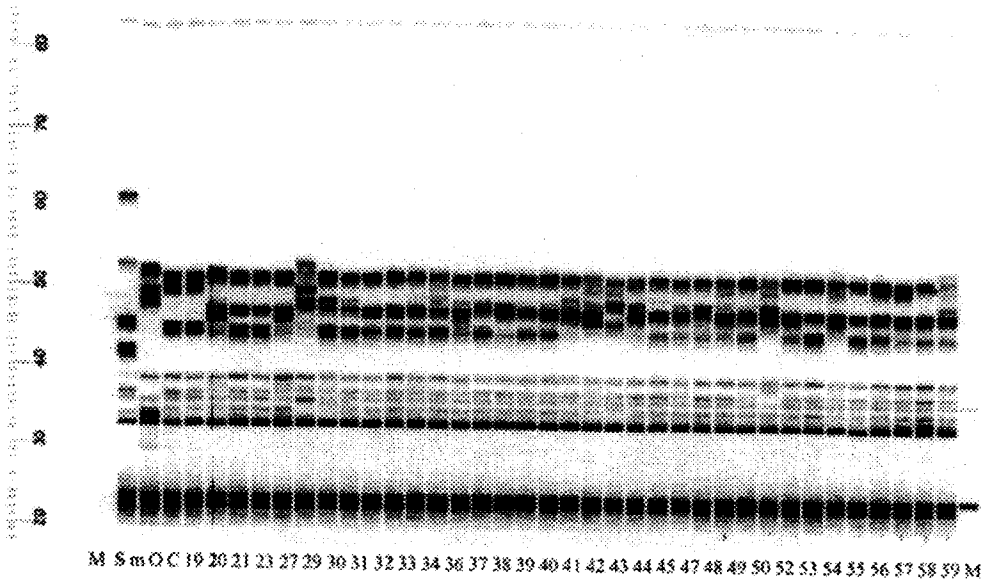


Figure 1. Analyse des populations locales de blé dur avec le microsatellite XWMG 133. : marqueur, S : Saada, M : Marzak, O : Cham1. Les numéros représentent les différentes populations de blé analysées

Au total, 133 amorces microsatellites de blé ont été testées (tableau 2) ; 35 se sont révélés polymorphes (26,3%) mais seulement 25 ont régénéré des marqueurs correspondant aux vrais microsatellites (18,8%). Treize amorces microsatellites Xwmg de blé ont été utilisées pour l'analyse de la variabilité génétique des populations locales de blé dur (tableau 3). Au total 67 Allèles ont été obtenus. Le nombre des marqueurs polymorphes obtenus par les amorces microsatellites varie entre 1 et 10 avec un maximum de 10 pour l'amorce du microsatellite Xgwm 443 (tableau3). Une moyenne de 5 allèles est notée.

Tableau 3 : Amorces de microsatellites de blé utilisées dans l'analyse de la variabilité génétique de toutes les populations locales de blé dur.

	Locus	Nombre d'allèles
1	Xgwm71.1.2-2A-3D	5
2	Xgwm88-6B	6
3	Xgwm99-1A	5
4	Xgwm219-6B	4
5	Xgwm130-7A	6
6	Xgwm131-1B	4
7	Xgwm132-6B	1
8	Xgwm133-6B	9
9	Xgwm165-4A-4B-4D	4
10	Xgwm192-5D	3
11	Xgwm443-5B	10
12	Xgwm526-2B	5
13	Xgwm611-7B	5

L'analyse des données a été réalisée pour tous les génotypes; la valeur moyenne de dissimilarité a été calculée en se basant sur la matrice des données obtenues par les amorces de microsatellites en utilisant la méthode SIMGEND du programme NTSYS (Tableau 4). Le dendrogramme a été construit en utilisant la méthode UPGM (fig. 2). Ce dendrogramme présente une discrimination de 26 populations et des quatre génotypes témoins (3 génotypes de blé dur et la variété de blé tendre). L'analyse de ce dendrogramme montre que la majorité des populations locales sont groupées dans le même groupe et constituent une méta-population. Par contre, les génotypes utilisés comme référence sont regroupés dans un autre groupe. Deux groupes majeurs peuvent être distingués à une distance génétique 0,062 cM. Le premier groupe comprend les 3 génotypes du blé dur utilisés comme référence et la population locale P23. Le second groupe comprend 2 sous-groupes qui se distinguent à une distance génétique de 0,042 M. Le premier sous-groupe comprend les populations P19, P43 et P22, alors que le deuxième sous-groupe comprend la majorité des populations restantes (P20, P21, P53, P53, P33, P55, P39, P49, P30, P31, P38, P32, P44, P58, P56, P57, P29, P47, P48, P34, P36, P37 et P27). La variété Saada de blé tendre se distingue de toutes les populations et des variétés de blé dur.

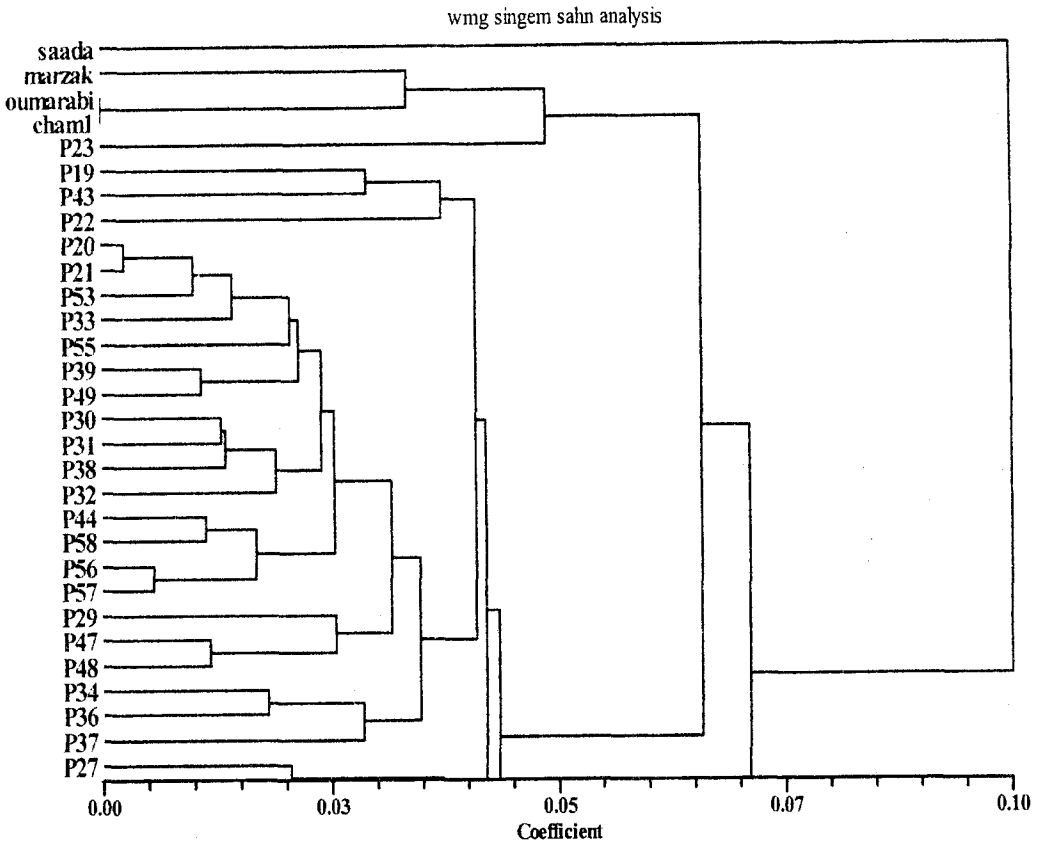


Figure 2. Dendrogramme de 32 populations locales de blé dur, 3 génotype sélectionnés et une variété de blé tendre utilisés comme référence, basé sur la distance génétique calculée à partir des données de microsatellites de blé tendre utilisés comme référence, basé sur la distance génétique calculée à partir des données de microsatellites de blé en utilisant la méthode UPGM du programme NTSYS

Discussion

Les céréales sont les premières plantes domestiquées dans le monde il y a plus de 10000 ans. De nombreux foyers de domestication ont été localisés dans les pays du croissant fertile, l'Iran, le Maroc, l'Éthiopie et l'Égypte (Manfred Heun et al., 1997). Ce processus de domestication dépend du matériel génétique présent dans les populations sauvages. Chez les populations sauvages de blé dur, une grande variabilité génétique existe. Cette variation génétique a permis la création de nombreuses populations adaptées à des environnements spécifiques (Ellis R.P., et al., 2000). Le Maroc a été classé comme centre de biodiversité et foyer de domestication de blé dur et de l'orge (Molino-Cano J.L., et al., 1987) grâce à l'existence de plusieurs sites écolo-

riques. Ces foyers de domestication sont responsables de la création de populations locales adaptées.

L'étude de la biodiversité par les microsatellites a concerné uniquement le site d'Errachidia. Une faible diversité génétique a été observée. La faible diversité observée chez le blé dur peut être due à une perte des allèles causée par l'environnement stressant dominant dans le site Errachidia (Ivandic V., et al., 2000 ; Nevo et al., 1997). En effet, des études similaires réalisées sur des populations d'orge en utilisant des microsatellites ont montrées que 40 % des allèles d'orge sauvage ont été perdues chez l'orge domestiquée, ceci montre l'impact de la sélection naturelle due à l'environnement. Ce processus de sélection peut s'intensifier par la sélection pratiquée par les agriculteurs.

Les populations locales de blé dur collectées dans la région Errachidia ont été regroupées en un seul groupe ou méta-population alors que les variétés améliorées Marzak, Cham I et Oum rabia, utilisées comme témoins ont été regroupées dans un autre groupe. Cette différence génétique observée entre les populations locales et les variétés témoins peut être due à une adaptation agro-écologique. Les populations locales de blé dur ont été collectées dans la région Errachidia alors que les variétés Cham I et Oum Rabia a été sélectionnée en Syrie. Les populations locales de blé dur présentent donc une adaptation spécifique à la zone d'Errachidia par contre les variétés témoins de blé dur présentent une large adaptation. Cham I, Oum Rabia sont très similaires car elles sont apparentées. En effet, Cham I a été utilisée comme parent pour la création d'Oum Rabia qui est aussi appelée Cham 5. Marzak et Cham I sont deux génotypes sélectionnés respectivement au Maroc et la Syrie ; Ce qui peut expliquer la variabilité génétique élevée entre les deux génotypes. La variété Saada qui est un blé tendre se distingue bien de tous les génotypes de blé dur.

La faible variabilité génétique observée entre les populations locales du blé dur peut être expliquée par une sélection naturelle exercée sur plusieurs années et une sélection pratiquée par les agriculteurs de la région. En effet, la sélection naturelle, due généralement aux aléas climatiques et aux stress de l'environnement, entraîne la création d'un germoplasme adapté et par conséquent une diminution de la variabilité génétique par disparition des génotypes non adaptés. Ce phénomène s'accroît chez les espèces autogames où la pollinisation croisée est faible par rapport aux espèces allogames où la pollinisation croisée est obligatoire. Chez le blé dur, la pollinisation croisée est de l'ordre de 0 à 0,06% (Enjalbert et al., 2000), ce qui a pour effet un apport faible des gènes extérieurs et par conséquent une chute de la variabilité génétique et la création de populations génétiquement proches ou méta-populations. Ce processus de sélection naturelle peut s'accroître par une sélection pratiquée par les agriculteurs de la région. En effet, le blé dur étant apprécié pour la qualité de ses produits (couscous, pain, galette, ...), sa sélection est généralement pratiquée sur la base de certains critères associés à la bonne qualité de ces produits comme la grosseur et la couleur de la graine et la couleur de la semoule qui sont pratiqués de la même manière par toute la communauté de la région.

La faible diversité génétique entre les populations locales de blé dur peut aussi être expliquée par un faible échange de semence entre les agriculteurs de la région d'Errachidia et les agriculteurs des autres régions. Elle peut aussi être due à une faible variation climatique de cette zone et une adaptation spécifique due à une sélection naturelle réalisée sur plusieurs années. Cette adaptation est due à la création d'un pool de gène qui constitue par la suite la richesse du germoplasme.

La création d'un germoplasme locale adapté a permis d'assurer la productivité dans cet environnement bien qu'il y ait eu des fluctuations climatiques lors des deux dernières décennies. La conservation et la protection de ce germoplasme est d'une grande importance pour l'amélioration des ressources génétiques et l'augmentation de la productivité ce qui a pour conséquence le développement de l'économie du pays (Anthony H.D., et al., 1999 ; David Hoisington et al., 1999). Pour bien encourager la conservation de ce germoplasme, une sélection basée sur des outils fiables doit être mise en place pour pouvoir suivre son évolution et alléger sa manipulation en éliminant les génotypes dupliqués ou moins importants. L'utilisation des critères morphologiques ainsi que protéique a montré ces limites dans l'étude de la variabilité génétique de plusieurs espèces, à l'inverse des techniques moléculaires en particulier la technique des microsatellites (Foster B.P., et al., 2000) qui ont permis d'évaluer les populations locales à l'abri de toutes les fluctuations environnantes et qui entraînent l'apparition des phénotypes ou pool de protéines différents. Les microsatellites utilisés sont des marqueurs codominants, stables et faciles à utiliser, mieux que les marqueurs RFLP. Se sont des marqueurs spécifiques et peuvent être utilisés comme marqueurs pour l'étiquetage moléculaire et comme marqueurs associés à des facteurs génétiques, écologiques (Youchum LI., et al., 2000) et édaphiques. L'utilisation de la technique microsatellites peut renforcer l'approche de la conservation *In-Situ* visant le maintien de la diversité génétique et l'empêchement de la perte du germoplasme (Enjalbert J., et al., 1998).

Références bibliographiques

- Anthony H.D. Brown, (1999) : The genetic structure of crop landraces and the challenge to conserve them In-Situ on farms: Genes in the field on farm conservation of crop diversity. IPGRI, IORC and Lewis publication.
- Brayan G.J., Collins A.J., Stephenson P., Orry A., Smith J.B, and Gale M.D., (1997) : Isolation and characterization of Microsatellite from hexaploid bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 94:557-563.
- Becker, J., and M. Heun, (1995): Barley microsatellites allele variation and mapping. *Plant Mol. Biol.* 27: 835-845.
- Chabane K., Baker J.H.A., Karp A. and Valkoun J., (1999) : Evaluation of genetic diversity in diploid wheat: *Triticum urartu* it using AFLP markers. *Alwamia* 100.
- David Hoington, Mireille Khairallah, Timothy Reeves, Jean-Marcel Ribaut, Bent Skovmand, Suketoshitaba, and Marilyn Warburton, (1999): Plant genetic resources : What can they contribute toward increased crop productivity. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, vol., 96, pp. 5937-5943.
- Dawson IK, Chalmers KJ, Waugh R, Powell W., (1993) : Detection and analysis of genetic variation in Hordeum spontaneum populations from Israel using RAPD markers. *Molecular Ecology* 2, 151-159.
- Ellis P.P, Forster BP, Robinson D, Handley LL, Gordon DC, Russell JR and Powell W, (2000) : Wild barley : A source of genes for crop improvement in the 21st century ? *Journal of experimental Botany*, vol. 51, No. 342.
- Enjalbert J., Goldrigger I., Paillard S., and Brabant P., (1998) : Molecular markers to study genetic drift and selection in wheat populations. *Journal of Experimental Botany*, vol. 50, No. 332, pp. 293-290.
- Enjalbert Jérôme and David Jacques L., (2000) : Inferring recent out-crossing Rates using multilocus Individual heterozygosity: Application to evolving wheat populations. *Genetics* 156: 1973-1982.
- Foster B.P., Ellis R.P., Thomas W.T.B., Newton A.C., Tuberosa R., This D., El-Ensein R.A., Bahri M.H., and Ben Salem M., (2000): The development and application of molecular markers for abiotic stress tolerance in barley. *Journal of experimental Botany*, vol. 51, No. 342, MP Special Issue pp. 19-27.

- Ivandic V., Hackett C.A., Zhang Z.J., Staub J.E., Nevo E., Thomas W.T.B. and Forster B.P., (2000): Phenotypic responses of wild barley to experimentally imposed water stress. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 51, No. 353, pp. 2021-2029.
- Liu Z.W., Biyashev R.M., and Sahai Maroof M.A., (1996): development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. *Theor. Appl. Genet.* 93:969-876.
- MacRoberts N, Finch RP, Sinclair W, Meikle A, Marshall G, Squire G, and McNicol J, (1999): Assessing the ecological significance of molecular diversity data in natural plant populations. *Journal of Experimental Botany*, vol 50, No 340, pp. 1635-1645.
- Manfred Heun, Ralf Schäfer-Pregl, Dieter Klawa, Renato Castagna, Monica Accerbi, Basilio Borghi, and Francesco Salamini, (1997): Site of Einkorn Wheat Domestication Identified by DNA Fingerprinting. *Science* vol. 278, pp. 1312-1314.
- Molino-Cano J.L., Fra MN., Salcedo G., Aragon-Cillo C., Roca F., Tagores DE., and Garcia-Olmedo, (1987): Morocco is a possible domestication center for barley: Biochemical and agro-morphological evidence. *Theo. Appl. Genet.* 73:531-536.
- Nevo E., Apelbaum-Elkaher I., Garty J., Beiles A., (1997): Natural selection causes microscale allozyme diversity in wild barley and a lichen at, 'Evolution Canyon' Mt. Carmel Israel. *Heridity* 78, 373-382.
- NTSYSpc Numerical taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.00 (1997)
- Pakniyat H, Powell W, Baird E, Handley LL, Robinson D, Scrimgeour CM, Nevo E, Hackett CA, Caligari PDS, Forster BP, (1997) : AFLP variation in wild barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch) with reference to salt tolerance and associated ecogeography. *Genome* 40, 332-341.
- Ramsay L., Macaulay M, Degli Ivanishevich S, Maclean K, Cardle L, Fuller J, Edwards KJ, Tuveson S, Morgante M, Massari A, Maestri E, Marmiroli N, Sjakste T, Ganai M, Powell W, and Waugh R, (2000) : A Simple Sequence Repeat-Based Linkage Map of Barley. *Genetics* 156 : 1997-2005.
- Röder Marion S., Jens Plaschke, Suzanne U. König, Andreas Börner, Mark E. Sorrells, Steven D Tanksky and Martin W Ganai (1995): Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genet.* 246:327-333.
- Röder Marion S., Victor Korzum, Katja Wendehake, Jens Plaschke, Marie-Hélène Tixier, Philippe Leroy and Martin W. Canal, (1998) A Microsatellite Map of wheat. *Genetics* 149 :2007-2023.
- Russell JR, Fuller JD, Macaulay M, Hartz BG, Jahoor A et al., (1997): direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, AARs and RAPDs. *Theor. Appl. Genet.* 95:714-722.
- Russell JR, J. Fuller, G. Young, B. Thomas, G. Taramino et al., (1997): discrimination between barley genotypes using microsatellite markers. *Genome* 40: 442-450.
- Saghai-Maroof MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW, (1984) : Ribosomal DAN spacer-length polymorphisms in barley : Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 81, 8014-8018.
- Saghai-Maroof MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW, (1994): Extraordinarily polymorphic Microsatellite DNA in Barley : species diversity, chromosomal locations and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 91, 5466-5470.
- Sneath P.H.A and R.R. Sokal, (1973): *Numerical taxonomy*. Freeman. San Francisco. 573pp.
- Struss D., and J. Plieske, (1998): The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. *Theor. Appl. Genet.* 97:308-315.
- Vos, P., R., Hogers, M. Bleek, M. Reijmans, T., Van de Lee et al., 1995 : AFLP : a new concept for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids res.* 23: 407-414.
- Youchum LI, Tzion Fahima, Abraham B. Korol, Junhua Peng, Marion S. Röder Valery Kizhner, Avigdor Beiles, and Eviatar Nevo, (2000): Microsatellite Diversity Correlated with Ecological-Edaphic and Genetic Factors in Three Microsites of wild Emmer wheat in North Israel. *Mol. Biol. Evol.* 17(6):851-862.