



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Écologie Végétale

قسم: بيولوجيا و علم البيئة النباتية.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Génomique Végétal

Intitulé :

Sélection assistée par marqueur liée aux contraintes biotiques et abiotiques chez le blé dur

Présenté et soutenu par : *Zouaoui Imen*

Le : 16/06/2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme. BOUSBA Ratiba (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : Mlle. MOUELLEF Adra (MAA- UFM Constantine).

Examineurs : Mme. KACEM Nadia Sandra (MAA-UFM Constantine).



Dédicaces

C'est grâce à ALLAH que j'ai eu le courage et la force d'accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce travail à celui que je ne pourrais jamais remercier assez,
à
Mon père « rahimaho Allah » khalaf ;

Ma mère, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et tous mes respects pour tout son affection, son soutien et sa compréhension ;

Mon mari Fouzi

A mes sœurs Fayza et Souhila
A toute ma famille

A mes chères Amies amies Sousor, Khawla, Ahlem qui m'ont toujours encouragé

A mes chers collègues de la promotion 2016

A tous ceux qui m'ont encouragé de près ou de loin.

IMANE

Remerciements

Je remercie avant tout ALLAH tout puissant, de m'avoir guidé toutes les années d'étude et m'avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

J'adresse l'expression de mes très vives gratitudee et respects à mon encadreur, Melle MOUELLEF ADRA pour son soutien, pour ses conseils utiles et sa gentillesse et pour ses appréciations sur ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent à Mme Bousba Ratiba Docteur à l'université des frères Mentouri, Constantine d'avoir accepté de présider mon jury

J'adresse de chaleureux remerciement Mme KACEM Nadia Sandra Maître assistante A à l'Université des frères Mentouri, Constantine, qui a accepté de fait l'honneur d'examiner mon travail.

Je remercie à tout particulièrement Professeur YKHLEF Nadia, Mme GHIOUA Karima, et à toute l'équipe enseignante.

Je tiens également à remercier tous ceux et celles qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail.

*Enfin, ce travail n'aurait pas été mené à terme sans les concessions et les encouragements de mes parents auxquels je dis tout simplement merci.
Un grand merci à toute ma famille.*

Résumé

Vue l'importance du blé dur dans l'alimentation humaine dans le monde entier, l'amélioration de cette céréale est un défi continu pour les sélectionneurs, en raison des contraintes biotique et abiotiques qui limite sa production.

Les techniques de marquage moléculaires permettent de rendre plus rapides les opérations classiques de sélection. Un certain nombre de techniques de marquage moléculaire ont été utilisées dans le domaine de la sélection végétale dans l'objectif est de connaître le génome grâce à la réalisation des cartes génétique par l'utilisation de différent type de marqueur moléculaire, De telles carte présentent une base pour identifier et localiser des gènes et des QTL (Quantitatif Trait Loci) d'intérêt agronomique, dans le but d'améliorer les variétés par le biais de la sélection assistés par marqueur (SAM).

Cette étude montre que la sélection assistée par marqueurs (SSR, RFLP, AFLP, RAPD) est très exploités dans le but d'amélioration des blés en condition de contraintes biotique et abiotique. Pour le blé dur, cette approche est à son début, le séquençage du génome n'est pas encore complet, vue sa grande taille.

Mots clés : Blé dur , stress biotique et abiotique, SAM, marqueur moléculaire, la tolérance, résistance.

Summary:

Given the importance of durum wheat in the human diet in the whole world, improving this cereal is a continual challenge for breeders, due to biotic and abiotic constraints that limit production.

The molecular marker techniques can make faster the conventional operations of selection. A number of molecular marker techniques were used in the field of plant breeding in the objective is to know the genome through the realization of genetic cards by using different type of molecular marker, Such card has a base to identify and locate genes and QTL (Quantitative Trait Loci) of agronomic interest, in order to improve varieties through marker assisted selection (MAS).

This study shows that the marker assisted selection (SSR, RFLP, AFLP, RAPD) is operated for the purpose of improvement of wheat in conditions of biotic and abiotic stresses. For durum wheat, this approach is at its beginning, genome sequencing is not yet complete, for its large size.

Keywords:

Durum wheat, biotic and abiotic stress, SAM, molecular marker, tolerance

ملخص:

نظرا لأهمية القمح الصلب في النظام الغذائي للإنسان في العالم كله، وتحسين هذه الحبوب هو التحدي المستمر للمربي، بسبب الإجهاد الحيوي و الاحيوي المفروض و الذي يحد من الإنتاج.

يمكن استعمال تقنيات الراسمات الجزيئية لتسريع في عمليات الإنتخاب التقليدية و جعلها أكثر دقة. وهناك عدد من التقنيات الجزيئية تم استخدامها في مجال تربية النباتات بهدف معرفة الجينوم من خلال عمل الخرائط الجينية وذلك باستخدام نوع مختلف من الراسمات الجزيئية ' هذه البطاقة لديها قاعدة لتعريف وتحديد الجينات الكمي و سمة و المكان (QTL) من الفائدة الزراعية، من أجل تحسين الأصناف من خلال علامة ساعد اختيار (SAM).

وتبين هذه الدراسة أن علامة مساعد اختيار (RAPD ، AFLP ، RFLP ، SSR) يستعمل لغرض تحسين القمح في ظروف الضغوط الحيوية و غير الحيوية. بالنسبة للقمح القاسي، وهذا المنهج هو في بدايته، تسلسل الجينوم لم يكتمل بعد، لحجمه الكبير.

كلمات المفتاح:

القمح القاسي، والإجهاد الحيوية و غير الحيوية، SAM، الواسمات الجزيئية والتسامح.

LISTE DES FIGURES

Figure. 01 : Morphologie des graminées (exemple du blé).....	04
Figure. 02 : Carte du centre d'origine et la diffusion de la culture de <i>Triticum turgidum</i>	05
Figure.03 : Phylogénie du blé dur	06
Figure. 04 : Evolution de la production des céréales en Algérie 2008-2013.....	08
Figure .05 : La tolérance des plantes aux stress.....	13
Figure 06 : polymorphisme de longueur des fragments d'amplification (RFLP).....	21
Figure 07 : Polymorphisme de nombre d'unités de répétition (SSR).....	22
Figure 08 : Polymorphisme de longueur des fragments d'amplification (AFLP).....	24
Figure 09 : ADN Polymorphe au hasard (RAPD)	25

LISTE DES TABLEAUX

Tableau. 01 : Classification du blé dur	03
Tableau 02 : Les récoltes de blé dans le monde par grandes zones et principaux pays producteurs (blé tendre et blé dur.....)	07
Tableau .03 : comparaison entre différents types des marqueurs RFLP, AFLP et SSR	28
Tableau.04 :Les amorces utilisées pour analyse SSR dans l'analyse de la tolérance du blé dur à la sécheresse	35
Tableau 05 . Les marqueurs microsatellites et les amorces utilisées correspondantes dans cette étude	36
Tableau.06 : Description des marqueurs SSR utilisés dans l'étude de la tolérance au stress hydrique chez le blé dur	37
Tableau 07 : Exemples de gènes majeurs de résistance aux maladies des rouille cartogra.....	38

Liste des abréviations

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphisme

°C :degré Celsius

EST :Expressed Sequence Repeat amplification

ISSR :Inter-Simple Sequences Repeat amplification

QTL : Quantitative trait locus

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphisme

SCAR :Sequence Characterized Amplified Region

SNP :Single Nucleotide Polymorphisme

SSCP : Single Stranded Conformation Polymorphisme

SSR : Simple Sequence Repeat

SDS : Single Seed Descent

STS :Sequence Tagged Site

SAM :Sélection Assistée par Marqueur moléculaire

Sommaire

Introduction.....	01
CHAPITRE I : Généralité sur le blé dur	
1-Botanique et description de la plante de blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf.).....	03
2-Origine géographique et génétique de blé dur.....	05
2-1-Origine géographique et diffusion de la culture du blé.....	05
2-2-Origine génétique du blé.....	05
3-Importance et la production du blé dur.....	06
3-1-Dans le monde.....	07
3-2-En Algérie.....	08
CHAPITRE II : Les stress biotiques et abiotiques	
1- Notion du stress.....	10
2- Différents types de stress.....	10
3- Les principales contraintes liés à la production du blé en Algérie.....	10
3-1- Contrainte abiotique.....	11
3-2- Contrainte biotique.....	11
3-3- La Réponse de plant aux stress biotique et abiotique.....	12
3-4- La résistance et la tolérance aux stress biotique et abiotique.....	12
CHAPITRE III : Utilisation de marqueurs moléculaires en amélioration de blé dur	
1-La sélection végétale.....	14
1-1- Les étapes de la sélection.....	14
1-2- Les objectifs.....	14
1-3-Amélioration génétique du blé.....	15
1-3-1- Adaptation au milieu abiotique.....	15
1-3-2- Adaptation au milieu biotique.....	15
1-3-3- Le choix de programme de la sélection.....	16
1-4-Méthodes de sélection.....	16
1-4-1- Méthodes de sélection traditionnelle.....	17
1-4-2- Méthodes de sélection moderne.....	17
2-Utilisation des marqueurs pour l'amélioration de blé dur.....	17
2-1-Définition de marqueur moléculaire..... ;;	17
2-2-Présentation d'un bon marqueur..... ;;	18
2-3-Les principaux types de marqueurs génétiques utilisés.....	18
2-3-1- Marqueurs morphologiques.....	19
2-3-2-Marqueurs biochimiques.....	19
2-3-3-Produit et métabolisme secondaires.....	19
2-3-4- Isoenzymes.....	19
2-3-4-Protéines totales.....	19
3-Les différents types de marqueurs moléculaires.....	19
3-1-Marqueur RFLP.....	20

3-2-Marqueur de type PCR.....	21
3-2-1-Lesmicrosatellitesou SSRs.....	21
3-2-2- La technique AFLP.....	23
3-2-3- La technique RAPD.....	24
3-2-4-ISSR.....	25
3-2-5-SCAR	26
3-2-6-SNP.....	26
3-2-7-SSCP.....	26
3-2-8-STS.....	27
4-La sélection assistée par marqueur moléculaire (SAM).....	29
4-1- Utilisation de marqueur moléculaire à l'amélioration de blé dur	30
4-1-1- Phylogénie.....	30
4-1-1-1-La phonétique	30
4-1-1-2-La cladistique	30
4-1-2- Analyse de la diversité génétique.....	31
4-1-2-1- Phytogéographie	31
4-1-2-2- Structure et différenciation	31
4-1-2-3- Flux de gènes, recherche de parenté et introgression.....	31
4-1-3- Identification	31
4-1-4 Notion de QTL.....	32
4-1-5- Cartographie génétique et applications	32
4-1-5-1- Carte référence, portabilité dans l'espèce	32
4-1-5-2- Recherche de QTL, gènes candidats	32
4-1-5-3- Saturation rapide, marquage de gènes majeurs	33
4-1-5-4- Cartographie comparée entre espèces.....	33
4-2- Utilité des marqueurs moléculaires dans la sélection de blé.....	33
5- Application de SAM dans l'amélioration du blé au stress abiotique.....	34
5-1- Marqueurs types microsatellites (SSR).....	34
5-2- Marqueurs types RAPD	39
Conclusion.....	40
Références bibliographiques	42

INTRODUCTION

Introduction

La culture des céréales est considérée comme l'une des premières grandes découvertes ayant exercé une influence majeure sur l'avenir des sociétés humaine. Encore aujourd'hui, les céréales constituent la base de notre alimentation. Elle assurent la majeure partie des ressources nutritive humaine et animale de la planète (JacusGuéguen et *al.*, 2009), selon la FAO, (2014) la production des céréales dans le marché mondiale proche à 2518,8 Mt.

Parmi ces céréales, le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nutritive pour la population humaine, il assure 15% de ses besoins énergétique (Bajji, 1999 in Mouellef, 2010). Le blé est une céréale importante en termes de consommation intérieure dans de nombreux pays du monde. Il est utilisé dans certaines industries primaire, tels que les pains, les pâtes alimentaires, le couscous et les pâtisseries. Cependant la production assurée par cette céréale est confrontée à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques.

Dans les zones arides et semi-arides du sud de la Méditerranée, la faiblesse des précipitations et leurs distribution aléatoire se traduisent souvent par une situation des contraintes biotique et abiotique qui sont présentes pratiquement tout au long du parcours du rendement du blé dur (Abeledo et *al.*, 2008). Ce qui explique le faible rendement de la culture de cette céréale en Algérie. L'Algérie est d'ailleurs l'un des plus gros importateurs de blé dans le monde, 4 millions de tonalités, pour couvrir la demande de la démographie croissante (32 millions de personnes). En effet la consommation annuelle des céréales est d'approximativement de 220 kilogrammes par habitant (Madr, 2011).

À cause de ce déficit en production de blé qui ne couvre pas les besoins des populations, les chercheurs ont mis au point des programmes

d'amélioration visant en premier lieu, la sélection des génotypes bien adaptés aux conditions climatiques.

L'amélioration génétique du blé dur reste basée sur la recherche d'une meilleure variété tolérante et résistante aux contraintes abiotiques et biotiques (Fallah et *al.*, 2002). Le sélectionneur doit choisir une stratégie d'action qui peut maximiser ses chances de création d'une bonne variété en utilisant, les ressources génétiques, les méthodes de sélection classique, les nouvelles techniques de biologie moléculaire en intégrant au mieux les outils de la biotechnologie tels les marqueurs moléculaire en sélection assistée par marqueurs.

L'amélioration des connaissances au sujet des loci et gène concernés par la tolérance aux contraintes biotiques et abiotiques de faire évoluer la sélection du phénotype vers le génotype. C'est le principe de la sélection qui sera assistée par des marqueurs moléculaire (SAM), elle aura le grand avantage de réduire l'effet masquant de l'environnement sur l'expression génique comme elle améliore par la même l'efficacité de la sélection pratique (Cattivalli et *al.*, 2002, Bousba, 2012, Bousba et *al.*, 2013).

L'objectif de notre travail est de faire une synthèse bibliographique sur l'utilisation de la sélection assisté par marqueurs moléculaires (SAM) pour l'amélioration de la production de blé en présence des contraintes biotiques et abiotiques.

Le manuscrit est présenté en trois chapitres dont le premier chapitre présent généralité, origine et importance de blé ; Le deuxième chapitre montré les contraintes biotique et abiotique et le dernier chapitre dévoile l'utilisation des marqueurs dans la sélection de blé en identifiant les différents marqueurs moléculaires utilisés dans la sélection assisté par marqueur.

Le manuscrit est finalisé, par une conclusion et des perspectives, suivies de la liste de références bibliographiques.

CHAPITRE I :

Généralité sur le blé dur

1- Botanique et description de la plante de blé dur (*Triticum durum* Desf.)

Le blé est une plante herbacée annuelle, monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des *Poacées*. Les deux espèces qui dominent aujourd'hui la production sont : le blé tendre et le blé dur.

Le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) est une plante annuelle de la classe de Monocotylédones de la famille des *Poacées*, de la tribu des *Triticées* et du genre *Triticum* (tableau.01). En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre. Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000).

Tableau. 01 : Classification du blé dur (Debiton, 2010) :

Règne	Taxonomie
Embranchement	Spermaphytes
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf

Il s'agit d'une graminée annuelle de hauteur moyenne dont la structure morphologique générale est la suivante (**Figure.01**) :

1-1-La tige : est généralement cylindrique, dressée creuse est cloisonnée par des nœuds pleins et renflés ; ce genre de tige a reçu le nom de chaume (Auriauet *al.*, 1992). Vers la base, chaque noeud au contact du sol porte un faisceau de racines adventives et souvent une

tige verticale non ramifiée. C'est ainsi qu'un seul grain peut donner naissance à plusieurs tiges. Le phénomène favorisé par les roulages de printemps a reçu le nom de tallage. Les feuilles qui prennent naissance au niveau des noeuds sont disposées en deux rangées opposées autour de la tige. C'est une plante annuelle, semée à l'automne (blé d'hiver) ou au printemps (blé de printemps) (Clerget, 2011).

1-2- L'épi : Est composé de petits épis ou épillets. Chaque épillet est enveloppé de deux bractées protectrices appelées glumes. Il est composé de trois, quatre, cinq fleurs avec une fleur terminale stérile (Bozzini, 1988). Chaque fleur est elle-même entourée de deux petites bractées protectrices ou glumelles.

1-3-La fleur : est verdâtre et dépourvue de corolle ; il n'y a pas de pétales colorés. Le calice est formé de deux minuscules écailles ou glumellules jouant le rôle de sépales (Bozzini, 1988).

1-4-Le grain : Le grain de blé est un fruit sec et indéhiscent, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments (Desclaux, 2005).

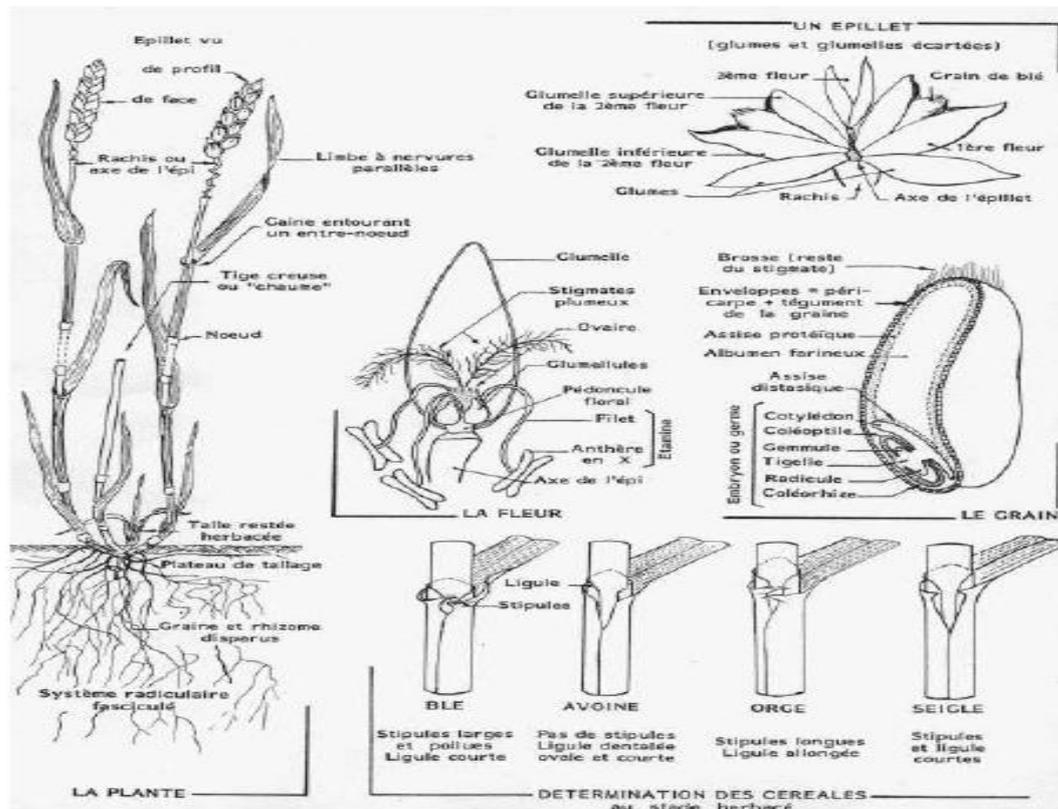


Figure. 01 : Morphologie des graminées (exemple du blé) (Soltner, 1998).

2-Origin géographique et génétique de blé dur

2-1-Origin géographique et diffusion de la culture du blé

La découverte du blé remonte à 15000 ans avant Jésus-Christ dans la région du croissant fertile, vaste territoire comprenant, la vallée du Jourdain et des zones adjacentes de Palestine, de la Jordanie, de l'Iraq, et la bordure Ouest de l'Iran (figure.03)(Feldman et Sears, 1981 in Mouellef, 2010).

La base de divers éléments botaniques, génétiques et archéologiques, que le creuset de notre céréaliculture se situerait en une zone plus limitée du dit Croissant fertile, localisée autour de l'amont du Tigre et de l'Euphrate, dans des territoires actuels de la Syrie et de la Turquie. On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (Feldman, 2001; Mouellef, 2010).

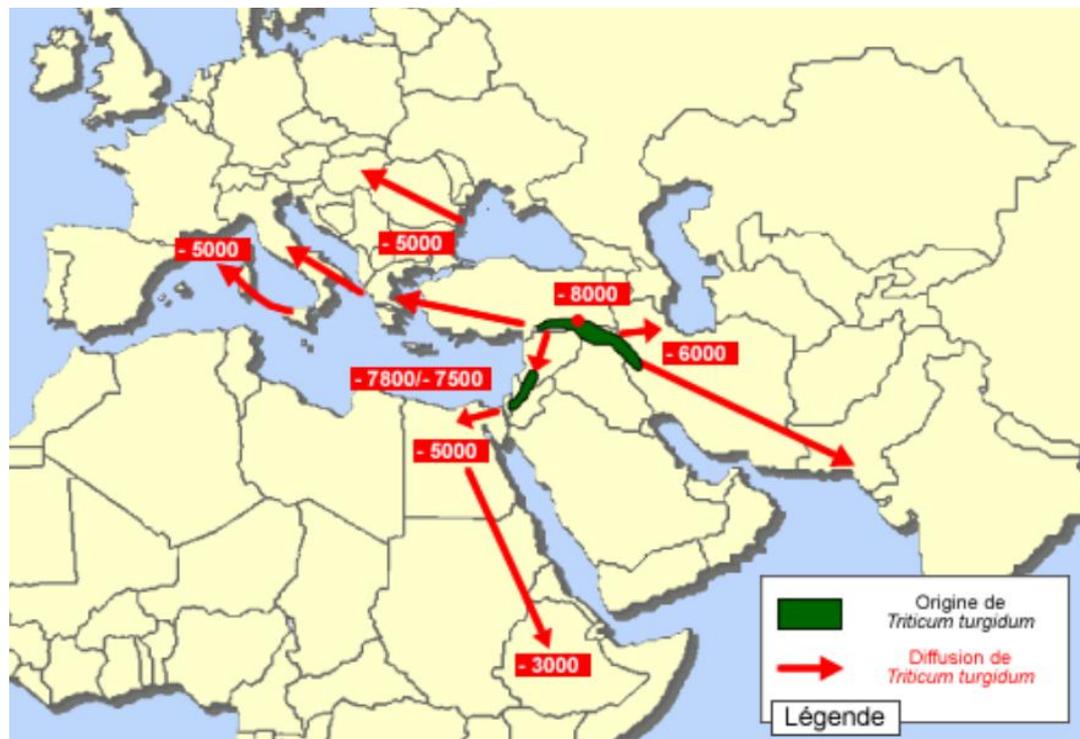


Figure. 02: Carte du centre d'origine et la diffusion de la culture de *Triticum turgidum* (Bonjean, 2001).

2-2-Origin génétique du blé

L'espèce de cette époque lointaine, le *Triticum monococcum* L, est un des ancêtres des blés actuels. Le genre *Triticum*, se subdivise, en fonction du niveau de ploïdie, en trois groupes: diploïde, tétraploïde et hexaploïde, avec respectivement 14, 28 et 42 chromosomes (Sakamura, 1918; Harlan, 1971).

Ces trois groupes sont représentés, respectivement, par *Triticum monococcum* L., *Triticum turgidum* ssp *durum* L. et *Triticum aestivum* L. Le génome de ces espèces est organisé en une série basique de 7 chromosomes ($x = 7$ chromosomes), qui, au cours de l'évolution, a gardé une certaine homologie (synténie), malgré la spéciation chez la famille des *Poaceae* (Ahnet *al.* 1993).

Les espèces de blé tirent leur origine génétique de croisements naturels entre *Triticum monococcum*, *Triticum urartu* et des espèces sauvages apparentées appartenant à *Aegilops* (*Aegilops speltaoides*) (Figure.04). *Triticum monococcum* et *Triticum urartu* sont les premières formes des céréales cultivées, elles sont de constitution génomique $2n = 14$. Ainsi le génome A vient de *Triticum urartu*, alors que le génome B vient de l'*Aegilops speltaoides*. Ces deux génomes, ensemble, forment la constitution génomique du blé dur (*Triticum durum* Desf.) (Feldman et Sears, 1981).

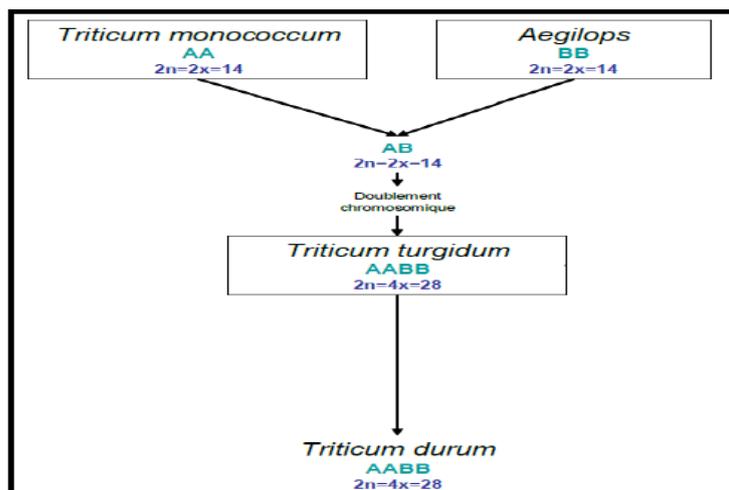


Figure.03: Phylogénie du blé dur (Debiton, 2010).

3- Importance et la production du blé dur

Les grains de blé dur donnent de la semoule pendant la mouture, cette semoule est valorisée dans la fabrication des pâtes alimentaires (Jeantet et *al.*, 2006). De plus en Afrique du Nord, on utilise aussi cette céréale pour la production de couscous, plat traditionnel et des pains traditionnels (la galette) (Feillet, 2000). Il est utilisé pour préparer les chappattis dans le sous-continent indien et tortillas en Amérique Central et du Sud (Pena et Pfeiffer,

2005). La paille est utilisée comme litière et comme aliment pour les animaux (Bahlouli *et al.*, 2005)

3-1- Dans le monde

Le blé représente 30% de la production mondiale de céréales et 20% de la ration alimentaire consommée par la population mondiale. La consommation totale est stable et se maintient à 688 millions de tonnes en 2014 du fait d'une contraction de 2 % que connaît l'utilisation aux fins de l'alimentation animale et 1,4 % de l'utilisation aux fins de l'alimentation humaine (Anonyme A, 2014). Les stocks de blé devraient atteindre 180 millions de tonnes en 2014, soit une hausse de 14 % (22 millions de tonnes) par rapport à 2013 (Anonyme A, 2014).

Tableau 02 : Les récoltes de blé dans le monde par grandes zones et principaux pays producteurs (blé tendre et blé dur)(Anonyme B, 2014) :

	2012/2013 (Mt)	2013/2014(Mt)	2014/2015(Mt)
Europe	136,0	146,4	150,8
-dont U.E.	131,6	142,2	146,8
Ex-URSS	77,2	102,7	100,3
-dont Kazakhstan	9,8	13,9	15,0
-dont Russie	37,7	52,1	51,0
dont Ukraine	15,8	22,3	20,0
Nord et Centre Amérique	92,2	98,9	87,7
-dont Canada	27,2	37,5	29,0
-dont Etats-Unis	61,8	58,0	55,0
Sud Amérique	17,1	19,9	23,9
-dont Argentine	8,2	10,0	12,9
-dont Brésil	4,4	5,5	6,6
Proche Orient	38,6	41,2	35,6
-dont Iran	14,0	14,5	13,3
-dont Turquie	17,5	18,0	16,0
Extrême Orient	247,5	247,6	250,3
-dont Chine	120,6	121,9	122,0
-dont Inde	94,9	93,5	95,9
Afrique	23,4	26,1	25,0
-dont Egypte	8,5	8,8	9,2
-dont Maroc	3,9	7,0	5,8
Océanie	22,9	27,3	25,8
-dont Australie	22,5	27,0	25,5
TOTAL MONDE	654,9	710,2	699,3

--	--	--	--

3-2- En Algérie

Le blé est la première céréale cultivée dans le pays. Elle occupe annuellement plus d'un millions d'hectares.

La production des céréales en Algérie présente une caractéristique fondamentale depuis l'indépendance à travers l'extrême variabilité du volume des récoltes. Cette particularité témoigne d'une maîtrise insuffisante de cette culture et de l'indice des aléas climatiques. Cette production est conduite en extensif et à caractère essentiellement pluvial (Figure. 04). Il est donc, facile de prédire qu'elle ne pourrait satisfaire les demandes d'une population qui, dépassant actuellement 36 millions d'habitants, est potentiellement et traditionnellement consommatrice de blé.

Malgré une amélioration substantielle des volumes de blés collectés, les superficies dédiées à la culture des blés ont significativement baissé, alors que les rendements et la production en blé ont évolué de manière erratique. Les raisons de cette stagnation sont nombreuses : une pluviosité capricieuse, la chute de grêle, les inondations et l'apparition de certaines maladies, notamment la rouille que les agriculteurs ne savent pas traiter. La conséquence en a été un accroissement des importations et une baisse de la production des blés locaux collectés dans l'approvisionnement du marché interne.

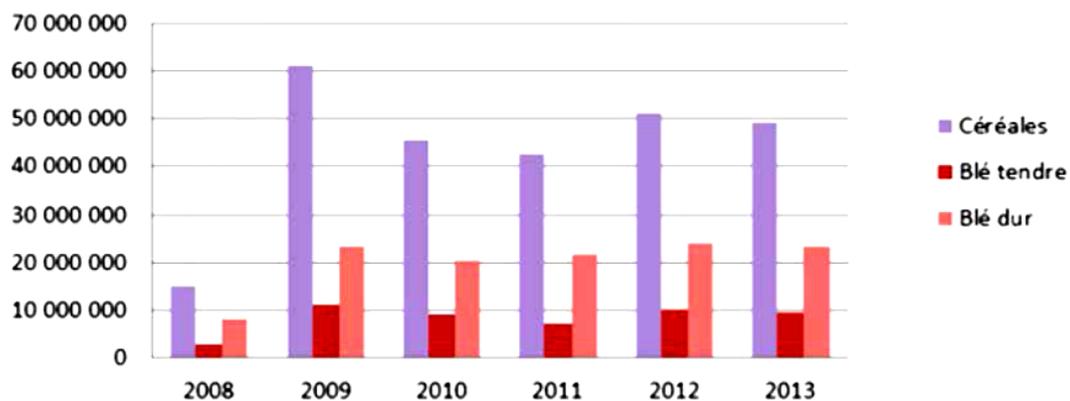


Figure. 04 : Evolution de la production des céréales en Algérie 2008-2013.

La production nationale en blé dur est encore faible, elle ne couvre que 20 à 25 % des besoins du pays, le reste étant importé (Anonyme, 2008). La cause principale de la faiblesse de la production du blé dur en Algérie est le faible niveau de productivité (rendement) obtenu, soit 9 à 11 quintaux/hectare (Chellali, 2007).

Cette faible productivité est elle-même due à des contraintes abiotiques (pluviométrie surtout, stress salin, thermique...), biotiques (adventices, surtout) et humaines (itinéraires techniques appliqués etc...) (Chellali, 2007).

CHAPITRE II :

Les stress biotiques et abiotiques

1- Notion du stress

Tous les organismes subissent des modifications/perturbations de leurs conditions de vie, liées par exemple à des changements de leur environnement. Ces stress biotiques et abiotiques peuvent induire un dysfonctionnement cellulaire allant jusqu'à la mort des cellules.

Le stress chez les plantes apparaît avec des significations différentes en biologie, qui convergent principalement en attribuant le stress à n'importe quel facteur environnemental défavorable pour une plante (Levitt, 1980).

Un stress se définit aussi par son intensité, sa durée, le nombre d'expositions ainsi que par son association à d'autres stress (Bray et *al.*, 2000) et son effet dépend de son degré, le stade de développement de la plante, le génotype et son interaction avec l'environnement (Yokota et *al.*, 2006).

Selon Jones et *al.*, (1989) un stress désigne à la fois l'action d'un agent agresseur et les réactions qu'il entraîne dans l'organisme agressé, une force qui tend à inhiber les

systèmes normaux. D'autre part, les stress environnementaux nés de la fluctuation des facteurs abiotiques (sécheresse, salinité et température) et biotiques affectent les conditions de croissance, le développement et le rendement des plantes (Fig.04) (Madhava Rao et *al.*, 2006)

Les facteurs de stress agissent rarement seuls ou de façon constante tout au long du développement des végétaux, ce qui complique l'étude physiologique des stress chez ces derniers. La complexité de la réponse biologique au stress rend souvent difficile à discerner la cause et les effets du stress (Jones et *al.*, 1989).

2- Différents types de stress

- Stress physiques : déshydratation (dessiccation), température élevée ou gel, choc osmotique, variation de pH, conditions de lumière, rayonnement UV, radioactivité, traitements mécaniques
- Stress chimiques : salinité, métaux lourds, effet de l'ozone, déséquilibre de la balance de minéraux nutritifs

3- Les principales contraintes lie à la production du blé en Algérie

La faiblesse de la production céréalière et particulièrement celles des blés et des orges est due à plusieurs facteurs dont les plus importants sont considérés être : les pratiques culturales, les aléas climatiques et les variétés anciennes à faible rendement (Sayoud et Benbelkacem, 1996). Un autre élément parmi les plus contraignant de la production céréalière et non des moindres est le parasitisme du essentiellement aux maladies et insectes. Les maladies fongiques du blé causent des pertes de rendement pouvant atteindre 30% en cas de développement épidermique (Eyal et *al.*, 1987)

3-1- Contrainte abiotique

- ✓ Les principales contraintes abiotiques des zones céréalières sont :
- ✓ Une succession de périodes sèches de durées et de fréquences variables ;
- ✓ Des gelées hivernales et printanières ;
- ✓ Des températures élevées et siroccos ;
- ✓ Des sols salins ;

Ces contraintes impliquent la mise au point de variétés suffisamment tardives pour éviter les effets de gels tardifs et assez précoces pour échapper aux effets des hautes températures.

En effet le programme de sélection et d'amélioration vise essentiellement à développer des variétés précoces avec la perspective d'éviter les gelées tardives et en conséquence d'éviter également les sécheresses terminales.

3-2- Contrainte biotique

Comme toutes les autres plantes cultivées par l'homme, le blé à paille peut être attaqué par un grand nombre des organismes parasites macroscopiques et microscopiques. Les maladies se manifestent successivement au cours de développement de la plante. Il existe plusieurs contraintes pour la céréaliculture des stress biotiques et abiotiques (Benbelkacem, 2000).

La forte présence de bios agresseurs peu affecté jusqu'à 30% des rendements. Et s'aggravent en raison des changements climatiques que connaît notre planète. Dépendant des conditions d'humidité, de température ainsi que de la présence des pathogènes, plusieurs maladies cryptogamiques attaquent les blés et provoquent ainsi différents dégâts (Benbelkacem, 2000).

Dix années d'enquêtes et de recherche sur les maladies des céréales ont résulté en un capital de données fiables. C'est ainsi que sur les blés, les maladies les plus importants ont été : la tache helminthosprienne (*Pyrenophoratrinci-repentis*). La septoriose (*Mycosphaerellagraminicola*). La rouille jaune (*Puccinia striiformis*), la rouille brune (*Puccinarecondita*) et le virus de la jaunisse nanisante de l'orge (VJNO). (Sayoud, 2004)

3-3- La Réponse de plant aux stress biotique et abiotique

Pour lutter contre une contrainte, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu (Esquive, évitement et tolérance) (Turner, 1986).

Le mécanisme de l'esquive se traduit par une résistance apparente qui résulte d'un décalage entre la période du développement de la présence de l'agent du stress.

La tolérance est la capacité des plantes à supporter l'invasion des agents de stress sans conséquences importantes. Les plantes tolérantes sont capables de se

développer malgré la présence de contrainte. Cette tolérance peut résulter d'effets de l'environnement.

L'hypersensibilité se traduit par une mort brutale des cellules de la plante attaquée là où le pathogène a essayé de pénétrer dans le tissu. Une zone nécrotique localisée se forme et arrête le développement de la maladie.

La résistance est le mécanisme par lequel les plantes peuvent s'opposer à (ou surmonter) l'attaque des agents pathogènes. Elle est hautement variable et peut aller de la sensibilité totale à l'immunité (résistance complète). Une plante peut être plus ou moins sensible ou plus ou moins résistante mais jamais plus moins immune (elle est soit immune soit non immune). L'origine de la résistance peut être d'ordre anatomique (épaisseur des téguments, fermeture des stomates, etc...), ou peut résulter de la production par l'hôte de substances inhibitrices empêchant le développement de la maladie.

3-4- La résistance et la tolérance aux stress biotique et abiotique

La résistance des plantes aux stress biotiques et abiotiques est un caractère multigénique qui dépend de la combinaison d'un grand ensemble de gènes, de protéines et de voies métaboliques qui agissent de concert. Les changements (tant qualitatifs que quantitatifs) au niveau des protéines en réponse aux stress, permettent une modulation des voies métaboliques et donc une meilleure protection de l'organisme (Figur.06).

Ces éléments démontrent que les plantes ont développé des mécanismes cellulaires de réponse aux stress particulièrement flexibles qui leur permettent de s'adapter efficacement à ces stress. La tolérance des plantes aux stress peut être aussi acquise par une combinaison de diverses approches expérimentales :

- l'ingénierie génétique
- la sélection / reproduction
- l'utilisation de marqueurs génétiques
- le repérage de loci de caractères quantitatifs (QTL - "quantitative trait loci")
- accumulation de protéines ; HSP : heatschockproteins

LEA : lateembryogenesisabundant

Figure .06 : La tolérance des plantes aux stress(Vinocur& Altman, 2005)

ROS : reactiveoxygenspecies (espèces réactives de l'oxygène)

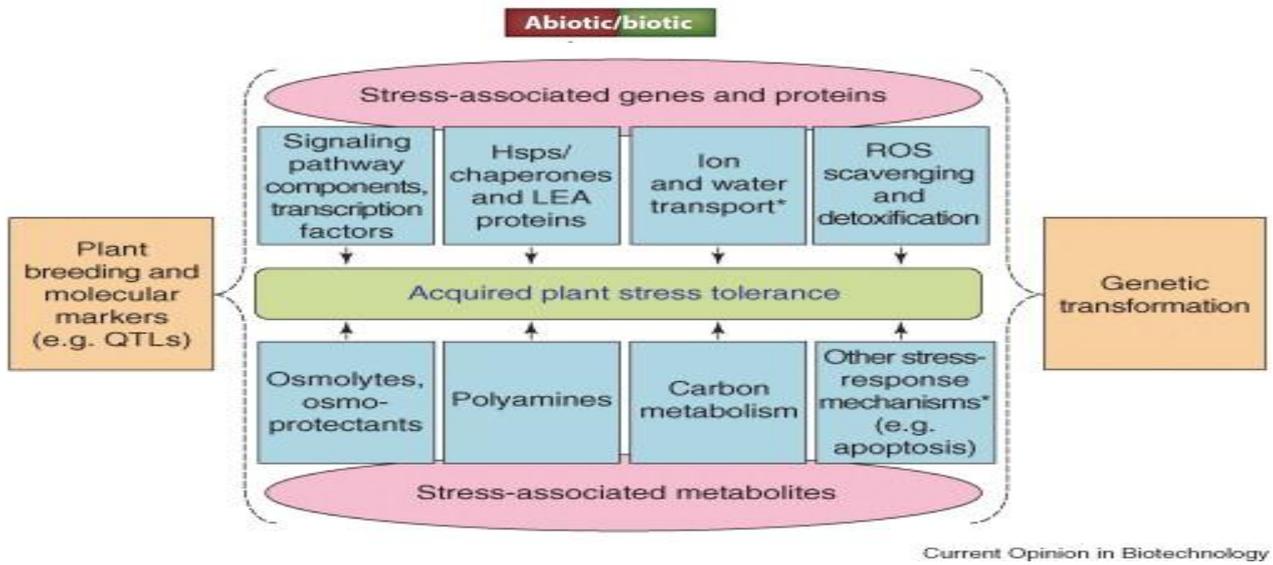


Figure .06 : La tolérance des plantes aux stress(Vinocur& Altman, 2005)

CHAPITRE III :

Utilisation de marqueurs moléculaires en amélioration de blé dur .

1-La sélection végétale

La culture sélective des plantes, ou sélection végétale ou amélioration des plantes, est le processus par lequel l'homme modifie une espèce végétale. Cette sélection peut avoir différents des plantes cultivées (céréales, légumes, plantes d'ornement) ou l'élaboration de variétés décoratives. La sélection a joué un rôle déterminant dans l'augmentation de la production agricole au cours du siècle dernier, tant dans les pays développés que dans pays en développement. Des variétés de riz et de blé à haut rendement étaient au cœur de la révolution verte qui a donné une augmentation spectaculaire de la production vivrière en Asie dans les années 70. Aux États-Unis.

Plus de la moitié des gains de rendement de toutes les principales cultures de plein champ au cours des 70 dernières années sont attribués aux améliorations génétiques pour le maïs, le soja et le blé. Le taux annuel d'accroissement grâce à la sélection est évalué entre 1 et 3 %.

La sélection des plantes est utilisée afin de modifier les espèces végétales et les adapter aux préférences ou aux besoins des humains, le croisement des plantes est apparu comme le moyen de modifier les fréquences des populations de gène qui influencent les caractéristiques importantes des plantes.

1-3- Les étapes de la sélection

- a-Recensement du matériel végétal
- b-Choix du matériel du départ
- c-Hybridation ou croisement des lignés.
- d-Fixation de lignés (caractère a désiré).
- E-évaluation de la nouvelle variété.
- f-Inscription en catalogue des meilleures variétés.

1-4- Les objectifs

La sélection peut avoir des différents buts dans la réalisation des espèces végétales et l'adaptation à un usage agricole ou l'élaboration de variétés décoratives. Les critères visés sont divers et dépendent de l'utilisation finale de l'espèce ciblée; surtout du point de vue agronomique. On cite :

a/La création variétale génotypique (meilleurs génotypes des parents) et phénotypique (morphologique, couleur), et donc l'augmentation de la biodiversité.

b/L'amélioration de la production quantitative et qualitative de la plant, par augmenter leur rendement, et leur vigueur, et élargir leurs valeurs nutritives, gustatives, esthétique, décoratives).

c/Favoriser la croissance, la précocité, la fécondité et la fertilité des plantes.

d/L'augmentation de la résistance des plantes aux maladies, aux parasites, aux herbicides et aux ravageurs.

e/L'adaptation des plantes aux changements pédoclimatiques et aux milieux défavorables (salin hydrique, déficit hydrique, froid, chaleur, sécheresse.....).

f/Stabiliser la sécurité alimentaire.

1-3 Amélioration génétique du blé

L'objectif des sélectionneurs est de rassembler dans une plante d'une espèce donnée, le maximum des caractères favorables (Goacolou et perdrizet, 1988) qu'on pourra nommer à la fin une plante élite. L'amélioration des plantes vis à créer des variétés qui réponds aux besoins de l'agriculteur. Mais aussi à ceux de tous les utilisateurs du produit récolté : consommateur, industriel, intermédiaires de la commercialisation, du stockage, de la transformationetc.

L'évolution permanente des conditions climatiques, écologiques, sociales et économiques conduit à un ajustement continu des objectifs (Feldmann et.1998). Deux types d'objectifs sont le plus souvent recherchés : le rendement (La productivité) et la qualité (Gallais et Bannerot, 1992). La productivité qui est la capacité potentielle d'une variété à produire des rendements élevés quand les conditions optimales sont réalisées, la productivité est donc étroitement dépendant du milieu, elle est sous la dépendance de plusieurs gènes (Lafon et *al.*, 1998).

1-3-1-Adaptation au milieu abiotique

On recherche la résistance au gelé, à la sécheresse, pour atténuer les conséquences agro-climatiques « l'effet d'année », ainsi que la précocité, la tolérance à la salinité .(Rousset, 1990).

1-3-2-Adaptation au milieu biotique

La création des variétés résistantes aux parasites et aux agents pathogènes est une solution à certains problèmes de pathologie face auxquels aucun traitement chimique n'existe, moins polluante que la lutte chimique. La résistance variétale est une méthode de protection rarement durable en raison de l'adaptation des parasites aux gènes de résistance (Lafon et *al.* , 1998)

1-3-3-Le choix de programme de la sélection

D'après Bonjean et picard (1990), il faut choisir les méthodes de sélection les plus adéquates en fonction des différents objectifs. Elles se déroulent, cependant, toutes de la manière suivant :

- Elargissement de la variabilité constituée par des hybridations ou croisements de départ. Ces croisements se font entre les géniteurs de l'espèce que l'on veut améliorer.
- Autofécondation des hybrides pour mettre à profit la recombinaison et exploiter la variabilité potentielle des croisements.
- Suivi de l'application du programme de sélection des meilleures plantes, puis des meilleures lignées issues de la phase d'autofécondation.
- Enfin, la phase d'évaluation des meilleures lignées et de choix définitif de celles qui seront candidate au dépôt pour l'inscription.

Ces quatre étapes stratégiques de l'amélioration des plantes comportent toutefois des contraintes et des limitations. Il est intéressant de faire l'inventaire des outils récemment disponibles apportés par les biotechnologies, afin de les doter du maximum d'efficacité (Demarly et Chalbi, 1991).

1-4-Méthodes de sélection

Selon les objectifs désirés et recherchés, il y a différentes techniques de la sélection artificielle qui ont considérablement évolué avec le temps, cherchant à la disposition des sélectionneurs, parfois très controversées, qui font partie d'une sorte de « boîte à outils » pour améliorer les plantes, on en cite les suivantes :

a/La sélection massale

b/La sélection récurrente

c/La sélection généalogique

d/La méthode Bulk

e/La sélection par filiation monograine ou "Single Seed Descent (SDS)

1-4- 1-Méthodes de sélection traditionnelle

Utilisé pour l'amélioration la technique des croisements simple au complexe, interspécifique au inter génétique entre les variétés présentant les variétés présentant les caractères requis, les combinaisons souhaitées sont ensuite sélectionnées dans la descendance puis stabilisées et multipliées comprend les techniques qui ont été développées et pratiquées par les générations passées pendant de nombreux siècles. Il

s'agit les par exemple de la sélection végétale pour développer une variété de culture vivrière ou encore des technique de brasserie et de fermentation utilisées pour transformer et conserver les aliments (pin, vin, yaourt ou fromage) ces technique qui utilisent les processus naturelle des organismes vivants, ne suscitent généralement pas d'inquiétude dans la population (Kacem, 2005).

1-4-2- Méthodes de sélection moderne

La biotechnologie végétale « moderne » ou récente utilise, des techniques de modification génétique scientifique et d'analyse moléculaire, on parle de marqueur génétique qui permet une accélération du processus de sélection, d'identification en quelques jours et avec une bonne précession les plantes réellement intéressant. Nous avons :

- a- Culture in vitro ;
- b-Fusion de protoplastes ;
- c-Utilisation de mutagenèse.

2- Utilisation des marqueurs pour l'amélioration de blé dur

2-1- Définition de marqueur moléculaire

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de L'individu qui le port. Un marqueur doit être à hérédité simple, multi allénique et Co-dominant.

Les marqueurs moléculaires correspondent donc au polymorphisme révélé au niveau de l'ADN. L'analyse de ce polymorphisme par les techniques de biologie moléculaire s'adresse à l'ensemble du génome, qu'il soit ou non traduit en protéine, et est indépendant des conditions de l'environnement (Langridge et *al.*, 2001). En outre, le nombre de marqueur observables est théoriquement illimité et le génotype d'une plante peut être déterminé à un stade très précoce, aussitôt que le matériel est disponible pour l'extraction de l'ADN (Eagles et *al.*, 2001). Ces marqueur seront d'une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeur agronomique et dans les programmes de sélection assistée par marqueur chez les céréales (Dekkers, Hospital, 2002).

2-2- Présentation d'un bon marqueur

Selon De vienne (1999) un marqueur génétique "idéal" :

- **Polymorphe** : la matière première du généticien est la variabilité,
- **Multi-allélique** : c'est-à-dire possédant plusieurs allèles (donc des séquences d'ADN différentes) sur un même locus (plomion, 2003)
- **Co-dominant** : l'hétérozygote présente simultanément les caractères des deux parents homozygotes, il peut être distingué de chacun des homozygotes parentaux.
- **Non épistatique** : son génotype peut être "lu" à partir de son phénotype quel que soit le génotype aux autre locus. La codominance et le non épistasie peuvent être respectivement définies comme l'absence d'interaction intra et inter locus.
- **Neutre** : les substitutions allélique au locus marqueur n'ont pas d'autre effets phénotypiques (et donc éventuellement sélectifs) que ceux qui permettent de déterminer son génotype. Dans leur très grande majorité les polymorphismes moléculaires sont neutres.
- **Insensible au milieu** : le génotype peut être inféré à partir du phénotype quel que soit le milieu.

2-3- Les principaux types de marqueurs génétiques utilisés

Les marqueurs sont classés en différentes catégories en fonction des molécules utilisées pour révéler le polymorphisme. Les marqueurs largement utilisée à ces jours concernent directement l'information portée par Les acides nucléique ou les produits de la traduction des gènes. De nombreux autres distinguent les marqueurs biochimiques, issue 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. Le terme marqueurs génétiques regroupe les marqueurs Morphologique, Biochimique et Moléculaire.

2-3-1- Marqueurs morphologiques

Les caractères morphologiques ont été les premiers marqueurs génétiques utilisés. Ils représentent des variations de type qualitatif (couleur...), morphologique, des résistances à des maladies ou des ravageurs. Ces marqueurs. Sont le souvent dominants .

2-3-2- Marqueurs biochimiques

Les séquences exprimées du génome codent des protéines dont une partie assurent les réactions enzymatiques des métabolites. Les allèles d'un même locus codent des protéines qui peuvent présenter des différences de séquences et éventuellement d'activité. La quantité d'une substances peut ainsi révéler des variation des enzymes responsable de son accumulation (Woff et *al.*, 1997) .

2-3-3- Produit et métabolisme secondaires :

Les produit et les métabolisme secondaire sont utilisés comme marqueurs génériques, dès lors que la voie de biosynthèse dès ses métabolites est bien connu (Muler- Starck et *al.*, 1992)

2-3-4- Isoenzymes

Les isoenzymes (ou isoenzymes sont différentes formes d'une enzyme d'une fonction donné définie par le substrat et le produit de la réaction. Le terme isoforme est couramment utilisé par les physiologistes et biochimistes.

2-3-5- Protéines totales

Les protéines totales consistent en un mélange complexe des protéines extractibles présentes au moment du prélèvement dans les tissus analysés. Les protéines sont dénaturées afin de séparer les différentes chaînes polypeptidiques les constituant. La séparation par électrophorèse des polypeptides peut être conduite selon deux critères indépendants : la masse, ou le point isoélectrique. (Gay et al, 1986)

3- Les différents types de marqueurs moléculaires :

De nombreuses techniques de marquage moléculaire sont aujourd'hui disponibles, et de nouvelles sont régulièrement publiées (Gupta et *al.*, 2001 ; Langridge et *al.*, 2001 ; Rafalski, 2002a, b).

Les marqueurs moléculaires proviennent du polymorphisme détecté au niveau des molécules d'ADN nucléaire, chloroplastique et mitochondrial. Ils sont d'un coût souvent plus élevé que les marqueurs biochimique comme les isoenzymes ou les terpènes mais ils permettent une inférence génétique plus précise basée sur un échantillon beaucoup plus large de locus (Karp et *al.* ; De vienne, 1998)

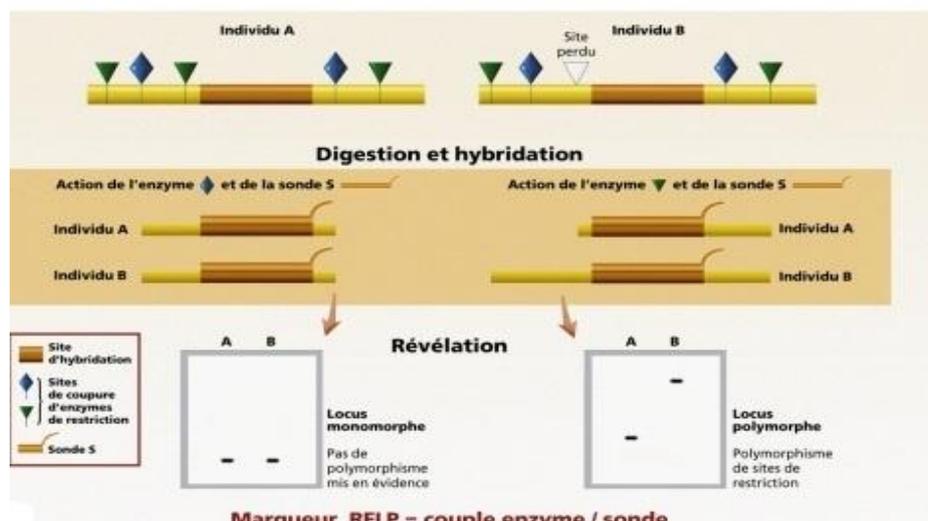
Ces méthodes peuvent être regroupées en deux grandes catégories : les marqueurs de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisme) et les marqueurs basés sur la méthode de PCR (Polymérase Chain Réaction). Le choix du système de marquage dépend de l'objectif précis fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire. (Gupta et *al.*, 1999 ; Santoni et *al.*, Langridge et *al.*,2001).

3-1- **Marqueur RFLP**

La technique RFLP développée par Botstein et *al.*, (1985) repose sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction. Une multitude de fragments d'ADN de tailles variables est générée par digestion enzymatique, puis séparée sur gel d'agarose et transférée par capillarité sous forme dénaturée sur une membrane de nylon.

Cette membrane est mise en contact avec une solution contenant un fragment d'ADN ou sonde qui permet de repérer, par hybridation moléculaire, des fragments d'ADN génomique qui lui sont homologues. La différence entre deux génotypes est révélée par autoradiographie si la sonde est marquée par la phosphore radioactif ou par réaction colorée si elle est associée à un conjugué enzymatique.

Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de site de restriction) et/ou à des délétions /insertion d'un fragment d'ADN au voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde. C'est le couple enzyme/sonde qui constitue le marqueur (Figure.07).



<http://www.gni-pedagogique.org/index>

Figure 07 : polymorphisme de longueur des fragments d'amplification(RFLP).

Marqueur de type PCR

Le développement de la technique PCR offre l'avantage d'analyser les marqueurs moléculaires en un temps court tout en utilisant des concentrations faibles d'ADN. Les marqueurs basés sur la technique PCR tendent à remplacer les systèmes classiques (les marqueurs morphologiques, iso-enzymatique et RFLP) et deviennent très nombreux. Les plus largement utilisés chez le blé sont les microsatellites ou SSR

(Simple Sequence Repeat) ;L' AFLP, (Amplified Fragment Length polymorphisme) et la RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA).

3-2-1- Les microsatellites ou SSRs

Ils sont constitués de séquences de di-, tri- ou tétra-nucléotides répétés en tandem. Ces éléments sont uniformes répartis en plusieurs exemplaires sur l'ensemble du génome d'une espèce et présentent un taux de polymorphisme élevé. Ce polymorphisme repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant le microsatellite. Les séquences flanquant ces éléments répétés permettent de définir les amorces qui seront utilisées pour l'amplification PCR. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide. C'est la paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur.(Margant et Olivieri, 1993).

Si les SSRs constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, co-dominants et aisés d'utilisation), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde. En effet, leur production doit passer d'abord par le clonage et le séquençage de ces éléments répétés. (Parker, Langridge, 2000) (Figure.08).

➤ Application des microsatellites

- Génotypage des individus
- Evaluation des ressources génétiques
- Diversité génétique
- Cartographie des génomes
- Etude phylogénétiques
- Etude d'évolution

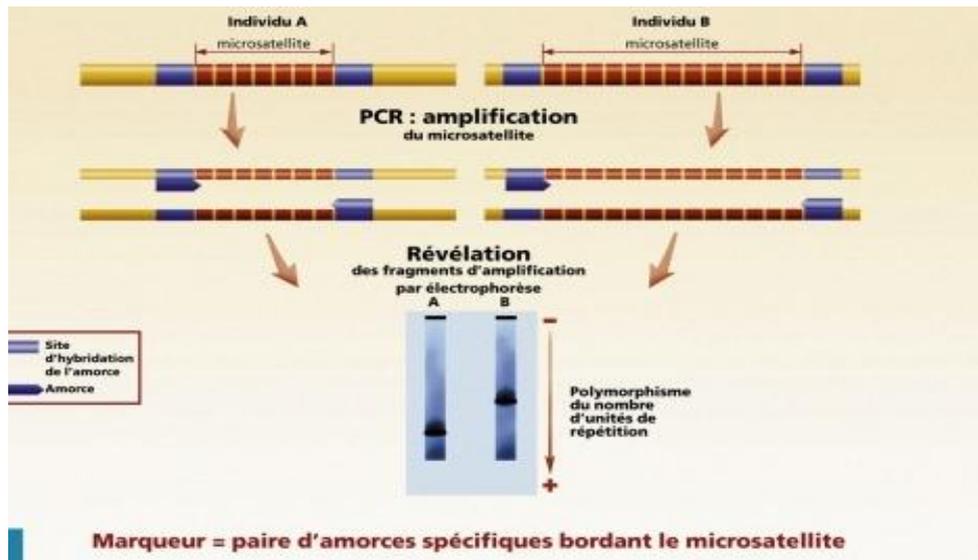


Figure 08 : Polymorphisme de nombre d'unités de répétition (SSR)

3-2-2- La technique AFLP

Elle est fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et d'hybridation d'amorce arbitraires. Cette technique utilise à la fois les enzymes de restriction et l'amplification PCR.

L'ADN génomique est clivé par deux enzymes de restriction. Des adaptateurs de séquences connues et spécifiques des enzymes de restriction utilisées sont ajoutés aux extrémités des fragments de restriction générant ainsi une matrice pour l'amplification. Une première amplification, dite pré-amplification, est réalisée à l'aide d'amorce de séquences complémentaires à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction. La deuxième amplification, dite sélective, utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (de 1 à 3 nucléotides).

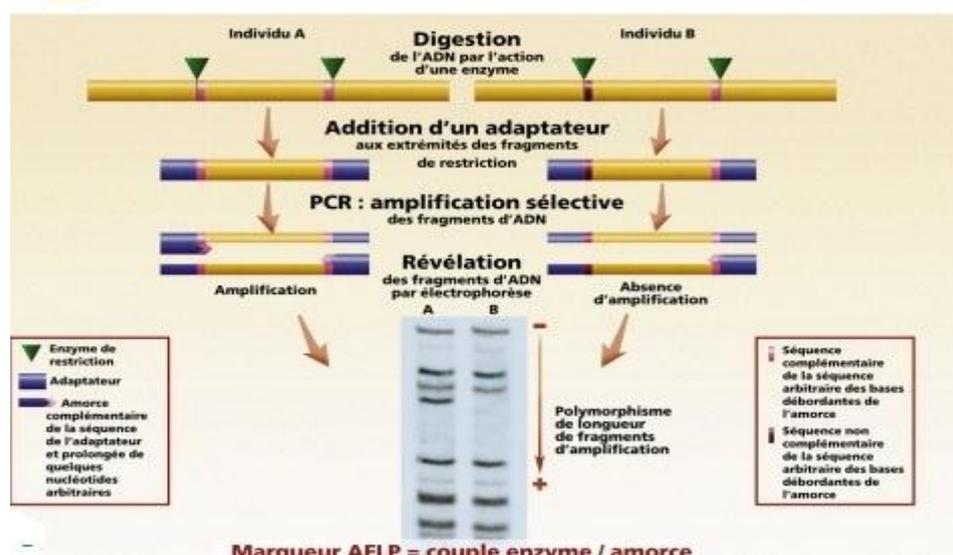
Ainsi, seuls sont amplifiés les fragments possédant les bases complémentaires de ces bases arbitraires. Ces amorces sélectives permettent de réduire le nombre de fragments amplifiés à une centaine.

Ces fragments sont séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide dénaturant puis visualisés par coloration au nitrate d'argent ou révélés grâce à un marquage radioactif ou fluorescent réalisé lors de l'amplification sélective. C'est la combinaison

enzyme de restriction/amorce qui permet de révéler le polymorphisme entre les individus et constitue donc le marqueur AFLP (Prins et al., 2001).

Cette technique est puissante, stable et rapide. En outre, l'AFLP ne nécessite aucune connaissance préalable de séquence du génome de la plante étudiée ni la construction des banques génomiques ou cDNA, à l'encontre des SSR OU des RFLP.

Elle connaît une large application dans le fingerprinting, l'identification des cultivars et la détermination de leur relation phylogénétique, la cartographie des génomes et le clonage. Toutefois, la dominance, le coût élevé et les difficultés techniques liées au marquage par AFLP limitent son utilisation à grande échelle pour des applications comme la sélection assistée par marqueur, (Figure.09) (Vos et al., 1995).



<http://www.gni-pedagogique.org/index>

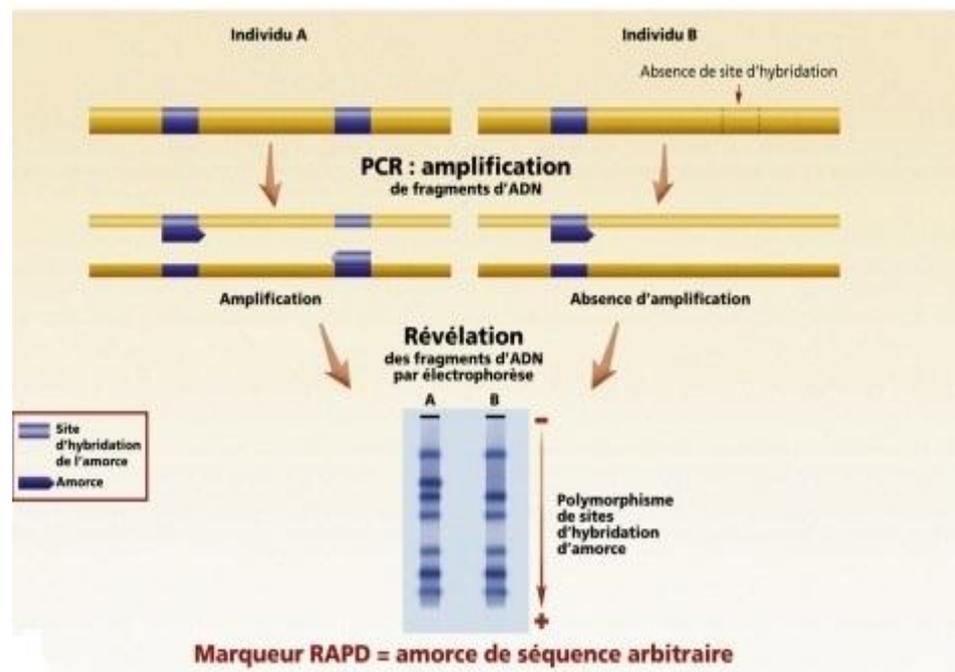
Figure 09: Polymorphisme de longueur des fragments d'amplification (AFLP)

3-2-3- La technique RAPD

Elle consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de taille courte (10pb). Une amorce RAPD permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des locus dominants. Les produits d'amplification sont généralement visualisés par Electrophorèse sur gel d'agarose. Le polymorphisme révélé est un polymorphisme de sites d'hybridation d'amorce, il est dû à des mutations soit dans les régions amplifiées soit au niveau des sites de fixation des amorces, et il se traduit par la

présence ou l'absence de bande chez les différents génotypes. (Santoni et al., 2000). Les amorces constituent donc le marqueur.

Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique. Néanmoins, la RAPD manque de reproductibilité puisqu'elle est très sensible à la concentration de l'ADN et aux conditions d'amplification. (Figur.10) (Williams et al., 1990).



<http://www.gni-pedagogique.org/index>

Figure 10 : ADN Polymorphe au hasard (RAPD)

3-2-4-ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat)

Les marqueurs ISSR, liés aux séquences ou nucléotides de l'espace présent entre les séquences simples répétées (SSRs) dans le génome, sont basés sur le polymorphisme de taille de 200 à 2500pb le long de ces espaces inter-microsatellites amplifiables par une seule amorce PCR (Zietkiewicz et al., 1994). En général, les loci microsatellites sont régulièrement distribués en grand nombre à travers le génome d'eucaryote, fournissant ainsi un pool riche en potentiels marqueurs ISSR convenables pour révéler la diversité étroitement associée aux accessions (Wiesner et Wiesnerová, 2003).

En effet, cette amplification ISSR est définie par la variation des PCR qui utilisent des amorces à simple séquence répétée comme $[AC]_n$. Pour amplifier les régions situées

entre les les séquence microsatellites (Kahl, 2001). Selon Zietkiewicz et al., 1994 , La production des marqueurs ISSR est, par rapport aux marqueurs AFLP , SSR et RFLP, moins couteuse, rapide et facile à optimiser. Par ailleurs, ils sont considérés plus reproductible que ceux de RAPD et détectent un grand polymorphisme génomique que les marqueurs RFLP (Zietkiewicz et al., 1994 ; Oh et al .,2000).

La technique ISSR a été largement et diversement appliquée dans l'étude de la variabilité génétique des plants (Godwin et al., 1997) et la caractérisation de certains organismes fongique (Grunig et al ., 2001).

3-2-5- SCAR(Sequence-Characterized Amplified Region)

Un marqueur obtenu par RAPD , AP-PCR , DAF,AFLP peut être cloné. Le fragment intéressant est séquencé à partir de ses extrémités pour définir des amorces 20-50 bases spécifiques de ce fragment . Une nouvelle réaction de polymérisation en chaine est réalisée à l'aide de ces nouvelles amorces conduisant à l'amplification d'un marqueur SCAR spécifique.

Le polymorphisme est révélé après électrophorèse ; trois situations sont alors attendues : le polymorphisme est identique à celui du profil original (tous et seulement tous les individus qui possédaient le marqueur initial (RAPD) présentent les marqueurs(SCAR) ; l'amplification donne de un fragment taille attendue chez tous les individus avec un polymorphisme de longueur (les ségrégations distinguent normalement les même individus que le polymorphisme de présence initial) ; l'amplification donne un fragment chez tous les individus sans polymorphisme visible. Une autre technique est alors utilisée pour restaurer le polymorphisme et la ségrégation initial (changer les amorces si polymorphisme était localisé au niveau des amorces initiale RAPD (Paran et Micheltore, 1993) .

3-2-6-SNP (Single Nucléotide Polymorphisme)

Les SNP sont des variations naturelles qui ne concernent qu'un seul nucléotide dans une séquence donné. Comparés aux autres marqueurs moléculaires, les SNP présentent l'avantage l'une répartition homogène dans tout le génome et d'être excessivement nombreux.

Ce nombre élevé permet donc potentiellement la création de cartes génétiques à très haute densité.

L'accumulation récente des données de génomes complétement séquencés, de séquences génomiques ainsi que de séquences codantes (EST) a permis de développer

des marqueurs SNP chez plusieurs génomes végétaux comme le maïs , le blé (Somers et al.,2003)

Ils ont jusqu'à présent généralement été détectés en tant que marqueurs dominants et utilisés pour la construction des cartes génétiques et physiques ainsi que pour étudier la phylogénie, la diversité génétique et le déséquilibre de liaison (LD)

3-2-7-SSCP (Single Strand Conformational polymorphisme)

Le principe du SSCP repose sur les propriétés de migration de l'ADN simple brin liées à sa conformation spatiale (Orita et al., 1989). Les fragments d'ADN simple brin, obtenus après dénaturation par chauffage à 95°C et refroidissement brusque, se replient sur eux-mêmes.

Chaque simple brin prend une conformation qui lui est propre en fonction de sa séquence et des appariements possibles à l'intérieure de ce brin . les deux brins d'ADN complémentaire prennent une conformation différente en raison des différences de stabilité des liaisons A-T et G-C. Chaque brin d'ADN a une vitesse de migration dans un gel d'électrophorèse qui lui est propre en fonction de sa conformation spatiale . La réassociation des brins complémentaires est empêchée durant toute la migration, l'ADN est visualisé par une coloration généralement à l'argent ou à l'aide de fluorochromosomes

3-2-8-STS (Séquence-Tagged Site)

Les amorces de ces marqueurs sont définies à partir de la séquence des extrémités d'un fragment d'ADN (sonde RFLP.....) préalablement cartographié . Le polymorphisme est observé comme pour les SCAR. Divers auteurs utilisent ce sigle pour des marqueurs amplifiés par PCR à l'aide d'amorce spécifique. (Olson et al., 1989)

En résumé, les marqueurs RFLP et microsatellites sont spécifiques de locus, co-dominants et sont utilisés généralement pour la cartographie et la détection de QTL (Quantitative Trait Loci) tandis que les marqueurs RAPD et AFLP sont dominant, non spécifiques de locus et servent essentiellement à la saturation d'une région du génome au voisinage d'un gène d'intérêt en vue de son clonage. (Hernandez et al., 1999).

Selon Daniel et al., (2006) et d'après De vienne, (1999) le tableau suivant nous synthétisera les caractéristiques des principaux marqueurs

Les avantages et les inconvénients des principaux marqueurs moléculaires :

Tableau .03 : comparaison entre différents types des marqueurs RFLP, AFLP et SSR

Marqueur	Avantages	Inconvénients
RFLP	<ul style="list-style-type: none"> -La RFLP est une méthode fiable et facilement transférable entre laboratoire. -Il s'agit d'un marqueur codominant. -Aucune information sur la séquence n'est requise. -.Elle est utilisable pour faire des cartes génétiques de liaisons. 	<ul style="list-style-type: none"> -La RFLP nécessite une grande quantité d'ADN. -.Elle n'est pas automatisable, vue les étapes de transfert et d'hybridation. -Certains espèces possèdent un taux peu élevé de polymorphisme. -Un faible nombre de locus sont détectés par expérience.
AFLP	<ul style="list-style-type: none"> -L'AFLP permet un survol rapide de l'ensemble du polymorphisme du génome. -.Elle est hautement reproductible. -Il n'y a pas besoin de connaître une séquence et de créer des sondes spécifiques. -.Elle permet la création facile et rapide de cartes génétiques. 	<ul style="list-style-type: none"> -La génération d'une grande quantité d'information. -.nécessite une analyse automatisée et la technologie informatique. -.Ce sont des marqueurs dominants. -Les marqueurs AFLP sont souvent localisés aux centromères et aux télomères.
SSR	<ul style="list-style-type: none"> -Les microsatellites sont des marqueurs codominants. -.Ils sont très largement utilisés. -.Ils y a une grande fréquence de SSR dans le génome. -Les microsatellites sont bien répartis à travers tout le génome. 	<ul style="list-style-type: none"> -La préparation des microsatellites est assez lourde car il faut « cribler une banque génomique enrichie avec une sonde du microsatellite, séquencer les clones positifs, synthétiser les amorces oligonucléotidiques et tester les paires d'amorces dans un échantillon d'individus ».

4-La sélection assistée par marqueur moléculaire (SAM)

La SAM est basé sur la possibilité de détecter la présence d'un gène ou d'une caractéristique agronomique intéressant par la recherche du marqueur qui lui est étroitement lié.

Les perspectives d'application du marqueur moléculaire en sélection sont nombreuses. La SAM est non destructif, elle nécessite peu de tissu végétale et elle n'est pas influence par des facteurs environnementaux .Ce type de sélection est particulièrement avantageux lorsqu'el caractère étudié est difficile, couteux à évaluer ou influencé par les conditions climatiques ou pédologique (résistance au stress hydrique, tolérance à l'aluminium, résistance à la germination sur pied, etc.) . (MOULLET et al.,2009)..

Le sélectionneur doit fréquemment anticiper les problèmes, par exemple en améliorant la résistance contre des maladies dans des régions où le pathogène en n'existe pas encore. Dans un tel cas, comme la propagation artificielle du pathogène est proscrite, la SAM est incontournable.

L'amélioration des plantes repose sur deux éléments essentiels, d'un part disposer de larges ressources génétiques et d'autre part sélectionnes les rares combinaisons appropriées dans le but d'apporter l'amélioration recherchée.

Les marqueurs permettent d'évaluerait de structurer ces ressource génétiques (coré collections) en identifiant un nombre limité de variétés représentatives de la totalité de la collection. Ces coré- collections permettent d'optimiser le choix des géniteurs en sélectionnant les cultivars possédant des allèles favorables complémentaires.

La SAM présente encore un grand intérêt dans les programmes d'intégration destinés à modifier de manière ciblée un matériel génétique existant, en remplaçant un segment chromosomique initial. par un segment porteur de caractéristique favorables provenant d'un autre matériel . (MOULLET et al.,2009)..

Cette approche suppose de croiser deux lignées, l'un considérée comme le parent donneur, de l'autre comme le parent receveur, puis d'éliminer progressivement par rétrocroisement successif (back6cross) le génome du parent donneur, tout en conservant de façon ciblée le segment d'intérêt. Les plantes porteuse des allèles favorables peuvent être identifiées à l'aide de marqueurs.

La SAM peut également aider à accumuler dans une plante des gènes de résistance complémentaires pour une même maladie, de façon à obtenir une résistance multi génique qui sera potentiellement plus stable car plus difficile à contourner par le pathogène. Le phénotype seul ne permet pas de différencier les individus cumulant deux ou plusieurs résistances de ceux qui n'en possèdent qu'une, rendant le recours aux marqueurs indispensable.

La SAM a cependant ses limites. Comparée aux méthodes de sélection traditionnelles, cette nouvelle technologie n'est compétitive en termes de coût et de temps lorsque le phénotype peut être déterminé facilement (hauteurs des plantes, précocité, résistance à certaines maladies....)

Par ailleurs, pour la sélection de caractéristiques agronomique à déterminisme génétique complexe, comme le rendement par exemple, gouvernées par un grand nombre de gènes ou de QTL qui interagissent et dont la plupart sont encore inconnus, la SAM est actuellement un outil inefficace. (MOULLET et al.,2009).

4-1- Utilisation de marqueur moléculaire à l'amélioration de blé dur

4-1-1- Phylogénie

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.

Les relations de proximité entre espèces ou populations sont abordées de deux façons différentes:

4-1-1-1-La phonétique : est fondée sur les distances génétiques entre les unités taxonomiques et aboutit à la construction de dendrogrammes ; Les dendrogrammes construits avec différents types de marqueurs montrent parfois des regroupements différents : C'est le cas pour 22 lignées de blé analysées avec les marqueurs AFLP, RFLP et microsatellites. Dans une autre étude, les dendrogrammes ont été construits pour 33 lignées de maïs avec des marqueurs RAPD, AFLP, RFLP et microsatellites (les marqueurs RAPD fournissent un dendrogramme différent des autres).

4-1-1-2-La cladistique : est fondée sur l'identification des mutations successives et repose sur le principe de minimiser le nombre d'événements pour décrire un arbre phylogénétique. Les marqueurs préconisés sont les marqueurs RFLP et PCR-RFLP pour lesquels les sites de restriction sont cartographiés de façon à individualiser chaque mutation. Les marqueurs RFLP des gènes ribosomiques dont les sites de restriction sont cartographiés sont de bons marqueurs pour la cladistique.(Anonyme 04 ,2010)

4-1-2- Analyse de la diversité génétique

4-1-2-1- Phylogéographie

La phylogéographie analyse simultanément la diversité géographique et les relations phylogénétiques des populations. Comme pour la construction d'arbres phylogénétiques, la succession des mutations conduisant aux allèles observés doit pouvoir être retracée. Les marqueurs RFLP, PCR-RFLP et PCR-RFLP de façon générale sont adaptés à ces études.

4-1-2-2- Structure et différenciation

La structure d'une sous-population est analysée par référence à la situation attendue dans une population panmictique (équilibre de Hardy-Weinberg). Pour tester d'éventuels écarts à cet équilibre, le génotype de tous les individus doit pouvoir être caractérisé aux loci analysés.

En général, les marqueurs dominants ne sont utilisables que dans des espèces à fort taux de fixation, où les individus hétérozygotes sont presque inexistantes, ou dans des populations dont l'écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg peut être connu, de préférence pour les marqueurs analysés.

4-1-2-3- Flux de gènes, recherche de parenté et introgression

Les taux d'allofécondation ou d'autofécondation sont correctement estimés à partir des génotypes notés à une dizaine de locus polymorphes, neutres et indépendants. Ces loci sont de préférence codominants.

Des marqueurs cartographiés comme des RFLP, des STS et des microsatellites sont donc intéressants.

Les techniques d'empreintes génétiques fournissent de nombreux marqueurs dominants dont l'analyse simultanée permet également de mener des recherches de

paternité. Les marqueurs microsatellites chloroplastiques (SSR) présentent aussi un intérêt pour la recherche de maternité chez les espèces à transmission maternelle du génome chloroplastique et pour la recherche de paternité chez les autres espèces.

4-1-3- Identification

L'identification de clones ou de lignées est plus facile que celle de population ou de variétés synthétiques. L'efficacité des marqueurs AFLP, RAPD, RFLP et microsatellites pour caractériser les variétés a été comparée chez l'orge. Chaque type de marqueur a permis l'identification des 18 variétés, mais avec un effort plus important pour les marqueurs RFLP.

4-2-4 -Notion de QTL

La génétique formelle étudie des caractères phénotypiques dont la variation est discrète (couleur des fleurs, des graines, résistance à un herbicide, etc...). Ces caractères sont généralement sous le contrôle d'un seul gène (caractères dits mono géniques). Cependant de très nombreux caractères, notamment importants en agronomie, manifestent une variation continue. Ces caractères sont dits quantitatifs. Chez le maïs, le rendement en grain, la hauteur de la plante, la taille de l'épi, la masse des grains, la précocité mâle ou femelle, la tolérance à des contraintes de l'environnement sont des caractères quantitatifs très étudiés. On peut aussi citer la masse et le pH du fruit, sa teneur en sucres solubles, analysés notamment chez la tomate. Les caractères quantitatifs sont sous les contraintes de plusieurs gènes, ils sont dits polygéniques. Des plus, ils sont dans la grande majorité des cas influencés par l'environnement. Les loci responsables de la variation continue d'un caractère sont appelés QTL.

4-2-5- Cartographie génétique et applications

Tous les types de marqueurs permettent, potentiellement :

- de construire des cartes génétiques,
- d'établir des associations entre marqueurs et gènes
- et de localiser dans le génome les régions qui sont impliquées dans la déterminisme des caractères quantitatifs (QTL).

4-2-5-1- Carte référence, portabilité dans l'espèce

La carte doit contenir un maximum de marqueurs et être au moins saturée. La difficulté pour utiliser les informations de la carte de référence en vue d'établir une carte sur une autre population est de retrouver du polymorphisme à chaque locus pour chaque marqueur.

La présence de marqueurs microsatellites, très polymorphes, dans la carte de référence en fait une carte consensus utilisable dans un grand nombre de croisements. Les marqueurs RFLP sont aussi exploitables.

4-2-5-2- Recherche de QTL, gènes candidats

Les marqueurs dominants n'apportent pas une information complète sur l'effet du QTL en raison de la confusion des individus hétérozygotes avec certains individus homozygotes.

L'analyse fonctionnelle du génome, menée essentiellement chez les espèces modèles, donne accès à des séquences codantes, de fonction identifiée et intervenant dans divers caractères.

Ces séquences constituent des « gènes candidats » qui peuvent rendre compte de l'effet de certains QTL et remplacer, après validation, le marqueur lié au QTL.

Les marqueurs de fonction connus (RFLP avec cDNA et STS) ont l'avantage de permettre de manipuler ces gènes candidats. Un bon exemple nous est fourni par la comparaison des cartes génétiques et physique du blé tendre et blé dur à l'aide de marqueurs microsatellites. (Anonyme 04, 2010)

4-1-5-3- Saturation rapide, marquage de gènes majeurs

Les marqueurs MAAP sont parfaitement adaptés pour saturer une carte génétique, surtout pour des espèces peu étudiées, où les sondes et les marqueurs PCR n'ont pas été développés. Pour des objectifs de clonage positionnel, ils permettent, dans des dispositifs génétiques adaptés, d'obtenir une forte densité de marqueurs dans une région précise du génome, au voisinage du gène à cloner. (Anonyme 04, 2010)

4-1-5-4- Cartographie comparée entre espèces

A un intérêt fondamental pour la connaissance de l'évolution des génomes, et aussi un intérêt appliqué pour la recherche de gène ou de QTL d'un caractère donné

dans une espèce mal connue, en exploitant les données disponibles sur une espèce proche (modèle).

Les marqueurs utilisés doivent être retrouvés dans des espèces voisines. En pratique, les marqueurs RFLP, surtout avec des sondes ADNc, sont les mieux adaptés à la cartographie comparée. (Anonyme 04, 2010). a différenciation) car les informations utilisées sont semblables.

4-2Utilité des marqueurs moléculaires dans la sélection de blé

Les marqueurs moléculaires peuvent être utiles dans la sélection du blé à plus d'un titre (Yann manès. , 2005):

- Un certain nombre de gène majeur connus interviennent dans le contrôle génétique de caractère important tel que la précocité d'épiaison, la hauteur, la qualité boulangère, le besoin en vernalisation, etc.... Des marqueurs pour ces gènes permettaient au sélectionneur d'avoir une meilleure appréciation du potentiel d'un croisement et d'orienter la descendance du croisement par l'application de marqueurs dès les premières générations de sélection.
- Certains caractères sont difficiles ou coûteuse à évaluer : les marqueurs sont alors utiles quand les conditions de l'année n'ont pas permis l'expression d'un caractère important pour sélectionneur et donc une sélection phénotypique efficace. Dans le cas d'un caractère coûteux à contrôle génétique simple, le sélectionneur pourrait même envisager de substituer une évaluation au champ par un test génotypique.
- Tout schéma de sélection est multicaractère, particulièrement dans le cas du blé. Or l'ordre de sélection des caractères dans le cycle de sélection résulte en fait plus de contraintes pratique que d'un ordre de priorité. Les caractères à déterminisme génétique complexe comme le rendement ne sont pas traités en début de cycle. Si le sélectionneur disposait de marqueurs liés à des gènes intervenant dans le contrôle génétique de caractères complexes, il pourrait exercer une pression de sélection sur de tels caractères dès le début du cycle.

- Tout type de gènes peut être introduit par back-cross dans du matériel élite à partir de source dites exotique, grâce aux marqueurs moléculaires. Je pense en particulier aux gènes récessifs.
- Les marqueurs peuvent permettre d'envisager de véritables schémas de construction génotypique, c'est-à-dire que le sélectionneur peut volontairement orienter sa sélection pour avoir dans la même variété deux, trois ou quatre gènes connus différents.

5-Application de SAM dans l'amélioration du blé au stress abiotique

3-2- Marqueurs types microsatellites (SSR)

Une recherche a été menée chez une population F1 issues de différents croisements, les grains ont été semés dans deux essais irrigués et sans irrigation, avec l'utilisation de quarante marqueurs de types BARC (Tableau.04), dont l'objectif est de détecter la liaison entre les marqueurs et la tolérance à la sécheresse. Leurs motifs et leurs références peuvent être tirés du site ; http://www.scabusa.org/pdfs/BARC_SSR_011101.xls (USWBSI).

Les résultats obtenus de cette étude montrent la présence de 112 allèles notés chez les quarante amorces SSR avec une moyenne de 2.8 allèles par locus ce qui montre l'importance de ces marqueurs dans le criblage des génotypes tolérants sous condition de stress abiotique.

Tableau.04: Les amorces utilisées pour analyse SSR dans l'analyse de la tolérance du blé dur à la sécheresse (El-Maghraby et al, 2005)

L'amorce	Motif
BARC004	(TTA) 15
BARC012	(TAA) 28
BARC017	(TAA) 12
BARC018	(TAA) 20
BARC024	(TCA)10+(TAA)9
BARC042	(TTA)12
BARC048	(TATC)11
BARC052	(ATCT)5
BARC062	(TAGA) 8
BARC065	(TAGA) 9
BARC066	(TC) 8(TAGA) 5
BARC069	(TATC) 15
BARC072	(CT) 4(TCTA) 8(TC) 8
BARC074	(GA) 13(GATA) 7(GA) 9
BARC076	(TATC) 7
BARC077	(ATCT) 6+18
BARC078	(TC) 27(TATC) 43
BARC079	(TAGA) 10+(TC) 9
BARC080	(GAA) 12
BARC093	(TTC) 10+3
BARC001	(TAA)8
BARC003	(CCT)17
BARC005	(TTA)5+8
BARC006	(TTA)24
BARC007	(TTC)6+3
BARC008	(TTA)15+11
BARC009	(TAA)3+3+(TTG)6
BARC010	(GAA)13
BARC011	1 (TAA)9+(TTA)12
BARC013	(TTC)5+3+2
BARC014	(TAA)18+12
BARC016	(TTG)9
BARC019	(TAA)18
BARC020	(TAA)21
BARC021	(TAA)19
BARC023	(TAA)9
BARC025	(TAA)22+(GAA)10
BARC026	(ATT)8
BARC027	(TAA)8
BARC028	(ATT)9

Une autre étude a été menée par Somers and Isaac, 2004 sur un autre type de marqueur SSR (wmc) en relation avec le stress abiotique (Tableau.05) chez 14 variétés de blé dur et tendre (locales et introduites)

Tableau 05. Les marqueurs microsatellites et les amorces utilisées correspondantes dans cette étude (Somers et Isaac, 2004).

Marker	Primer
Wmc603 SSR-7A	F : ACAAACGGTGACAATGCAAGGA R : CGCCTCTCTCGTAAGCCTCAAC
Wmc9 SSR-7A	F : AACTAGTCAAATAGTCGTGTCCG R : GTCAAGTCATCTGACTTAACCCG
Wmc596 SSR	F : TCAGCAACAAACATGCTCGG R : CCCGTGTAGGCGGTAGCTCTT

Cette étude a aussi révélé l'importance du chromosome 7A dans la tolérance au stress hydrique chez le blé dur. Ainsi que les marqueurs Xwmc9, Xwmc596 et Xwmc603 montrent un polymorphisme chez les deux cultivars algériens de blé. (*Triticum durum* et *Triticum aestivum*) en comparaison avec les cultivars roumains

Ce même type de marqueurs a été aussi étudié par Bousba et *al.*, 2013, avec l'utilisation d'un autre type de marqueurs obtenus par le site genebank (Wms) (Tableau. 6) le génotype a été réalisé sur quarante variétés de blé dur de diverses origines (Locales et introduites).

Tableau.06: Description des marqueurs SSR utilisés dans l'étude de la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (Bousba et *al.*, 2013).

Marker	Forwrd primer (5'→ 3')	Reverse primer (5'→ 3')
WMC54	TATTGTGCAATCGCAGCATCTC	TGCGACATTGGCAACCACTTCT
Wmc63	GTGCTCTGGAAACCTTCTACGA	CAGTAGTTTAGCCTTGGTGTGA
WMC78	AGTAAATCCTCCCTTCGGCTTC	AGCTTCTTTGCTAGTCCGTTGC
WMC105	AATGTCATGCGTGTAGTAGCCA	AAGCGCACTTAACAGAAGAGGG
WMC_150	CATTGATTGAACAGTTGAAGAA	CTCAAAGCAACAGAAAAGTAAA
WMC_153	ATGAGGACTCGAAGCTTGGC	CTGAGCTTTTGC GCGTTGAC
WMC_165	CACACTCGCACGATTTTCCTAT	TCGGTTACACTGGAAGTGGTCT
WMC167	AGTGTAATGAGGTGAAAGAAG	TCGGTCGTATATGCATGTAAAG
WMC168	AACACAAAAGATCCAACGACAC	CAGTATAGAAGATTTTGAGAG
WMC177	AGGGCTCTCTTAATTCTTGCT	GGTCTATCGTAATCCACCTGTA
WMC179	CATGGTGGCCATGAGTGGAGGT	CATGATCTTGCGTGTGCGTAGG
WMC235	ACTGTTCTATCCGTGCACTGG	GAGGCAAAGTTCTGGAGGTCTG
WMC307	GTTTGAAGACCAAGCTCCTCCT	ACCATAACCTCTCAAGAACCCA
WMC322	CGCCCCACTATGCTTTG	CCCAGTCCAGCTAGCCTCC
WMC445	AGAATAGGTTCTTGGGCCAGTC	GAGATGATCTCCTCCATCAGCA
WMS06	CGT ATC ACC TCC TAG CTA AAC TAG	AGC CTT ATC ATG ACC CTA CCT T
WMS108	ATT AAT ACC TGA GGG AGG TGC	GGT CTC AGG AGC AAG AAC AC
WMS118	GAT GGT GCC ACT TGA GCA TG	GAT TG TCA AAT GGA ACA CCC
WMS135	TGT CAA CAT CGT TTT GAA AAGG	ACA CTG TCA ACC TGG CAA TG
WMS149	CAT TGT TTT CTG CCT CTA GCC	CTA GCA TCG AAC CTG AAC AAG
WMS169	ACC ACT GCA GAG AAC ACA TAC G	GTG CTC TGC TCT AAG TGT GGG
WMS198	TTG AAC CGG AAG GAG TAC AG	TCA GTT TAT TTT GGG CAT GTG
WMS30	ATC TTA GCA TAG AAG GGA GTG GG	TTC TGC ACC CTG GGT GAT TGC
WMS304	AGG AAA CAG AAA TAT CGC GG	AGG ACT GTG GGG AAT GAA TG
WMS375	ATTGGCGACTCTAGCATATACG	GGGATGTCTGTTCCATCTTAGC

Les résultats de cette recherche montrent que ces marqueurs ont été associés avec la tolérance à la sécheresse chez le blé dur avec l'enregistrement d'un polymorphisme de ces marqueurs et la présence ou l'absence de ces marqueurs chez les génotypes tolérants à la sécheresse.

Jusqu'à l'heure actuelle, environ 55 Lr gènes de résistance contre le *Puccinia triticina* ont été identifiés dont 25LR introduit à partir d'espèce sauvage au moins 33Yr gènes conférant une résistance à la rouille jaune ont été identifiés et intégrés

dans les variétés de blé commercial (pathan et *al.*, 2007). Exemple de gène résistant à la rouille (tableau.07) :

Tableau 07: Exemples de gènes majeurs de résistance aux maladies des rouilles cartographiés.

Caractère	Gene de Résistance	Nombre et type de marqueurs	Type de Population	Références
Résistance à la rouille jaune	Yr10	RFLP	(Liso)	Spielmeier <i>et al.</i> , 2000
	Yr15	1 RFLP	(Liso)	Sun <i>et al.</i> , 1997
		1 RAPD	(Liso)	Sun <i>et al.</i> , 1997
		1 SSR	(Liso)	Fahima <i>et al.</i> , 1997
		SSR/RAPD	(Liso)	Chague <i>et al.</i> , 1999
	Yr17	1 RAPD/1SCAR	(Liso)	Robert <i>et al.</i> , 1999
	Yr18 (APR)	RFLP	(LR)	Singh <i>et al.</i> , 2000
	Yr26	3 SSR	(F2)	Ma <i>et al.</i> , 2001
	Yr28 (APR)	RFLP	(LR)	Singh <i>et al.</i> , 2000
YrH52	SSR	(F2)	Peng <i>et al.</i> , 1999, 2000	
Yrms-B1 (APR)	1 RFLP	(F2)	Peng <i>et al.</i> , 1999	
	SSR	(F3)	Börner <i>et al.</i> , 2000	
Résistance à la rouille brune	Lr3	1 RFLP	(F2)	Sacco <i>et al.</i> , 1998
	Lr10	1 RFLP	cartographie	Nelson <i>et al.</i> , 1997
		1 STS	(Liso)	Schachermayr <i>et al.</i> , 1997
	Lr13 (APR)	3RFLP,3SSR	(F2)	Seyfarth <i>et al.</i> , 1998
	Lr19	AFLP/1STS	délétion/	Prins <i>et al.</i> , 2001
		RFLP	recombinaison	Spielmeier <i>et al.</i> , 2000
	Lr21	2 RFLP	(Liso)	Nelson <i>et al.</i> , 1997
	Lr23	2 RFLP	(Liso)	Nelson <i>et al.</i> , 1997
	Lr27	1RAPD/1STS	(F2)	Naik <i>et al.</i> , 1998
	Lr28	2 RFLP	(F3)	Nelson <i>et al.</i> , 1997
	Lr31	1 RFLP	(F3)	Nelson <i>et al.</i> , 1997
	Lr34 (APR)	3RFLP,RAPD	cartographie	William <i>et al.</i> , 1997
		3RFLP/1STS	(LR)	Seyfarth <i>et al.</i> , 1999
		3 SSR	(F2)	Raupp <i>et al.</i> , 2001
	Lr35 (APR)	1 PCR	(F2)	Helguera <i>et al.</i> , 2000
Lr39	SSR	(BC)	Aghaee-Sarbarzeh <i>et al.</i> , 2001	
Lr47		(F2)		
LrTr				
Résistance durable à la rouille noire	Sr2	1 STS	lignées en sélection	Bariana <i>et al.</i> , 1998
	(APR)	2 RFLP	(LR)	Johnston <i>et al.</i> , 1998

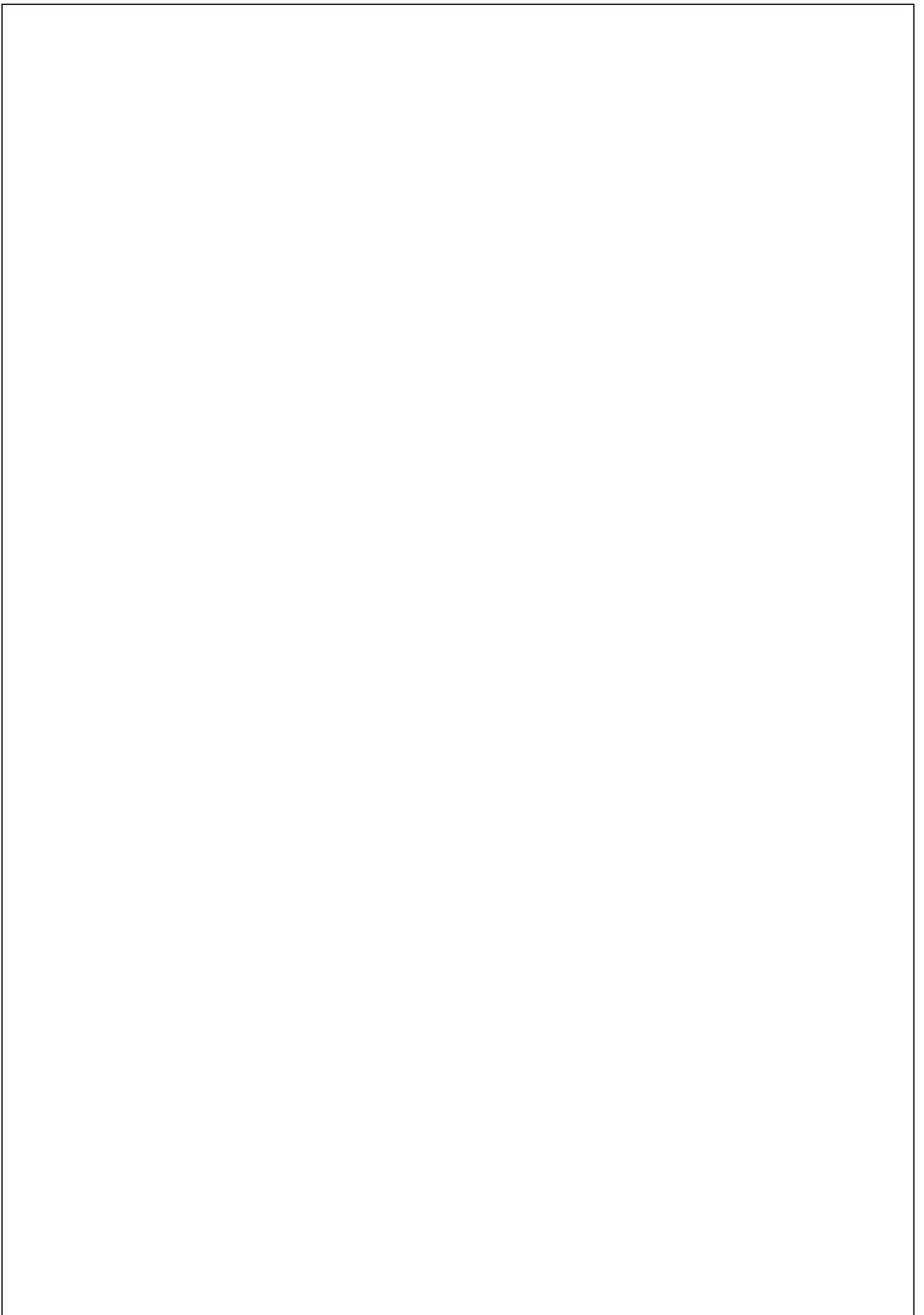
(Liso) = Lignées quasi-isogéniques, (F2) et (F3) = les descendances F2 et F3 respectivement, (HD) = les haploïdes doublés, (LR)= les populations de lignées recombinante, (BC) = les populations issues de rétrocroisements ou backcross, (apr) = gène de résistance adulte (adult plant resistance gene).

3-3-

3-4- **Marqueurs types RAPD**

Plusieurs chercheurs ont détecté des marqueurs moléculaire de types RAPD liées aux stress abiotiques, parmi ces études on a ce qui ont été sélectionné à partir du site (NBCI). Ces marqueurs RAPD ont été étudiés chez les mutants du blé tendre, sur une population générée après l'induction d'une mutation afin de développer des génotypes tolérant à la sécheresse. Dibi et *al.*, (2010), ont détectés un total de 100 allèles chez 15 marqueurs moléculaires de type RAPD, avec un taux de polymorphisme allant jusqu'à 78% (polymorphes) et 22% ont été monomorphes.

CONCLUSION



Conclusion

Les efforts de recherche sur le blé sont à la mesure de l'importance économique de cette culture. Les stress biotiques et abiotiques sont les principales contraintes qui menacent considérablement la culture et la production de cette céréale.

Les biotechnologies représentent les différentes techniques qui permettent l'amélioration génétique des céréales, dans le but est améliorer le rendement et augmenter la productivité l'amélioration des plantes consiste à créer une variabilité génétique nouvelles, parmi les approches d'amélioration on a le marquage moléculaire.

Aujourd'hui, avec le marquage moléculaire, de nouvelles perspectives s'ouvrent pour le sélectionneur, l'utilisation des marqueurs pour augmenter la précision dans l'évaluation de valeurs génotypiques se pose plus en termes de coût par rapport à d'autres méthodes qui peuvent permettre aussi d'augmenter cette précision. Si une technique comme les RFLP ou RAPD se banalise, alors leur utilisation redonnerait beaucoup plus d'importance à la sélection individuelle sur le phénotype. Mais après chaque sélection, il faudra réévaluer les liaisons entre marqueurs et QTLs.

Dans cette étude bibliographique plusieurs marqueurs ont été détectés liés à la tolérance aux stress biotique et abiotique, des marqueurs de types microsatellites (SSR) wmc, wms et barc, de types RAPD, RFLP, AFLP.

La sélection assistée par marqueurs chez le blé peut également aider à accumuler dans un même génome des gènes de résistance complémentaires pour une même contrainte, de façon à obtenir une résistance multi génique, plus stable car plus difficile à contourner, donnant des variétés ayant un bon profil de tolérance aux contraintes. De plus le développement des marqueurs moléculaires et les différentes techniques (RFLP, AFLP, RAPD) offrent la possibilité d'établir de nouvelle approche pour améliorer les stratégies de sélection. L'amélioration du blé dur dans divers domaines est actuellement longue et continue d'évoluer.

Par ailleurs, la création de variétés résistantes par des rétrocroisements assistés par marqueurs est une méthode qui reste économique et écologique et ne présente, contrairement aux organismes génétiquement modifiés (OGM), aucun risque ni problème éthique

concernant leur acceptabilité puisque les ressources génétiques sont utilisées depuis le début de la sélection.

Ces nouvelles approches (génomique, bioinformatique, SNP) ainsi que l'accès aux banques de séquences EST (Expressed Sequence Tags) peuvent accélérer la cartographie génomique et l'étiquetage des gènes chez les cultures à génome complexe comme le blé tendre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abbassenne F., Bouzerzour H., Hachemi L .1998.** Phénologie et production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) en zone semi-aride d'altitude. *Ann. Agron. INA*. **18** : 24-36.
- **AMARNI A .,** –Dimanche 16 Février 2014) la production céréalière de la campagne 2012-2013 a atteint 49,1 millions /q au niveau national, en baisse de 900. q par rapport à la saison précédente. (<http://www.l'expressiondz.com/actualite/189667-les-importation-de-blé-en-hausse.html>) (30-05-2014)
- **Abeledo L.G., Savin R., Gustavo A. & Slafer. 2008.** Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *Europ. J. Agronomy*. **28**. P 541-550.
- **Ahn S., JA. Adderso, ME.Sorrells, SD.Tanksley.1993:** Homologue relationships of rice, Wheat and maize chromosomes. *Mol.Gen.Genet* **241**.483-490.
- **Ait Slimane Ait Kaki S. 2008.** Contribution à l'étude de l'interaction génotype x
- **Anonyme 02 , 2010 , consulté le 20 mai 2013. Adresse URL :**
<http://www.gni-pedagogique.org/index>
- **Anonyme 04.2010. Consulté le 03 Juin 2013 adresse URL :**
<http://www.jle.com/e-docs/00/00/EB/41/article.phtml>
- **Anonyme A, 2014.** planetoscope-Statistique : Production mondiale de blé 2014. www.planetoscope.com/.../191-production-mondiale.
- **Anonyme B. 2014.** Les récoltes de blé dans le monde par grandes zones et principaux
- **Anonyme. 2002.** Conseil international des céréales. International Grains Council. *World Grains Statistics*: p 13-17.
- **Anonyme. 2006.** Les marchés mondiaux du blé. *USDA*. http://www.agpb.com/fr/dossier/eco/marchesmondiaux_2006.pdf. (25.05.2008/11:37).
- **Anonyme. 2008.** L'Algérie couvre seulement 25 % de ses besoins en céréales. [http://www.liberte-algerie.com/edit.php?id=102098&titre=L'Algérie%20couvre%20seulement%2025%20de%20ses%20besoins%20en%20céréales](http://www.liberte-algerie.com/edit.php?id=102098&titre=L%20Algérie%20couvre%20seulement%2025%20de%20ses%20besoins%20en%20céréales)(29.10.28)
- **Anonyme. 2014.** La production dans marché mondial des céréales estimation 2013 /2014 ([http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/\(29_05_2014_14\):25](http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/(29_05_2014_14):25)).
- **Anonyme a. 2006.** Re: Avant 1830 l'algerie exportait son blé au monde entier mais 132 ans de colonialisme et apres l'algerie importe du blé, à qui la faute ? C'est clair. <http://newsgroups.derkeiler.com/pdf/Archive/Soc/soc.culture.algeria/2006-02/msg00013.pdf>. (31/05/2008/14:00).
- **Auriau P., Doussinault G., Jahier J., Lecomte C., Pierre J., Pluchard P., Rousset M.,**
- **Bahlouli F., H. Bouzerzour, A. Benmahamed, KL. Hassous. 2005:** Selection of high yielding and risk efficient durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars under semis arid conditions. *Pak.J. Agron*. **4**: 360-365

- **Bajji M 1999.** Etude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveau de résistance à la sécheresse et de variantes somaclonales sélectionnés in vitro. Thèse doctorat. Univ .Louvain.
- **Barbottin A., C. Lecomte, C.Bouchard, M. Jeuffroy. 2005.** Nitrogen Remobilization during Grain Filling in Wheat. *Crop science*45:1141–1150.
- **Belkherchouche H., FellahS., BouzerzourH., Benmahammed A ., Chellal N. 2009.** Vigueur de la croissance, translocation et rendement grain du blé dur (*Triticum durum*Desf.) sous conditions semi-arides. *Courrier du savoir*9: p17-24.
- **Benbelkacem A . 2000** Evaluation du progrès génétique chez quelque variétés de blé dur (*triticum turidum*L var *durum*) cultivées en Algérie options méditerranéennes : 6 p 105-10
- **Bonjean A et Picard E. 1990.** Les céréales à paille origine, historique, économie et sélection. Eds Nathan,p 235 .
- **Bonjean A. 2001.**Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*triticum aestivum* L.). In S.Le perchec , p. Guy , A. Fraval : Agriculture et biodiversité des plantes . Dossier de l'environnement de l'INRA , n°21 , 29-37.
- **Botstein D.,White RL. , Skolnick M., Dvies RW. 1980.** Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 32,p 314-331.
- **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. Thèse de doctorat. En Science. Université Mentouri Constantine.
- **Bousba R., Djekoun A., Duraa et Ykhlef N. 2013.** Caractérisation moléculaire et association marqueur ssr phénotype pour la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). *European Scientific Journal.* édition vol.9, No.12 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431
- **BOZZINI A.,1988 :** Origin, distribution, and production of durum wheat in the world. In *Durum: chemistry and Technology.* Etats-Unis.p 1-16 .
- **Bray E et Ziegler P. 1989.**Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology. And plant mol. Bio.,* 40:p 95-117.
- **Cattivelli et ,Bladi L p ., .crosatti N.,Di fouzo N.,StoncaM. 2002.** chromosomion region and stress related sequences involved in resistance to abiotic stress in triticeae. *plant molecular biology* ,48,649,665
- **Chaves et al. 2002** "How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth" *Ann. Bot. Water Stress* 89, 907 - 916
- **Cheftel J.C. & Cheftel H. 1992.** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments.V1. *Tec & Doc.* Paris .Lavoisier : 381 p.
- **Chellali B. 2007.** Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire.<http://www.lemaghreb.dz.com/admin/folder01/une.pdf>. (31.05.2008).
- **Clerget Y. 2011 :** Biodiversité des céréales Origine et évolution. In *La biodiversité des céréales et leur utilisation par l'homme.*Société d'Histoire

Naturelle du Pays de Montbéliard. Extrait de la vidéoconférence du Service éducatif du Muséum Cuvier de la Ville de Montbéliard « La biodiversité des céréales et leur utilisation par l'homme » publié dans le bulletin 2011 de la Société d'Histoire Naturelle du Pays de Montbéliard. p 1-16 .

- **De Vienne D., 1998.** Les marqueurs moléculaire en génétique et biotechnologies végétales, Ed, INRA ,p 195 .
- **Debiton C.2010.** Identification des critères du grain de blé (*Triticum aestivum* L.) favorables à la production de bioéthanol par l'étude d'un ensemble de cultivars et par l'analyse protéomique de lignées isogéniques waxy. Thèse.Doct. Univ, Blaise Pascal.
- **Dekkers JCM., Hospital F.2002.** The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations (Review) . Natl . Rev . genet . 3 (1), P. 22-32.
- **Demarly et Chalbi, (1991).**L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides .Paris. JohonslibbeyEurotex / Auplef-Uref , p 165.86
- **Desclaux D., Samson MF., Caron D., (2005)** : Qualité du blé dur en zone traditionnelle diagnostic en partenariat et avancées multidisciplinaires. Symposium international « *Territoires et Enjeux du Développement Régional* ». INRA-PSDR. France. p 45-69 .
- **Dvorak J., Luo MC., Yang ZL., Zhang HB. 1998.** The structure of the *Aegilopstauschii* gene pool and the evolution of hexaploid wheat. *TheorAppl Genet***97** : 657-670
- **Eaglesl HA., Bariana HS., Ogonnaya FC.,Rebetzke GJ., Hollamby GJ., Henry RJ., Henschke PH., Carter M . 2001.** Implementation of markers in Australian wheat breeding . Aust . J . Agric. Res. 52(11-12) ,p 1349-1356.
- **El-maghraby,M., Moussea .,M., . Hana N & Agrama H .2005** Combinig ability un der drought stress relative toSSR diversity in common wheat, weat Research program, Field Corpes Research Institute, A.R.C, Grisa, Egypt ; Departement of Genetic , University of Arkansas & DB Nationl Rice Research Centre, USDA, 2900 Hwy 130 E, stuttgart, AR 72160-5629 , U.S.D . ; (author for correspondence : e-mail : HAGama@ UARK.edu) . 141 : 301-303.X²
- **Eyal Z . , Scharen .A .L. , Prescott J.M. et Ginkel V.M. 1987 .** The septoria deseases of wheat . Concepts méthodes of desease management CIMMYT , Mexico, p 52
- **Feldman M., ER. Sears. 1981.** The wild gene resources of wheat. *Sci. Am.***244** : p 98–109.
- **Feldmann p., Feyt H ., 1998** L'amélioration des plantes et la production de matériel végétal. CIRAD.
- **Feliet P.2000:** le grain de blé. Composition et utilization. Ed. INRA. Paris. p 58-98 .
- **Fellah A ., Benmahammed A ., Djekon A., Bozerzour H.2002.** sélection pour améliorer la tolerance au stress abiotique chez le blé dur (*Triticum durum* desf) .actes de l'IAV , Hassan 2 (maroc) 22,161_170

- **Fisher MJ., Paton RC., Matsuno K..1998.** Intracellular signaling proteins as smart agents in parallel distributed processes.*Bio-Systems***50**: p159-171.
- **Gallais A. , Bannerot H. , 1992.** L'amélioration des espèces végétales cultivées objectifs et critères de sélection :Ed :INRA. Paris p 768 .
- **Gay G. , Kerhoas C. , Dumas C., 1986.** Micro-isoelecttric focusing of single pollen grains from Cucurbita pepo L . Electrophoresis, 7 : p 148-149
- **Goacolou J. , perdrizet E. 1988).** Les biotechnologiques au service de la production végétales. INRA
- **Godwin I. D., Aitken E.A .B.and Smith L.W .1997.** Application of intersimple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics . Electrophoresis. 18 :1524-1528.

- **Grunig Ch.R. , Sieber T. N and Holdenrieder O.2001.** Characterization of dark septate endophytic fungi (DES) using inter-simple –sequence-repeat-anchored polymerase chain reaction(ISSR-PCR) amplification. Mycol .Res. 105 :24-32.

- **Gupta PK, Varshney RK., Sharma PC., Ramesh B . 1999.** Moléculair markers and their application in wheat breeding. Plant Breed.118, p 524-390.
- **Gupta pk. , Roy JK., Prasad M . 2001.** Single nucleotide polymorphism: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants [Review]. Curr. Sc i. 80 (4), P. 524-535.
- **Harlan JR. 1971.** Agricultural origins: Centers and non Centers. *Science***174**: 468-474
- **Henry Y., BuyserJ. 2000.**L'origine du blé. *Pour la Science* **26** : p 60-62.
- **Huang et al., 2002 .**Huang, Jikun, Scott Rozelle, Carl Pray, and pays producteurs (blé tendre et blé dur). www.agpb.com/.../160-monde-donnesglobales. et-par-pays-sur-le marché dans Monde-Données.

- **Jacque-Eric Bergez ,Joel Abecassis.2009 ,**Les filières céréalières.p1.
- **Jacques-érice Berges, Joel Abecassis. 2009,** les filières céréalières. p 1.
- **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. & Brulé G. 2006.** Science des aliments : Biochimie- Microbiologie- Procédés- Produits. V2. Technologie des produits alimentaires. (éd).TEC & DOC. Paris.
- **Jones et al., 1989.**Jones H.G., Flowers T.J. & Jones M.B. 1989. Plants Under Stress. Univ. Cambridge
- **Kahl G. 2001.** The Dictionary of Gene Technologie. Weinheim. 2Institute of Biotechnology and Genetic Engineering. University of Sindh, Jamshoro, Pakistan Sindh Agriculture University, Tando Jam, Pakistan, Pak. J.Bot, 42(4) : 2443 2447

- **Kihara, H. 1944.** Discovery of the DD-analyser, one of the ancestors of *Triticumvulgare* .*Agric. Hort.*, **19**: 13-14.
- **La production dans marché mondiale des céréales estimation 2013 /2014 à** [http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/\(29-05-2014 14 :25\)](http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/(29-05-2014%2014%2025))
- **Lafton J.P , Tharaud prayer C . , et Levy G. 1998** biologie des plantes cultivée. 2 ème édition . Technique et documentation Lavoisier p : 113-134
- **Langridge P., Lagudah E ., Holton TA ., Appels R . , Sharp PJ . , Chalmers KJ . 2001.** Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. *Aust. J. Agric. Res.* 52 , 1043 -1077.
- **Le blé est une céréale aux enjeux économique très importants**, 690 millions d'hectares de céréales sont cultivés dans le monde, soit plus de 15% DE La surface agricole mondiale([http://www.passioncéréales.fr/dossier-thematique/les-c%C3%A9r%C3%A9ales-dans-le monde –en-europe-et-en-France](http://www.passioncéréales.fr/dossier-thematique/les-c%C3%A9r%C3%A9ales-dans-le-monde-en-europe-et-en-France))(27- 05 -2014).
- **Les marqueur moléculaire comme outils dans la sélection des céréales. Revue suisse agric.40 (3) : 133-138,2008**
- **Levitt J. 1980.** Responses of plants to environmental stresses. *Academic Presse*, New York.
- **Madhava Rao et al.,2006.**Madhava Rao K.V., Raghavendra A.S. & Janardhan Reddy K. 2006 . Printed in the Netherlands. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer: p 1-14 .
- **Madr.2011.** Bulletin statistiques de la campagne 2009-2010. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. P 23
magistère. Université Badji Mokhtar Annaba.
- **Margan M., t et Olivieri M. , 1993 .** PCR –amplified microsatellites as markers in plant genetic. *Plant J.* 3 (1) , p. 175-182
- **Mazouz L. 2006.** Etude de la contribution des paramètres phéno-morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticumdurumdesf.*) dans l'étage bioclimatique semi-aride. *Thèse de magister. Institut d'Agronomie, Université Colonel El Hadj Lakhdar, Batna*, 65 pages 295, 25 January 2002: p 674-677
- **Mouellef A.2010.** Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*T. durumDesf.*) au stress hydrique. *Mémoire magister Université Constantine* p 82.
- **Muller- STARCK G., Baradat P., Bergmann F., (1992) .** Genetic variation within European tree species . In : population genetic of forest trees. Adams W .T ., Strauss S.H Copses D.L ,Geriffin A .R (Eds). Kluwer Academic publishers, Dordrecht, p 23-47
- **MOULLED O., FOSSATI D., MASCHER F et SCHORI A., GUADAGNUOLO R. 2009**
- **Oh T . J ., Gorman M . , and cullis C.A .2000.** RFLP and RAPD mapping in flax (*Linum usitalissimum*). *Theor . Appl. Genet.* 101 : 590-593.

- **Orita M, Isahana H, Kanawa H , Hayashi K , Sekiya T.1989.** Detection of polymorphism of human DNA by gel electrophoresis as single- strand conformation ^polymorphisms.Proc Natl Acad Sci USA ; 86 : 2766-70.
- **Olson K.M ., Hood., Cantor C ., Doststein D., 1989.** A common language for physical mapping of the human genome . Science, 245 : 14434-1435.
- **Paran I ., Michelmore R .W.1993.** Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. Theor. Appl. Genet., 85 :985-993.
- **Parker GD ., Langridge P . 2000.** Development of STS marker linked to a major locus controlling flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.) . Mol . Bre ed .6 ,P. 169-174.
- **Pena RJ., WH. Pfeiffer. 2005.** Breeding methodologies and strategies for durum wheat quality improvement. In *Conxita, R., Nachit, M., di Fonzo, N., Araus, J.L., Pfeiffer, W.H., & Slafer, G.A. (eds.). Durum wheat breeding: current approaches and future strategies. Food product press.*663-686.
- **Plomion C. 2003.** SSR : Microsatellites, repetition de sequence simple : (Simple Sequence Repeats). Principes des techniques de biologie moléculaire ; Ed, INRA ; p 143-146.
- **Prins R., GronewaldJZ., Marais G F., Snape J W. , Koebner RMD. 2001.** AFLP and STS tagging of Lr19, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. Theor. Appl. Genet. 103 (4), p. 618-624
- **Rafalski JA. (2002a).** novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD – based approaches [Review]. PlantSci . 162(3), P . 362 –333.
- **Rafalski JA. (2002b).**Application of single nucleotide polymorphism in crop genetics [Review] .curr. Opin. Plant Biol . 5 (2),,p 94-100.
- **Reddy et al. 2011"***Coping with Stresses: Roles of Calcium- and Calcium/Calmodulin-Regulated Gene Expression"* *The Plant Cell* 23, 2010 – 2032
- **Rousset M. 1990.** Amélioration du blé tendre pour valeur d'utilisation 69 P.
- **Rothe G.M . 1449.** Electrophoresis of enzyme. Laboratory method . Springer-Verlag, Berlin Heidelberg .
- **Sakamura T., 1918.** KurzeMitteilungueber die Chromosomenzahlen und die Verwandtschaftsverhaeltnisse der TriticumArten. *Bot. Mag* ; Tokyo. **32**:151-154.
- **Santoni S., Faivre –Rampant P., Prado E. et Prat D. 2000.** Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. Cah. Agri . 9(4) : 3311-3327.
- **Saur L., Trottet M., 1992 :** Le blé tendre. In Amélioration des espèces végétales cultivées. Ed. INRA. Paris. p 22- 38 .
- **Sayoud, 2004** exploitation et synthèse des résultats d'enquêtes- 1992 -2004- projets PNUD et MERS (actualisés jusqu'en 2006)
- **Soltner D. 1998 :** Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. Sainte-Gemme-sur-Loire. Sciences et Techniques Agricoles. p 87.

- **Somers, D. J and Issac, P. 2003.** A high-density wheat microsatellite consensus map for bread wheat (*triticum aestivum* L.) .*Theoretical and Applied Genetics*, 109 :1105- 1114.
- **Timperio et al. 2008** "Proteomics applied on plant abiotic stresses: role of heat shock proteins (HSP)" *J. Proteomics* 71, 391 – 411
- **Turner NC. 1986.** Adaptation to water deficit: a changing perspective. *Aust J Plant Physiol* . **13**: 175- 90 p. utilisation. INRA. Paris. utilisation. INRA. Paris.
- **Vinocur & Altman 2005** "*Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations*" *Curr. Opin. Biotechnol* Qingfang Wang. 2002a. "Plant Biotechnology in China," *Science*, Vol.. 16, p 123 – 132
- **Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van de lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., peleman J., Kuiper M., Zabeau M. (1995).** AFLP a new technique for DNA fingerprinting. *Nucle. Acids Res.* 23,P. 4407-4414.
- **Wadley G., Martin A. 1993.** The Origins of Agriculture? A Biological Perspective and New Hypothesis. *Australian Biologist* **6**: 96-105.
- **Wadley G., Martin A. 1993.** The Origins of Agriculture? A Biological Perspective and New Hypothesis. *Australian Biologist* **6**: 96-105.
- **Wolff R.L. , Comps B., Marpeau A. M., DELUC L.G 1997.** Taxonomy of pinus species based on the seed oil fatty acid compositions. *Trees Struct . Funct.*, 12: 113, 118.
- **Williams JGK., Kubelik AR., Livak KJ., Rafaski J A., Tingey SV .1990.** DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl . Acids Res.* 18(22), p. 6531-6533.
- **Yann manès . 2005.** L'utilisation des des marqueurs moléculaires dans la sélection du blé tendre
- **Yokota A., Takahara K., Akashi K. 2006.** Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Springer: p 15-39.
- **Zietkiewicz E., Rafski A. and Labuda D. 1994.** Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)- anchored polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*. **20** :176-183.
- **Wiesner I and Wiesnerová D. 2003.** Effet of resolving medium and staining procedure on inter-simple-sequence-repeat (ISSR) patterns in cultivated flax germplasm. *Genet. Res. Crop Evol.* 50 :849-853.

Année universitaire :
2015/2016

Présenté par : ZOUAOUI IMANE

THÈME : Sélection assistée par marqueur liée aux contraintes biotiques et abiotiques chez le blé dur

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et Génétique Végétale

Résumé :

Vue l'importance du blé dur dans l'alimentation humaine dans le monde entier, l'amélioration de cette céréale est un défi continu pour les sélectionneurs, en raison des contraintes biotiques et abiotiques qui limitent sa production.

Les techniques de marquage moléculaires permettent de rendre plus rapides les opérations classiques de sélection. Un certain nombre de techniques de marquage moléculaire ont été utilisées dans le domaine de la sélection végétale dans l'objectif est de connaître le génome grâce à la réalisation des cartes génétiques par l'utilisation de différents types de marqueurs moléculaires. De telles cartes présentent une base pour identifier et localiser des gènes et des QTL (Quantitative Trait Loci) d'intérêt agronomique, dans le but d'améliorer les variétés par le biais de la sélection assistée par marqueur (SAM).

Cette étude montre que la sélection assistée par marqueurs (SSR, RFLP, AFLP, RAPD) est très exploitée dans le but d'améliorer des blés en condition de contraintes biotiques et abiotiques. Pour le blé dur, cette approche est à son début, le séquençage du génome n'est pas encore complet, vu sa grande taille.

Mots clés : Blé dur, stress biotique et abiotique, SAM, marqueur moléculaire, la tolérance, résistance.

Laboratoire de recherche : Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV).

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme BOUSBA Ratiba (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : Mlle MOUELLEF Adra (MAA- UFM Constantine)

Examineur : Mme KACEM Nadia Sandra (MAA-UFM Constantine) .

Date de soutenance : 16/06/2016

