



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
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 de Biologie et Ecologie végétale

قسم بيولوجيا و إيكولوجيا النبات

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 Végétales.

Intitulé :

Diversité Génétique et Adaptation de quelques variétés de Blé Dur
- *Triticum durum* Desf - :
Utilisation des marqueurs moléculaires

Présenté et soutenu par : **GUERAICHE Sara**

Le : 18/06/2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : M^{me}. YKHLEF Nadia , **Professeur** à UFM Constantine .
Rapporteur : M^{me}. BOUSBA Ratiba , **MCA** à UFM Constantine .
Examineur : M^{lle}. MOUELLEF Adra , **MAA** à UFM Constantine .

Année universitaire
2015 - 2016

*A la mémoire de mes grands-parents Many Aziza et Djedou Namane ,
Aussi Ta Halima et Ma Beya ,*

Je dédie ce travail à ...

Mes parents Kamel et Nedjoua ,

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et les précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il , l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude .

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie . Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit , Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi .

Mes Adorables sœurs Khaouther Ahlem et Lyna ,

Mes grands-parents , Djedou Mostefa et Bibia ,

Mes Oncles , Mes Tantes et leurs Enfants ,

Mon mari Med Amine ,

Je tiens particulièrement a te remercier de m'avoir beaucoup aidé, soutenu et accompagné

Mes beaux parents Abdelkrim et Yamna , Mes belles sœurs Ines et Maya ,

Mes Amies , Mes amies d'études , Tous mes enseignants de la spécialité BTGV .

Sara

Remerciements

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Je remercie Dieu , pour sa Bonté et sa bénédiction , les quelles ont été d'un soutien moral et une source d'inspiration et de lucidité pour l'accomplissement de mon travail .

Aussi mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux a toutes et a tous ceux qui m'ont aidé dans mon travail , m'ont soutenu et encouragé au cours de sa réalisation ,

Mon respect et ma gratitude envers :

Mon encadreur: Docteur BOUSBA Ratiba , Maitre de conférence A à l'Université des Frères Mentouri Constantine , Pour sa clairvoyance , soutien , Assistance , sens de la responsabilité et niveau aiguisé d'encadrement scientifique qui ont été d'un apport considérable dans mon approche du sujet et son traitement . Je ne vous remercierais jamais assez Madame .

Madame la présidente du jury : YKHLLEF Nadia , Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine , pour ses orientations , enseignements , conseils et enrichissement de mon parcours d'étude et initiation la recherche scientifique .

Mademoiselle : MOUELLEF Adra , Maitre Assistante A à l'Université des Frères Mentouri Constantine , membre du jury Examineur pour le temps consacré pour examiner ce modeste travail .

Monsieur: DJEKOUN Abdelhamid , Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine et Directeur du Laboratoire Biotechnologies et Amélioration des plantes .

Mes Enseignants de la spécialité Biotechnologie et Génomique Végétale pour leurs pertinence, patience et disponibilité en qualité d'enseignants d'une abnégation inouïe .

Ma reconnaissance particulièrement , à Monsieur BELBEKRI Nadir , Madame BOULDJEJ Ryma et Chafika , Ingénieurs au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales, pour leur soutien moral et technique , disponibilité et dynamisme .

Mes remerciements Enfin a tout le staff pédagogique et administratif de notre Département .

Résumé

L'étude présente porte sur l'évaluation de la diversité génétique par quinze amorces de marqueurs RAPD de six génotypes de Blé dur (*Triticum durum* Desf.) d'origines locales et introduites.

Un total de bandes amplifiées de cent soixante neuf a été noté, dont cent vingt quatre bandes polymorphes, donc soixante quatorze pour cent. Le nombre total de bandes amplifiées par amorce est de deux bandes chez l'amorce OPJ-06 à quinze bandes chez les amorces OPE-13 et OPB-01 avec une moyenne de onze bandes par amorce. Les valeurs du coefficient de similarité varient de 0.69 à 0.80 avec une moyenne de 0.75, indiquant une variabilité entre les variétés.

Les six génotypes de blé ont été groupés dans cinq classes selon une classification ascendante hiérarchique, les deux variétés introduites GTA x DUR et KORIFFLA x SHAM sont dans la même classe, mais la variété améliorée WAHA de l'ICARDA est classée seule. De même pour les variétés locales, les variétés BIDI-17 et CIRTA sont regroupées à l'exception de la variété TELL. L'analyse en composantes principales a groupé les six génotypes dans quatre classes au lieu de cinq, ou les variétés locales BIDI-17 et CIRTA sont classées ensemble.

Les variétés locales présentent un nombre d'allèles élevé par rapport au nombre d'allèles présents chez les variétés introduites.

Mots clés : Blé dur, stress abiotique, marqueurs moléculaires, adaptation, diversité génétique, RAPD.

Summary

The present study focuses on the assessment of genetic diversity by means of fifteen Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) of six genotypes of Durum wheat (*Triticum durum*. Desf) , from local and introduced origins .

A total number of amplified bands One hundred and sixty nine was noted in which one hundred twenty four polymorphic bands , So seventy four percent . The total number of bands amplified by primer begins from two bands at primer OPJ-06 to fifteen bands in primers OPE-13 and OPB-01 , with an average of eleven bands per primer. The values of the similarity coefficient range from 0.69 to 0.80 with an average of 0.75, indicating a variation between varieties.

The Six wheat genotypes were grouped into five classes according to a hierarchical clustering . The two introduced varieties GTAxDUR and KORIFFLAxSHAM are in the same class , but the improved variety WAHA from ICARDA is classified alone. Similarly for local varieties, the BIDI-17 and CIRTA varieties are grouped with the exception of the TELL variety. The Analysis of the CPA grouped the six genotypes in four classes instead of five , where landraces BIDI-17 and CIRTA are classified together.

Local varieties have a high number of alleles compared to the number of alleles present in the introduced varieties ,

Keywords : Durum wheat , Abiotic stress , molecular markers , Adaptation , Genetic diversity , RAPD.

ملخص

تقوم هذه الدراسة على تقييم التنوع الوراثي عبر استعمال خمسة عشر واسمة جزيئية RAPD لستة تراكيب وراثية من القمح الصلب ، من اصول محلية و غير محلية .

تم تسجيل مجموع للأشرطة المضخمة يقدر بمائة و ستة و تسعون شريط ، منها مائة و أربعة و عشرون شريط متعدد الأليلات ، ما يمثل أربعة و سبعون بالمائة . مجموع الأشرطة المضخمة الكلي في الواسمة الجزيئية هو من شريطين عند الواسمة OPJ-06 حتى خمسة عشر شريط عند الواسمتين OPB-01 , OPE-13 ، مع معدل إحدى عشر شريط للواسمة . قيم معامل التشابه تتغير من 0.69 إلى 0.80 مع معدل 0.75 ، موضحا تباين ما بين أصناف القمح المدروسة.

التراكيب الوراثية الستة للقمح تم تشكيلها في خمسة مجموعات حسب المجموعات الهرمية CAH ، أين الصنفين غير المحليين GTAxDUR و KORIFFLAXSHAM هما في نفس المجموعة ، و لكن الصنف المحسن WAHA صنف وحده . نفس الشيء بالنسبة للأصناف المحلية BIDI-17 و CIRTA ، تم تشكيلهم في مجموعة واحدة بإستثناء الصنف TELL . تحليل المكون الرئيسي ACP قام بتشكيل التراكيب الوراثية الستة في أربعة مجموعات عوضا عن خمسة ، أين الأصناف المحلية BIDI-17 و CIRTA صنفا في نفس المجموعة .

الأصناف المحلية تبين عدد أليلات مرتفع بالمقارنة مع عدد الأليلات عند الأصناف غير المحلية .

الكلمات المفتاحية : القمح القاسي، ظروف المحيط ، الواسمات الجزيئية ، الناقل ، التنوع الوراثي ، RAPD .

Liste des figures

- **Figure 01** : Lieux d'origine et diffusion de *Triticum monococcum* à travers le monde03
- **Figure 02** : Anatomie du grain de Blé04
- **Figure 03** : Origine génétique du blé dur (*Triticum durum* Desf.)04
- **Figure 04** : Bulletin de la FAO sur l'offre et la demande du blé (FAO 2016).....06
- **Figure 05** : Profils électro-phorétiques des principaux types de marqueurs moléculaires.....15
- **Figure 06** : Polymorphisme d'un simple nucléotide entre deux séquences homologues.....17
- **Figure 07** : Caractéristiques des principaux types de marqueurs moléculaires.....18
- **Figure 08** : Schéma représentant du principe des marqueurs moléculaires RAPD.....20
- **Figure 09** : Electrophorèse sur gel d'agarose a 0.8% , 30mn a 100 V pour vérification de la qualité de l'ADNg extrait36
- **Figure 10** : Profil électro phorétique du gel d'agarose a 2% ,130V , de 132 a 174 mA pendant 2h15mn des produits PCR38
- **Figure 11** : Profil électro phorétique du gel d'agarose a 2% ,130V , de 132 a 174 mA pendant 2h15mn des produits PCR39
- **Figure 12** : Profil électro phorétique du gel d'agarose a 2% ,130V , de 120 a 165 mA pendant 2h30mn des produits PCR40
- **Figure 13** : Dendrogramme d'analyse de similarité pour les six variétés de blé dur étudiées obtenu par les Marqueurs RAPD44
- **Figure 14** : Dendrogramme montrant les classes des six variétés de blé dur étudiées obtenu par analyse des Marqueurs RAPD45
- **Figure 15** : Diagramme des niveaux des nœuds pour les génotypes étudiés.....47
- **Figure 16** : Histogramme des Valeurs propres et pourcentages de la variabilité cumulé.....48
- **Figure 17** : Analyse des composantes principales des six variétés étudiées.....50
- **Figure 18** : Contribution des Amorce RAPD pour les six variétés.....51

Liste des Images

- **Image 01** : Les variétés BIDI-17 , CIRTA et WAHA.....26
- **Image 02** : Les variétés GTA DUR , KORIFLA SHAM et TELL.....26
- **Image 03** : Incubateur avec agitation *Stuart*28
- **Image 04** : Pré-germination des graines des six variétés étudiées.....29
- **Image 05** : Culture Hydroponique des graines pré-germées dans la chambre de culture.....30
- **Image 06** : Culture dans le Sol des graines de blé dur.....30
- **Image 07** : Etapes de l'Extraction de l'ADNg des six génotypes étudiés au CTAB.....32
- **Image 08** : Dépôt d'un échantillon sur Nano drope.....33

- **Image 09** : Dépôt des échantillons sur gel.....33
- **Image 10** : Migration des échantillons par électrophorèse sur gel d'agarose 0.8%, 30 mn a 100V34
- **Image 11** : Electrophorèse sur gel d'Agarose à 2% pendant 2h , a 135 V et de 140 a 173 mA , des produits PCR35
- **Image 12** : Protocole de préparation du gel d'électrophorèse36

Liste des Tableaux

- **Tableau 01** : Le marché mondial du blé (FAO 2016)07
- **Tableau 02** : Les qualités d'un Marqueur RAPD21
- **Tableau 03** : Principales utilisations des Marqueurs RAPD22
- **Tableau 04** : Origines des variétés étudiées de blé dur27
- **Tableau 05** : Amorces Arbitraires utilisées dans les réactions PCR-RAPD34
- **Tableau 06** : Liste des Amorces RAPD utilisées avec leurs séquences , la taille des bandes amplifiées (TB pb) , le nombre total de bandes obtenus (n) , le nombre de bandes monomorphes (bm) , le nombre de bandes polymorphes (bp) , le pourcentage de polymorphisme (P%) , la moyenne majeure de la fréquence d'allèle (fA) , ainsi que le contenu de l'information polymorphe (PIC)42
- **Tableau 07** : Matrice de similarité des variétés de blé dur par classes46
- **Tableau 08** : Statistiques des Nœuds47
- **Tableau 09** : Valeur propre et pourcentage de variabilité cumulé sur les cinq axes48
- **Tableau 10** : Pourcentages des contributions de chaque variété sur les différents facteurs.....49

Listes des Annexes

- **Annexe 01** : Le Milieu de culture BD utilisé en culture Hydroponique pour 5 L volume final .
- **Annexe 02** : Marqueur de taille 100 pb (Biomatik DNA ladder , Quantitative , ready to use) .
- **Annexe 03** : Marqueur de taille 1 Kb (O'Gene Ruler DNA ladder , ready to use) .
- **Annexe 04** : Cosinus carrés des six génotypes étudiés .

Liste des Abréviations

- **A** : Amorce RAPD
- **A1** : Amorce OPG-09
- **A10** : Amorce OPA-20
- **A11** : Amorce OPH-20
- **A12** : Amorce OPJ-06
- **A13** : Amorce OPA-10
- **A14** : Amorce OPA-13
- **A15** : Amorce OPB-01
- **A2** : Amorce OPF-20
- **A3** : Amorce OPA-17
- **A4** : Amorce OPC-05
- **A5** : Amorce OPE-13
- **A6** : Amorce OPO-03
- **A7** : Amorce OPO-05
- **A8** : Amorce OPO-06
- **A9** : Amorce B-19
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **ADNg** : ADN génomique
- **ADNc** : ADN complémentaire
- **BD** : Solution nutritive de Broughton et Dillworth
- **BET** : Bromure d'Ethidium
- **CIMMYT** : International Maize and Wheat Improvement.
- **FAO** : Organisation mondiale de l'Agriculture et de l'Alimentation
- **H2O up** : Eau distillée stérile ultra pure
- **ha** : Hectare.
- **I.T.G.C.** : Institut technique des grandes cultures.
- **ICARDA** : International Center for Agricultural Research in Dry Areas.
- **M1** : Marqueur de taille 100 pb
- **M2** : Marqueur de taille 1 Kb
- **mA** : Milli Ampère
- **Mix** : Mix réactionnel de la PCR
- **Ng/µl** : Nano gramme/microlitre
- **PCR** : Polymerase Chain Reaction
- **qx** : Quintaux.
- **R** : Répétition
- **RAPD** : random amplified polymorphic DNA
- **RNase** : Ribonucléase

- **TBE 1X** : tampon de migration utilisé en électrophorèse (Tris , borate , EDTA)
- **V1** : Variété BIDI 17
- **V2** : Variété CIRTA
- **V3** : Variété WAHA
- **V4** : Variété GTAxDUR
- **V5** : Variété SHAMxKORIFFLA
- **V6** : Variété TELL

Sommaire

Introduction générale : Objectifs et contexte du travail.....	1
--	---

Premier Chapitre : Synthèse Bibliographique

I.	Historique , Classification et Importance du Blé Dur	3
1.	Classification du Blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf)	3
2.	Importance et Intérêt des Blés dur.....	4
2.1.	En Algérie.....	5
2.2.	Dans le Monde.....	5
II.	Contraintes Abiotiques et leurs effets sur la plante	7
1.	L'éclairement	7
2.	Le stress Hydrique	8
2.1.	Définition du stress Hydrique (Notion de la Sécheresse)	8
2.2.	Effets du stress Hydrique sur le végétal	9
3.	Le stress Thermique.....	10
3.1.	Définition du stress Thermique.....	10
3.2.	Effets du stress Thermique sur le végétal.....	10
a.	Les basses températures.....	11
b.	Les températures élevées.....	11
4.	Les Mécanismes d'adaptation aux stress	12
4.1.	Adaptation moléculaire	12
III.	Marqueurs moléculaires	13
1.	Le principe du marquage moléculaire.....	13
a.	Spécificité du Locus	13
b.	Spécificité d'Allèle	14
1.1.	Que ce qu'un Marqueur Moléculaire ?	14
1.2.	Principaux types de Marqueurs Moléculaires.....	14
a.	Les marqueurs RFLP Détectables par la technique de Southern	15
b.	Les marqueurs Mono locus et Multi locus détectables par la PCR	16
1.3.	Qualités d'un Bon Marqueur Moléculaire.....	18
2.	La technique RAPD.....	19

2.1. Le principe de la technique.....	19
2.2. Le polymorphisme RAPD.....	20
2.3. Les qualités des marqueurs RAPD.....	20
2.4. Les principales utilisations des marqueurs RAPD.....	21
IV. Diversité génétique et Adaptation	22
1. Définition de la diversité génétique.....	22
2. Quels risques liés à l'uniformité des variétés ?	23
3. Relation entre la diversité génétique et l'adaptation des différentes variétés aux contraintes de l'Environnement	24
4. Méthodes de mesure de la variabilité génétique	25
a. Le polymorphisme Morphologique	25
b. Le polymorphisme des Protéines : Les Allozymes	25
c. Le polymorphisme de l'ADN :Les marqueurs moléculaires	25

Deuxième Chapitre : Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal	26
II. Mise en place de l'essai	27
1. Le gonflement	28
2. La Pré germination	28
3. Le repiquage	29
III. Caractérisation moléculaire	31
1. L'extraction de l'ADN génomique.....	31
2. La Quantification de l'ADN et le contrôle de qualité.....	33
a. A l'aide du Nano drope	32
b. Par électrophorèse sur gel d'Agarose	32
3. Les amorces RAPD utilisées	34
4. Les réactions d'amplification.....	35
5. La Vérification des produits PCR et Visualisation des Résultats	35
6. L'Analyse statistique des Données.....	37

Troisième Chapitre : Résultats et Discussions

1. L'électrophorèse et la PCR : Analyse moléculaire par marqueurs	38
a. Le Polymorphisme détecté par les marqueurs RAPD	38
b. La diversité moléculaire	40
2. Le contenu de l'information polymorphe (PIC)	41

a. La richesse Allélique	41
3. La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)	43
4. L'Analyse des composantes principales (ACP)	47
Conclusion générale	52

Références bibliographiques

Annexes

Introduction générale

Objectifs et contexte du travail

Introduction

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins. La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole en Algérie ses produits occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. (Djermoun. A , 2009). Cette caractéristique est perçue d'une manière claire à travers toutes les phases de la filière. Les céréales, et particulièrement les blés dur font parties des plus importantes cultures du Nord de l'Algérie. (Anonyme , 2016)

Aussi , La céréaliculture occupe à l'échelle mondiale , une place primordiale dans les programmes de recherches agricoles, une priorité que la situation de l'Algérie exige, en particulier pour le blé dur et l'orge. Ces cultures constituent près de 80% de la nutrition humaine et animale et sont considérées socio économiquement comme cultures stratégiques du pays. (Mebrek. N *et al.* , 2009)

Néanmoins, la production nationale de céréales reste nettement en deçà des besoins du pays en raison surtout des contraintes d'ordre hydrique. En plus, la productivité de la céréaliculture risque d'être affectée à l'avenir sous l'effet des changements climatiques et la diminution possible des ressources en eau disponibles. (Smadhi. D , Zella. L , 2012)

Ainsi, Le changement climatique, l'épuisement des ressources naturelles et la stagnation des rendements de céréales menacent la sécurité alimentaire mondiale.

La demande mondiale de maïs, riz et blé devrait augmenter de 33 pourcent d'ici 2050. (FAO. B, 2015) . Par contre, un tiers des terres agricoles est dégradé et l'accès à l'eau pour l'agriculture est en baisse. La production de céréales est encore plus limitée par un rendement décroissant de l'agriculture intense et par les effets potentiellement catastrophiques du changement climatique. (FAO. A, 2015)

Pour cela, Plusieurs techniques ont été utilisées afin d'étudier la diversité génétique , l'amélioration et la sélection de nouvelles variétés productives et qui s'adaptent dans les conditions de cultures (Nielsen. N, *et al.* , 2014)

Viens le développement des marqueurs moléculaires durant ces dernières années offrant la possibilité d'établir de nouvelles approches pour améliorer les stratégies de sélection. Ces derniers deviennent un outil essentiel dans les programmes de sélection du

blé tendre ou dur , pour les résistances aux différents stress Abiotiques et contraintes climatiques (stress Hydrique...) en donnant des solutions alternatives aux problèmes inhérents à l'utilisation des marqueurs phénotypiques traditionnels (Bhourikhila. S, *et al.* , 2015) . Diverses techniques basées sur des empreintes ADN ont été utilisées pour mettre en évidence l'existence de différents allèles pour un locus donné chez le blé . Parmi eux L'AFLP , RAPD , RFLP , SSR , ISSR et SNP, et ont fournies des génotypages efficaces . (Nielsen. N, *et al.* , 2014)

La technique RAPD , est une Technique simple, rapide et ne nécessite ni marquage radioactif ni connaissance préalable de la séquence nucléotidique, sauf que sa reproductibilité est moyenne comme elle est très sensible à la concentration de l'ADN et aux conditions d'amplification. (Najimi. B, *et al.* , 2003) Cette approche consiste a rechercher des liaisons entre le marqueur et le comportement en conditions limitatives , on peut ainsi chercher une corrélation entre le polymorphisme RAPD observé entre les différents génotypes face au stress et leur comportement adaptatif . (Naville. M, 2005)

Les études qui suivent ont été menées au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie végétale , équipe 2, de biotechnologie et Amélioration des Plantes de la faculté des sciences de la nature et de la vie , Département de biologie et Ecologie Végétale à l'université des Frères Mentouri – Constantine .

Ce travail sera divisé en trois parties, La première est consacrée aux données bibliographiques, qui s'articulent autour de quelques informations sur le blé dur , Intérêts des Blés en Algérie et dans le monde ,les stress et leur effets sur la culture des blés (changements climatique , le stress hydrique, etc.), la diversité génétique , l'adaptation du végétal et les marqueurs moléculaires (RAPD) et leurs applications . La deuxième partie décrit le matériel végétal utilisé (les variétés de blé dur) et les méthodes empruntées (Le protocole expérimental) . La présentation et la discussion des résultats ainsi que la conclusion sont données dans la troisième partie et seront la base pour tenter d'établir d'éventuels liens entre la diversité génétique du végétal et son adaptation a des conditions défavorables .

Premier Chapitre

Synthèse Bibliographique

I. Historique , Classification et Importance du Blé Dur

La domestication du blé diploïde s'est produite dans le nord du croissant fertile au Proche Orient zone couvrant la Palestine, la Syrie, l'Irak et une grande partie de l'Iran (Figure n° 01) . Le blé tétraploïde a été domestiqué dans le bassin du Jourdain, plus au sud . Le blé tétraploïde s'est diversifié dans les centres secondaires représentés par les plateaux éthiopiens, le bassin méditerranéen et la Transcaucasie . (Levy. A , et Feldman. M , 2002)

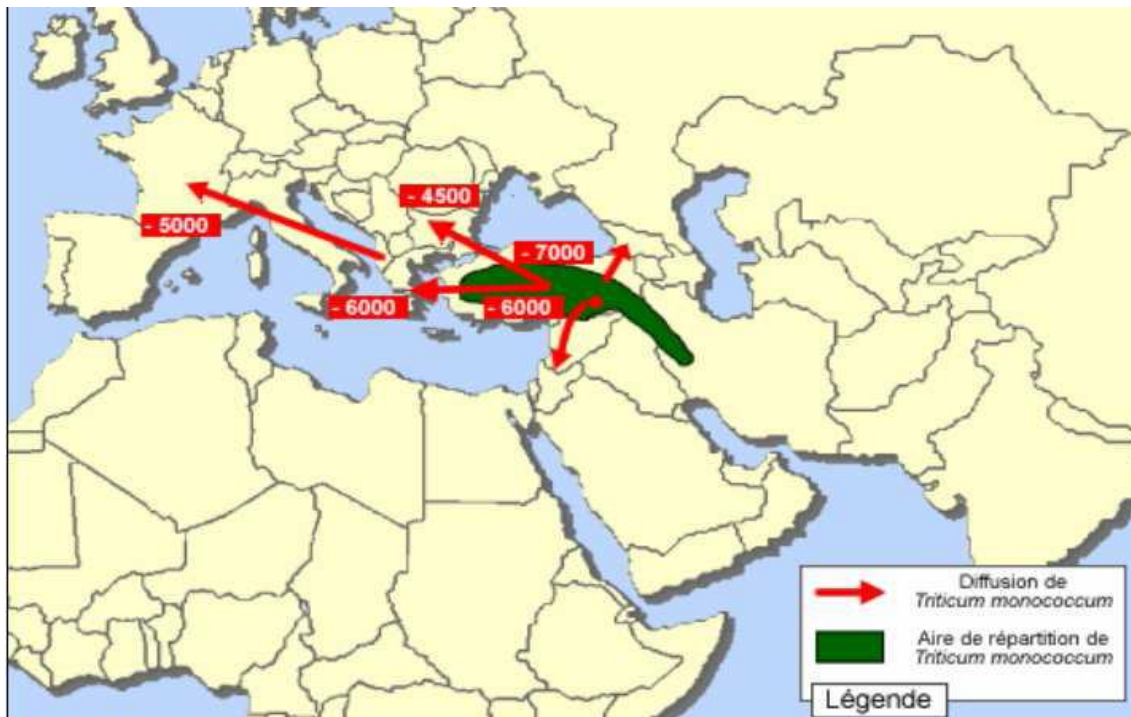


Figure 01 : Lieux d'origine et diffusion de *Triticum monococcum* à travers le monde

1. Classification du Blé dur (*Triticum durum* Desf)

Le blé , cette céréale du genre *Triticum* et plante annuelle de la famille des graminées ou Poacées de hauteur moyenne et dont le limbe des feuilles est aplati., cultivée dans de très nombreux pays , est une monocotylédone qui fait partie des trois grandes céréales avec le maïs et le riz. Les deux espèces les plus cultivées sont le blé dur (*Triticum durum*) et le blé tendre (*Triticum aestivum*) . (Levy. A , et Feldman. M , 2002)

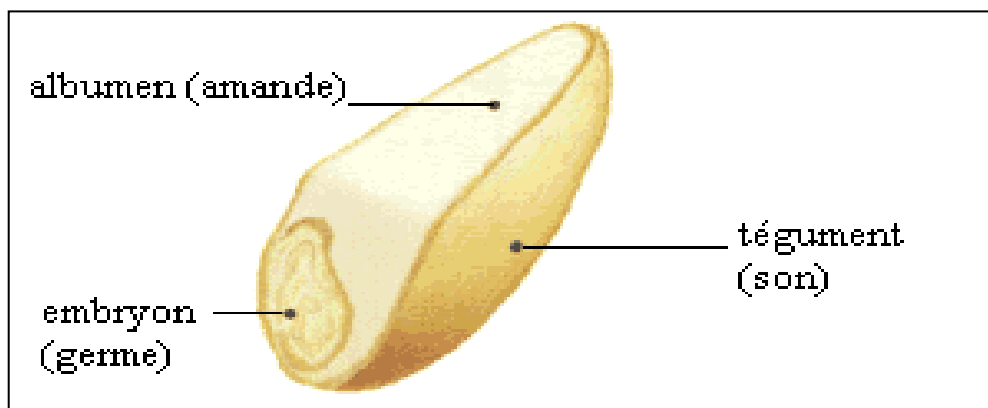


Figure 02 : Anatomie du grain de Blé

Le blé a grain glacé, appelé ainsi en raison de la dureté de son grain , est une espèce connue depuis des siècles et appartient au groupe tétraploïde, du genre *Triticum* qui comprend de nombreuses espèces. Son origine génétique remonte au croisement entre deux espèces ancestrales *Triticum monococcum* et une graminée sauvage du nom *Aegilops sépaloïdes* . Le nombre chromosomique de base est de $2n = 4x = 28$, celui hérité du genre *Triticum monococcum* ou l'Engrain est désigné par A , et celui dérivé de l'*Aegilops* est dénommé B, de sorte que *Triticum durum* a une garniture chromosomique désignée par AB (Figure n° 03) . (Huang. L , *et al.*, 2003)

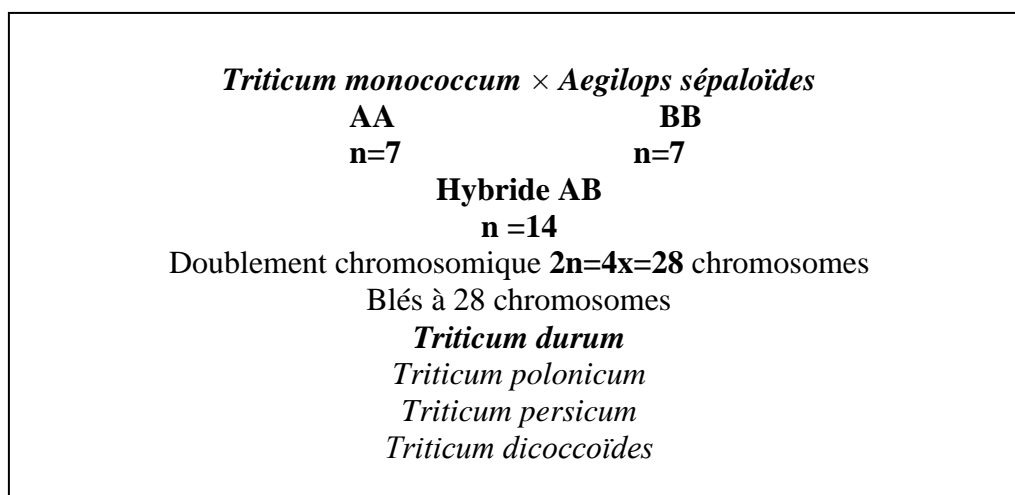


Figure 03 : Origine génétique du blé dur (*Triticum durum* Desf.)
(Croston et Williams, 1981)

2. Importance et Intérêt des Blés dur

Le *Triticum durum* Desf. occupe une importante place parmi les céréales dans le monde. Le grain du blé dur sert à la production de pâtes alimentaires, du couscous, et à bien d'autres mets comme le pain . 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. F, *et al.*, 2005)

Le blé dur à une grande valeur nutritionnelle, suite à sa richesse en protéines et la présence du gluten, qui donne aux pâtes alimentaires un meilleur terme à la cuisson , il renferme en plus d'acides aminées, des lipides, des glucides, quelques sels minéraux et des vitamines (Pena et Pfeiffer, 2005) . Donc c'est l'une des principales ressources alimentaires de l'humanité .

2.1. En Algérie

La céréaliculture constitue en Algérie la principale activité, et le blé dur occupe une place centrale dans l'économie Algérienne . Il couvre la moitié de la surface consacrés à cette activité (Mazouz. L , 2006). La production algérienne de blé dur est très instable d'une année à l'autre à cause des conditions climatiques très variables (irrégularités des pluies, sécheresse...etc).

Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien, et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. (FAO. B, 2015) .Si la production nationale de blé à dépassée la barre d'un million de tonnes plusieurs fois depuis l'indépendance, elle demeure tout de même loin du niveau réel de la consommation qui a augmentée progressivement avec la croissance démographique. En effet, la production n'a guerre évoluée en fonction des besoins . (FAO. A, 2015)

La production céréalière en Algérie est fortement dépendante des conditions climatiques. Cela se traduit d'une année à l'autre par des variations importantes de la surface agricole utile , de la production et du rendement. Ainsi, le manque de précipitations, mais aussi la mauvaise répartition des pluies pendant l'année expliquent en grande partie la forte variation de la production céréalière. (Mazouz. L , 2006)

2.2. Dans le Monde

Des récoltes plus abondantes que prévues, des stocks importants et la forte concurrence pour les exportations continuent d'exercer une pression à la baisse sur les prix internationaux du blé. En dépit de l'abondance des disponibilités à l'exportation et de la faiblesse des prix, le commerce de blé devrait se contracter par rapport à la précédente

campagne, tandis que les stocks mondiaux pourraient atteindre leur plus haut niveau depuis 13 ans. (FAO. B, 2015)

Selon les dernières prévisions, la production mondiale de blé en 2015 devrait atteindre un niveau record de sept cent trente cinq millions de tonnes, soit près de Deux millions de tonnes de plus qu'en 2014, en raison principalement d'une production accrue en Australie, en Chine, au Maroc, en Turquie, en Ukraine et aux États-Unis . (FAO. A, 2015)

L'utilisation totale de blé en 2015/16 est estimée à environ Sept cent vingt sept millions de tonnes, soit deux pour cent de plus qu'en 2014/15. L'utilisation fourragère devrait croître d'environ quatre pour cent et atteindre ainsi cent quarante quatre millions de tonnes, principalement soutenue par une demande accrue en Asie en Amérique du Nord et aux États-Unis . (FAO. A, 2015)

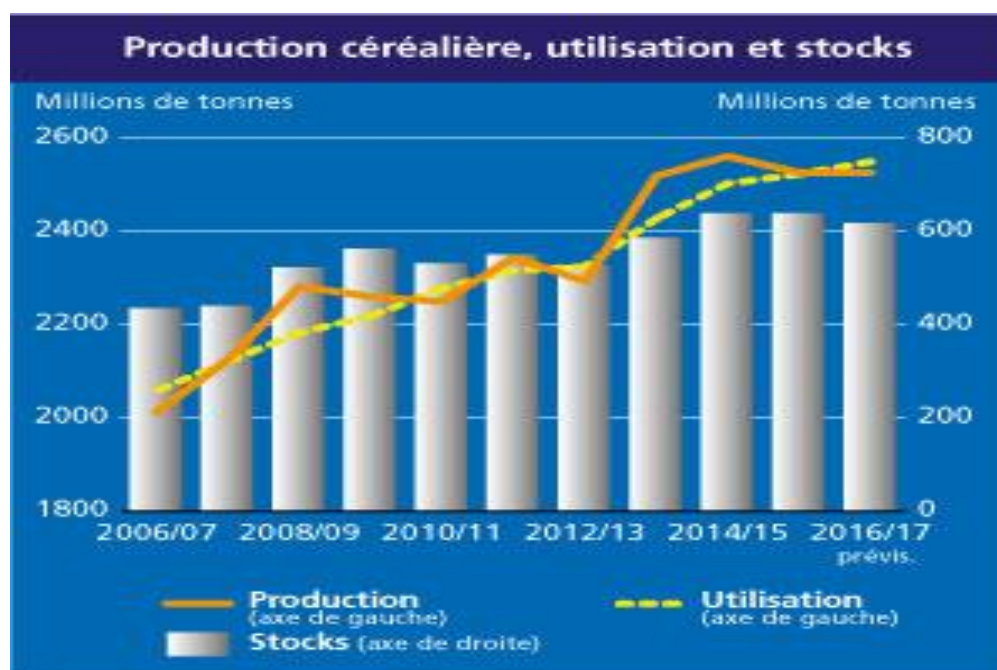


Figure 04 : Bulletin de la FAO sur l'offre et la demande du blé (FAO 2016)

Les stocks mondiaux, à la clôture des campagnes de 2016 (Tableau n°01) , devraient atteindre leur plus haut niveau depuis treize ans. Sur la base des prévisions actuelles, le rapport stocks mondiaux-utilisation en 2015/16 devrait s'établir à vingt neuf pour cent, son plus haut niveau depuis 2011/12. L'UE, la Fédération de Russie et les États-Unis font partie des pays où les réserves devraient croître le plus. En revanche, au Canada,

où la production a fortement reculé cette année, les stocks de clôture devraient se réduire à leur plus bas niveau historique. (FAO. B, 2015)

Tableau 01 : Le marché mondial du blé (FAO 2016)

Marché mondial du blé						
	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16 estimation	2016/17 prévision	
					précédente (07 avr 2016)	dernière (05 mai 2016)
<i>(..... millions de tonnes)</i>						
Production¹	655.1	710.8	729.5	732.9	712.7	716.9
Disponibilités²	850.6	882.5	910.8	931.9	917.2	920.2
Utilisation	683.4	692.1	711.3	723.4	722.8	724.1
Commerce³	143.0	156.5	155.6	153.0	153.0	154.0
Stocks de clôture⁴	171.7	181.4	199.0	203.3	193.7	195.2
<i>(..... pour cent)</i>						
Rapport stocks mondiaux- utilisation	24.8	25.5	27.5	28.1	26.0	26.2
Rapport stocks des princi- paux exportateurs- utiliza- tion totale⁵	14.1	14.1	16.6	18.2	17.2	18.2

II. Contraintes Abiotiques et leurs effets sur la plante

L'amélioration génétique du blé dur des zones sèches reste basée sur la recherche d'une meilleure tolérance aux stress abiotiques, pour adapter la plante à la variabilité du milieu de production . Sous les conditions agro climatiques de culture, le matériel végétal subit tout au long de son cycle, de nombreuses contraintes qui influent de manière variable sur le potentiel de production. La variation des rendements des céréales des zones semi arides tire son origine en grande partie des effets de ces contraintes abiotiques .

1. L'éclairement

La lumière est la source d'énergie qui permet à la plante de décomposer le CO2 atmosphérique pour en assimiler le carbone et réaliser la photosynthèse des glucides. La lumière est donc un facteur climatique essentiel et nécessaire pour la photosynthèse .

Néanmoins, elle peut devenir une source de stress par son intensité, éclairement trop faible ou trop élevé, conduisant à des phénomènes de photosensibilisation dangereux pour la plante (Leclerc, 1988). Sous les conditions de cultures des hautes plaines, c'est

l'excès de l'éclairement qui est un stress, conduisant à la photo inhibition des centres réducteurs des photosystèmes (Ykhlef, 2001).

2. Le stress Hydrique

L'eau constitue le milieu interne des plantes. C'est une véritable matrice vitale du fonctionnement cellulaire. A l'exception des grains mûrs, les différents organes de la plante renferment entre 80 et 90 % d'eau d'imbibition. Cette eau est nécessaire au fonctionnement de la plante. L'eau d'imbibition qui s'évapore suite à la transpiration est renouvelée en permanence par l'eau absorbée par les racines. Lorsque l'absorption ne peut satisfaire la demande de la transpiration, alors le stress hydrique s'installe (Levitt, 1980).

Les besoins en eau du blé atteignent des valeurs très importantes, au regard des quantités de pluies que reçoit l'étage bioclimatique semi-aride. Ces besoins sont fonction du type de variétés, et varient de 450 à 600 mm. Sous conduite pluviale et sur les hautes plaines orientales, ces besoins sont rarement satisfaits suite à la faiblesse et à l'irrégularité des pluies (Baldy *et al.*, 1993). La phase critique pour l'eau débute avec le stade gonflement et se termine vingt jours après l'épiaison, date de réalisation du palier hydrique (Oweiss *et al.*, 1998).

Le régime des pluies méditerranéennes est très irrégulier dans l'espace et le temps. L'efficacité de ces pluies pour la céréale dépend fortement des techniques culturales appliquées, des caractéristiques hydrodynamiques des sols et du rythme de développement de la variété cultivée (Kribaa, 2002). La fréquence des événements pluvieux tend à décroître à partir du mois d'avril, alors que la température devient de plus en plus forte. (Mekhlouf *et al.*, 2006).

2.1. Définition du stress Hydrique (Notion de la Sécheresse)

Le terme général de sécheresse recouvre des notions différentes. Nous distinguerons un manque d'eau ponctuel (sécheresse) d'un déficit en eau structurel (aridité). L'aridité est un déficit systématique de pluviométrie. (Bousba *et al.*, 2012)

La notion de stress hydrique a toujours été assimilée à la notion de sécheresse qui est défini par l'état de pénurie hydrique dont souffre la culture. Il y'a sécheresse dès lors que l'eau devient facteur limitant de la croissance et du rendement. (Bousba *et al.*, 2012)

Le stress hydrique se rencontre en période de sécheresse mais aussi par augmentation de la salinité du milieu ou en période de froid (Bousba *et al.* , 2009). D'un point de vue physique, le stress hydrique résulte d'un abaissement du potentiel hydrique de la plante en dessous d'une certaine valeur dépendante du génotype et des caractéristiques du milieu, il constitue enfin le principal facteur limitant la croissance et les rendements des céréales (Turner, 1986). Le terme de déficit hydrique se rapporte à l'état physiologique de la plante lorsque les conditions d'eau sont défavorables à la croissance optimum . (Bousba *et al.*, 2012)

Différents éléments quantitatifs la caractérise : la durée (sécheresse intermittente ou prolongée), la période d'occurrence, l'extension géographique, la dynamique de mise en place (brutale ou progressive) et l'époque d'apparition par rapport au cycle cultural. Ainsi lorsqu'on s'intéresse aux cultures de nos régions, une sécheresse correspond à un déficit en eau du sol et/ou de l'air entraînant au niveau de la plante entière une diminution de la quantité d'eau absorbée par la plante par comparaison avec la quantité d'eau évaporée . (Bousba *et al.* , 2010)

Cette différence entre l'eau absorbée et l'évaporation se caractérise par une diminution du rendement qui serait attendu en situation favorable ou de la qualité des produits récoltés (Voltas *et al.*, 1999) .

2.2.Effets du stress Hydrique sur le végétal

Selon le stade végétatif où il survient, le stress hydrique affecte différemment la plante. Au stade montaison, il provoque un arrêt de croissance des tiges. Il s'ensuit une diminution du nombre de talles fertiles dont la conséquence est une réduction du nombre de grains /m². Au stade floraison, c'est la destruction des organes floraux qui prédomine et au cours de remplissage du grain, il y a une diminution du niveau et de la durée du pallier hydrique, dont la conséquence est une chute de poids moyen du grain (Triboi *et al.*, 1985).

La croissance des plantes est contrôlée directement par le déficit hydrique du sol Car il réduit la croissance des jeunes pousses , la division cellulaire, la taille des feuilles, leur surface verte et la teneur en eau de tous les organes de la plante . Le stress hydrique diminue l'indice foliaire et la durée de vie de la feuille . (Levitt, 1980) . Au niveau de la plante de nombreuses modifications physiologiques sont provoquées par la sécheresse comme l'augmentation du taux d'acide Abscisique, l'activité photosynthétique, la fermeture

des stomates, l'ajustement osmotique et l'accumulation de solutés comme la proline et les sucres solubles ...etc . (Levitt, 1980)

Un déficit hydrique s'accompagne en plus de la perte de turgescence des cellules, d'une fermeture des stomates qui est une réponse automatique dont le but est de minimiser les pertes d'eau par transpiration . (Triboi *et al.*, 1985)

Chez les céréales, le rendement en grains dépend du génotype, de l'environnement et de la disponibilité en éléments minéraux du sol . Le déficit hydrique, de nature intermittente, est une des principales causes des pertes de rendement du blé dur, pouvant aller jusqu'au sinistre total. Il affecte toutes les composantes du rendement et en particulier le nombre de grains par épi et le poids moyen du grain (Bousba *et al.* , 2012)

Le stress perçu par une plante, autrement dit le niveau de tension interne, dépend de la résistance de l'organisme à un type de stress appliqué avec une certaine intensité. En plus du type de stress et de son intensité (Levitt, 1980), il faut également considérer que le degré de sensibilité au déficit hydrique dépend du stade de développement de la plante et de la durée du stress. En effet, même si l'intensité d'un stress est trop faible pour provoquer des dommages irréversibles à court terme, à long terme, ce stress peut provoquer des changements, voire la mort de l'organisme (Levitt, 1980). Le déficit hydrique apparaît en premier lieu dans les feuilles et s'étend vers la tige et les racines.

3. Le stress Thermique

Comme toute plante, le blé dur a un optimum écologique du point de vue température. Au delà de cet optimum, la plante souffre et elle est pénalisée d'autant plus que les valeurs prises par ce facteur écologique s'en écarte trop .

3.1. Définition du stress Thermique

La température rythme la croissance et le développement de la plante. Son action est permanente tout le long du cycle. Elle conditionne l'absorption des éléments nutritifs, l'activité photosynthétique, l'accumulation de la matière sèche et le passage d'un stade végétatif à un autre (Van Oosterom *et al.*, 1993, Mekhlouf *et al.*, 2006).

3.2. Effets du stress Thermique sur le végétal

a. Les basses températures

Le degré de sensibilité de la céréale au froid est très variable dans le temps et fonction des stades végétatifs. Les basses températures hivernales entravent la croissance, en début du cycle des géotypes sensibles et sont nécessaires pour la satisfaction des besoins des variétés vernales (Bouzerzour *et al.*, 1995). Lorsqu'elles se présentent tardivement au printemps, leur avènement coïncide avec le stade méiose, elles détruisent alors les grains de pollen et les ovaires (Abbassenne, *et al.*, 1997).

Les blés cultivés traditionnellement dans le bassin méditerranéen sont de type semi-alternatif. Leur floraison est assez tardive leur permettant d'échapper aux basses températures printanières. L'adoption de cultivars de type printemps, insensible à la photopériode et aux besoins négligeables en températures vernales sur les hautes plaines orientales ont montré le risque des épiaisons précoces induites, chez de tels géotypes, par des températures hivernales plus douces (Bouzerzour *et al.*, 2002, Mekhlouf *et al.*, 2006).

L'analyse d'un croisement diallèle de blé dur, montre que le contrôle génétique de la tolérance au froid est de nature additive. Les résultats de l'analyse de substitution chromosomique montrent qu'aux moins Dix chromosomes interviennent dans le contrôle de la tolérance au froid et que les chromosomes 5D et 5A sont les plus actifs. Mekhlouf *et al.*, (2006) notent une grande variabilité de réponses des géotypes de blé dur vis à vis de cette contrainte.

b. Les températures élevées

Les hautes températures interviennent aussi comme contrainte limitant le potentiel de production des zones semi-arides. Elles affectent les organes floraux, la formation du fruit, ainsi que le fonctionnement de l'appareil photosynthétique. Au cours de la montaison, elles entraînent la réduction du tallage-épi.

Globalement les températures élevées réduisent la taille et le poids des organes. Leur incidence demeure plus faible sur le nombre d'organes émis. Les variétés tardives sont généralement celles qui sont les plus exposées à ce type de contrainte. Sous ces conditions limitatives, elles accusent des baisses de rendements liés à la coïncidence de la phase de remplissage avec la période d'élévation de la température (Bouzerzour *et al.*, 1995).

4. Les Mécanismes d'adaptation aux stress

La résistance du blé dur aux stress de l'environnement est un phénomène très complexe qui fait intervenir plusieurs caractères phénologiques, morphologiques, physiologiques et biochimiques. Mais le mécanisme adaptatif qui détermine le rendement en conditions de stress n'est pas encore élucidé. (Bousba *et al.*, 2012)

4.1. Adaptation moléculaire

Les protéines en occurrence, restent très informatives du fait qu'elles constituent des produits de l'information génétique portée par l'ADN d'un individu. L'ADN, bien qu'il code pour un même produit, peut porter des variations (mutations) significatives d'un individu (ou d'un groupe) à un autre. L'ensemble des protéines synthétisées dans l'organisme peut être caractéristique pour un individu donné.

L'amélioration des plantes (Eagles *et al.*, 2001 ; Langridge *et al.*, 2001 ; Dekkers et Hospital, 2002) est basée sur l'utilisation de la variabilité génétique naturelle et sur des méthodes d'exploitation rapides et fiables de cette diversité dans les programmes de sélection.

Les marqueurs moléculaires, directement issus du polymorphisme existant au niveau de l'ADN, sont désormais utilisés fréquemment pour l'analyse des ressources génétiques et dans les programmes d'amélioration des plantes. Leurs caractéristiques permettent de les séparer en deux familles (Santoni *et al.*, 2000).

Les caractères moléculaires sont de bons marqueurs génétiques : ils révèlent directement la nature génétique de l'information. Ceci les différencie des caractères morphologiques, physiologiques et plus généralement de tous les caractères phénotypiques, dus à une addition d'effets génétiques et non-génétiques. Cet aspect génétique leur confère un avantage du point de vue de la reconstruction de phylogénies. (Gallais. A , 2013)

Au niveau du blé et de l'orge, plusieurs auteurs ont rapporté que les effets génétiques qui régularisent la réponse à la sécheresse, la salinité et le froid ont été assemblés dans un même chromosome (Cattiveli *et al.*, 2002). Actuellement, les marqueurs moléculaires permettent aux améliorateurs d'identifier les loci qui contrôlent la tolérance à la sécheresse et à d'autres caractères agronomiques.

La technique la plus utilisée actuellement est la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) qui permet l'amplification d'un fragment donné d'ADN, dans toute une série d'individus même si celui-ci est une simple copie au milieu d'un génome de grande taille. (Gallais. A , 2011)

La technique PCR a été utilisée pour détecter le polymorphisme dans certaines lignées de blé produites par hybridation, Deux cultivars de blé tendre, un cultivar de blé dur et un cultivar d'*Aegilops cylindrica*. Sur la base des réactions d'amplification (Farooq *et al.*, 1994).

III. Marqueurs moléculaires

Diverses techniques basées sur des empreintes ADN ont été utilisées, ces dernières années, pour mettre en évidence l'existence de différents allèles pour un locus donné.

1. Le principe du marquage moléculaire

Dans tous les cas, une méthode de marquage doit satisfaire deux objectifs : premièrement , cibler une ou plusieurs positions sur le génome, a laquelle on souhaite détecter du polymorphisme, c'est ce que l'on peut appeler la spécificité de locus, et deuxièmement , pouvoir ensuite distinguer les différentes séquences qui caractérisent les allèles a ce locus chez différents individus. (Gallais. A , 2013)

a. Spécificité du Locus

Pour cibler une analyse sur un endroit particulier du génome, on doit utiliser la propriété qu'a l'ADN de créer des liaisons très solides entre brins de séquences complémentaires. Ce principe d'hybridation des brins complémentaires permet par exemple de fixer une sonde d'ADN marquée complémentaire de la séquence du locus a cibler sur le point du génome ou l'on souhaite révéler du polymorphisme . (Gallais. A , 2011)

Cette approche, caractéristique des premières générations de marqueurs moléculaires type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) est aujourd'hui généralement remplacée par la PCR (Polymerase Chain Reaction). Cette technique, a été a l'origine d'une véritable révolution de la biologie moléculaire. Elle permet de synthétiser

in vitro des millions de copies d'un fragment d'ADN situé entre deux séquences connues d'une vingtaine de bases chacune . (Gallais. A , 2013)

b. Spécificité d'Allèle

Une fois le locus amplifié par PCR, le problème est de distinguer des différences dans la séquence du produit PCR entre différents individus. Différents types d'électrophorèse permettent de mesurer la longueur du produit de la PCR et de distinguer les allèles. (Gallais. A , 2011)

Plus simplement, si l'on met en concurrence deux sondes très courtes contenant chacune l'un des allèles entouré d'une vingtaine de bases de chaque cote, celle des deux sondes qui correspond au bon allèle s'hybridera préférentiellement a l'ADN de l'échantillon a génotyper. (Gallais. A , 2013)

1.1. Que ce qu'un Marqueur Moléculaire ?

Définition

L'ADN, constituant des chromosomes, contient l'information génétique d'un individu. Un marqueur moléculaire est une séquence (un fragment) d'ADN présentant des variations d'un individu à l'autre. Lorsque l'on parle de l'utilisation de marqueurs moléculaires, il s'agit de l'utilisation d'une technique permettant de visualiser ces différences. (Gallais. A , 2013)

Alors , un marqueur moléculaire est un Fragment spécifique d'ADN pouvant être identifié au sein du génome complet. (Prat. D *et al.* , 2006)

1.2. Principaux types de Marqueurs Moléculaires

Il existe différents types de marqueurs moléculaires correspondant à différentes techniques. Le principe de base est toutefois identique. L'ADN est constitué de quatre bases (ATGC); l'ordre de succession de ces bases tout le long des chromosomes constitue l'information génétique contenue dans l'ADN. Il existe, entre deux variétés, une multitude de différences dans cet ordre de succession: il peut s'agir de la substitution ponctuelle d'une base par une autre ou encore de l'insertion d'un fragment d'ADN en un lieu précis du chromosome. L'utilisation d'un marqueur moléculaire permet de visualiser l'une, voire plusieurs de ces différences. (Samouelian. F *et al.* , 2009)

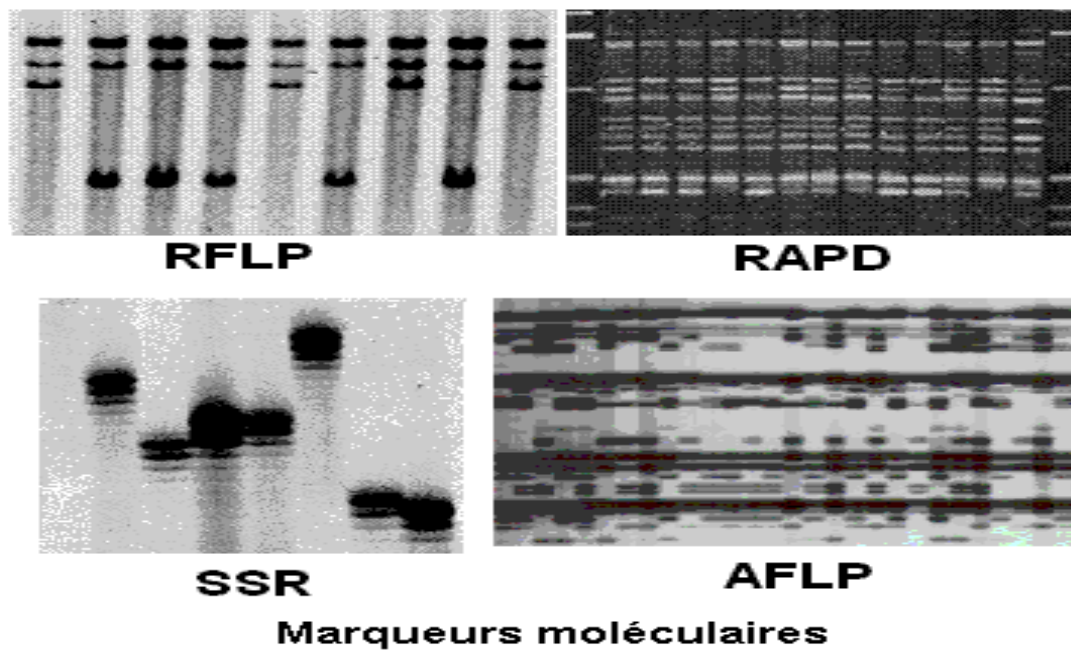


Figure 05 : Profils électro-phorétiques des principaux types de marqueurs moléculaires .

Ces marqueurs seront d'une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeur agronomique et dans les programmes de sélection assistée par marqueurs chez les céréales.

Le choix du système de marquage dépend de l'objectif précis fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire, et on cite :

a. Les marqueurs RFLP Détectables par la technique de Southern

La technique RFLP ou *Restriction Fragment Length Polymorphism* développée par Botstein *et al.* 1980, repose sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction. (Gallais. A , 2011)

Une multitude de fragments d'ADN de taille variable 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 génomiques qui lui sont homologues. (Prat. D *et al.* , 2006)

Si la sonde est associée a un conjugué enzymatique la différence entre deux génotypes est révélée par réaction colorée, Ou par autoradiographie si elle est marquée par le phosphore radioactif. (Gallais. A , 2013)

Le polymorphisme détecté est du a des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de site de restriction) et/ou a des délétions/insertions 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.

Technique lente et laborieuse bien qu'elle soit Co-dominante et permet une analyse génétique complète . (Prat. D *et al.* , 2006)

b. Les marqueurs Mono locus et Multi locus détectables par la PCR

Les marqueurs basés sur la technique PCR tendent a remplacer les systèmes classiques (les marqueurs morphologiques, iso-enzymatique et RFLP) et deviennent très nombreux. 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. (Prat. D *,et al.* 2006)

Les plus largement utilisés chez le Blé sont les microsatellites ou SSR (*Simple Sequence Repeat*) , l'AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) et les RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) . (Gallais. A , 2013)

- Les Microsatellites ou SSR

Ils sont constitués de séquences de di, tri ou tétranucléotides répétés en tandem. Ces éléments sont uniformément 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. (Gallais. A , 2013) .. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'Acrylamide ou d'agarose . (Prat. D *et al.* , 2006) . C'est la paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur.

Si les SSR 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 . (Prat. D *et al.* , 2006)

- La technique AFLP

La *Amplification Fragment Length Polymorphism* est Fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires, utilise a la fois les enzymes de restriction et l'amplification PCR . L'ADN génomique est clivé par deux enzymes de restriction. Des adaptateurs connues et spécifiques des enzymes de restriction utilisées sont ajoutés aux extrémités des fragments de restriction générant ainsi une matrice pour l'amplification. (Gallais. A , 2011)

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. (Prat. D *et al.* , 2006)

Toutefois, la dominance, le coût élevé (couverte par un brevet de la société néerlandaise -Keygene- qui l'a mis au point) et les difficultés techniques liées au marquage par AFLP limitent son utilisation à grande échelle pour des applications comme la sélection assistée par marqueurs. (Prat. D *et al.* , 2006)

- Les SNP

Le *Single Nucleotide Polymorphism* est un Polymorphisme d'un nucléotide unique. Polymorphismes résultant de substitutions d'une seule base entre des séquences homologues.

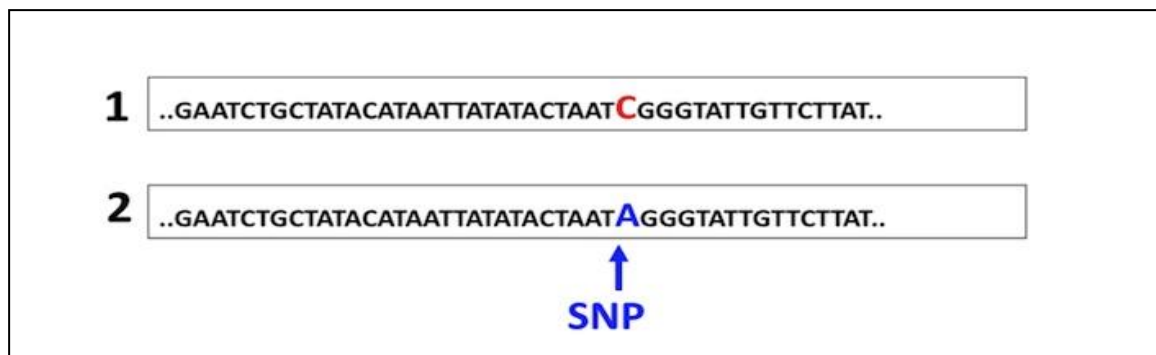


Figure 06 : Polymorphisme d'un simple nucléotide entre deux séquences homologues

- La technique RAPD

Technique faisant l'objet de nos études et base des travaux réalisés dans ce mémoire , développée dans une partie qui suit .



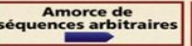

Les principaux marqueurs moléculaires				
	RFLP	Microsatellites	RAPD	AFLP
Type de marqueurs	Enzyme / sonde 	Amorces spécifiques bordant le microsatellite 	Amorce de séquences arbitraires 	Enzyme / amorce 
Nombre de marqueurs	Illimité	Quelques milliers	Illimité	Illimité
Polymorphisme mis en évidence	Élevé	Élevé	Très élevé	Très élevé
Type de polymorphisme	Insertion, délétion, substitution	Insertion	Plutôt substitution, quelquefois insertion	Plutôt substitution
Caractérisation génétique	Locus codominants et révélés individuellement		Locus dominants et révélés en masse	
Principales utilisations	Cartographies, génétiques quantitatives (QTL)		Clonage positionnel, rétrocroisements	
Reproductibilité	Parfaite	Parfaite	Faible	Faible

Figure 07 : Caractéristiques des principaux types de marqueurs moléculaires

1.3. Qualités d'un Bon Marqueur Moléculaire

Les marqueurs moléculaires idéaux pour les études de structuration génétique de populations sont ceux présentant les caractéristiques suivantes :

- Reproductible .
- Economique .
- De Répartition uniforme dans le génome .
- Multi-allélique et Polymorphe : la matière première du généticien est la variabilité.
- Co dominant : l'hétérozygote présente simultanément les caractères des deux parents homozygotes, il peut donc 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 autres locus. La codominance et la non-épistasie peuvent être respectivement définies comme l'absence d'interactions intra et inter locus ;
- Neutre : les substitutions alléliques au locus marqueurs n'ont pas d'autres effets phénotypiques (donc éventuellement sélectifs) que ceux qui permettent de déterminer son génotypes. 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. (De vienne. D , 1998)

2. La technique RAPD

Les RAPDs (pour *Random Amplified Polymorphic DNA*) constituent une large panoplie de marqueurs, qui peuvent être utilisés pour évaluer les variations génétiques à la fois entre espèces et au sein d'une même espèce. Cette technique consiste à amplifier aléatoirement des fragments d'ADN dont la séquence a été formulée au hasard. Pour deux variétés, mêmes voisines, des différences de taille existant entre des fragments d'ADN amplifiés sont visualisées par une électrophorèse sur gel d'agarose. Leur analyse est plus rapide que celle des microsatellites.

2.1. Le principe de la technique

La *Random Amplified Polymorphic DNA* , consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de taille courte (10 pb). Une amorce RAPD permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant a des locus dominants. (Prat. D *et al.* , 2006)

Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose. Le polymorphisme décelé est du a des mutations soit dans les régions amplifiées soit au niveau des sites de fixation des amorces . (Gallais. A , 2013)

Le polymorphisme révélé est un polymorphisme de sites d'hybridation d'amorce. Les amorces constituent donc les marqueurs (Figure n° 08).

Technique simple, rapide et ne nécessite ni marquage radioactif ni 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. (Prat. D *et al.* , 2006)

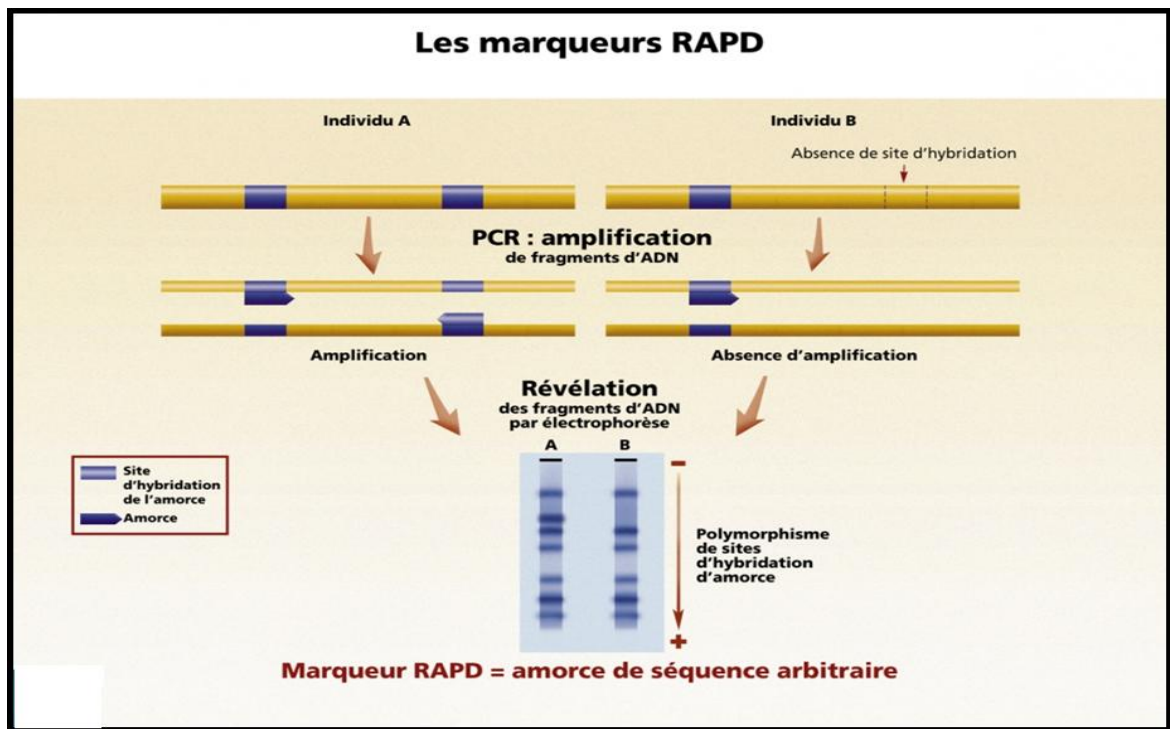


Figure 08 : Schéma représentant du principe des marqueurs moléculaires RAPD
(Gnis pédagogie)

2.2. Le polymorphisme RAPD

La famille constituée par les marqueurs dominants et révélés en masse est l'ensemble de techniques basées sur la PCR aléatoire, ne ciblent pas une région particulière du génome fixée à l'avance. Ils sont générés par des techniques de type RAPD ou AFLP qui permettent de réaliser facilement des empreintes génétiques. (Metzker. ML , 2010) .

La RAPD produit facilement un nombre significatif de bandes, et révèle simultanément plusieurs loci ce qui permet souvent, en peu d'expériences, de caractériser sans ambiguïté un génotype , et servent également pour la cartographie génétique ainsi que la saturation des génomes . (Gallais. A , 2011)

2.3. Les qualités des marqueurs RAPD

Tableau 02 : Les qualités d'un Marqueur RAPD

<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>	
Polymorphisme	Oui
Spécificité de Locus	Non
Codominance	Non
Non épistasie	Oui
Neutralité	Oui
Insensibilité au milieu	Oui
Nombre	Très élevé
Universalité	Oui
Technicité	Moyenne

2.4. Les principales utilisations des marqueurs RAPD

Les marqueurs sont utilisés pour décrire la variabilité génétique et sa répartition au sein de populations et d'espèces (Tableau n° 03) . Ils servent aussi à préciser les mécanismes évolutifs des populations qui rendent compte de cette description. (Metzker. ML , 2010)

Les critères à prendre en compte lors du choix d'une méthode de marquage moléculaire sont :

- Le type d'information génétique que peuvent produire les différents marqueurs (polymorphisme, dominance, nombre de loci révélés simultanément, etc.)
- Les contraintes techniques liées à leur utilisation.

Ces deux questions doivent bien sûr être examinées compte tenu des objectifs particuliers du projet et des ressources du laboratoire (équipement, matériel végétal disponible, coût, etc.). (Metzker. ML , 2010)

Tableau 03 : Principales utilisations des Marqueurs RAPD

Principales utilisations des marqueurs RAPD	- L'identification : le Génotypage
	- L'étude de génétique des populations
	- Analyse de la diversité génétique : structuration des populations, distance génétique, identification variétale, etc
	- Cartographie génétique et applications : La saturation de cartes génétiques , Etc

IV. Diversité génétique et Adaptation

La diversité génétique – la variabilité des gènes et des allèles à l'intérieur d'une espèce – définit l'élément de base de la biodiversité . C'est une condition essentielle pour la productivité et la durabilité des systèmes de production agricole . (Kölliker. R , *et al.* 2014)

La diversité génétique comprend la diversité des gènes et des allèles se rapportant à une espèce et constitue la base de la diversité de tous les organismes vivants. Elle est aussi le préalable à la capacité d'adaptation des espèces et des populations face à des facteurs externes comme les conditions environnementales ou les processus de sélection . (Vellend. M et Geber. M-A , 2005)

1. Définition de la diversité génétique

La diversité génétique est la partie cachée de la biodiversité ; chez les êtres vivants, elle représente la variabilité des gènes non seulement pour la survie des espèces, mais aussi pour celle des écosystèmes car elle est le garant de la capacité d'adaptation des êtres. (Vellend. M et Geber. M-A , 2005).

C'est La matière première de l'évolution et est essentielle à la survie de l'espèce . La diversité génique est d'importance capitale , elle est importante parce qu'elle représente la maquette de tous les êtres vivants . (Kölliker. R , *et al.* 2014)

C'est la variabilité qui existe au niveau des gènes , les allèles (les variantes d'un même gène) , les gènes entiers (qui fixent les traits caractéristiques, par exemple la

capacité à métaboliser une substance), les unités plus vastes que les gènes (par exemple, la structure chromosomique) . (Vellend. M et Geber. M-A , 2005)

Le gène étant l'unité de base de sélection et d'évolution, la mesure de la diversité à cette échelle, au moyen de marqueurs moléculaires, fournit l'information la plus précise sur la diversité génétique. (Vellend. M et Geber. M-A , 2005)

Cependant, dans le cadre des préoccupations d'étude et de conservation de la diversité génétique, les indicateurs de diversité génétique doivent non seulement permettre d'évaluer quantitativement et qualitativement cette dernière et ses variations mais aussi résumer une information complexe en données plus synthétiques qui offre la possibilité aux différents acteurs (scientifiques, agriculteurs, gestionnaires, politiques) de dialoguer entre eux. (Kölliker. R , *et al.* 2014)

A ce jour, l'indicateur le plus utilisé dans les études de la diversité génétique est le nombre de variétés géré à différentes échelles, la variété étant l'entité génétique à laquelle la communauté paysanne cible attribue un nom et qu'elle gère comme une unité. Cet indicateur facile à documenter a permis de procéder rapidement à une première évaluation de la diversité .

2. Quels risques liés à l'uniformité des variétés ?

Les menaces sont multiples . Par rapport au climat par exemple : les variétés cultivées sont adaptées plus ou moins selon la localisation géographique, cependant – au climat actuel, mais il semble peu probable qu'elles induisent les mêmes rendements s'il venait à changer de manière relativement importante. Si ce risque semble éloigné, un accident climatique n'est toutefois jamais exclu .

Une autre conséquence négative de la grande uniformité des variétés : le phénomène de dépression de consanguinité, que l'on observe parfois dans des lignées hautement consanguines ; de ce fait il ne concerne pas le blé autogame, mais vaut dans le cas du maïs par exemple. Les individus consanguins seraient plus sensibles à l'environnement, car disposent d'une plus faible « variabilité biochimique » que les individus non consanguins, variabilité qui leur permet de mieux répondre aux variations du milieu. (Naville. M , 2005)

L'érosion de la biodiversité est un processus de dégradation et l'extinction des espèces végétales. La diversité végétale se trouve confrontée à des risques de plus en plus graves d'érosion naturelle ou intentionnelle qui sont à l'origine de l'extinction, hélas irréversible, d'un bon nombre de génotypes autochtones dont le remplacement se fait à grande vitesse : Au profit d'introduction souvent de variétés inadaptées ; par simple abandon suite au changement du statut des cultivateurs; ou Par changement de la vocation de la région (industrialisation par exemple).

Il en découle que la réduction de la diversité biologique, s'accompagne d'une diminution de la diversité génétique à cause de l'usage fréquent des mêmes génotypes parentaux dans les travaux d'amélioration .

3. Relation entre la diversité génétique et l'adaptation des différentes variétés aux contraintes de l'Environnement

Il est communément admis qu'une population possédant globalement une grande variabilité génétique aura une grande capacité à faire face aux variations de l'environnement dans l'espace et dans le temps même si, d'après la théorie neutre de l'évolution, seule une minorité de loci s'avère adaptative . (Gaufichon. L, *et al.* 2010)

Pour chaque environnement donné, le phénotype possédant une plus grande fitness tendra à être sélectionné comme vu précédemment. Ainsi, l'adaptation au milieu, via la sélection naturelle, permet le maintien d'une diversité phénotypique, et donc génétique (au moins pour certains loci), et cette diversité pourrait s'avérer essentielle pour la survie des populations en cas de perturbation du milieu . (Monneveux. P et This. D , 1997)

La diversité génétique est le fait d'une variabilité génétique des populations appelée polymorphisme, celui-ci correspond à une variation de séquence de gènes sous plusieurs formes qu'on appelle allèles. Les mutations sont responsables de l'apparition de nouveaux allèles. Certaines d'entre elles sont neutres, c'est-à-dire qu'elles n'ont aucun effet sur l'organisme, d'autres sont défavorables car elles peuvent porter atteinte à la santé de l'individu, certaines au contraire peuvent devenir avantageuses pour l'individu. Les mutations ont des effets variables sur les individus selon leur localisation dans le génome, le nombre de nucléotides concernés et l'environnement dans lequel évolue l'animal ou la plante . (Gaufichon. L , *et al.* 2010)

4. Méthodes de mesure de la variabilité génétique

Historiquement, la recherche de variations génétiques dans les populations naturelles a concerné des caractères directement accessibles à l'observateur (morphologie, couleur, etc). Le développement des techniques de biochimie, cytogénétique et de biologie moléculaire a permis d'étudier la variabilité génétique à des échelles plus fines, jusqu'au niveau de la séquence d'ADN, permettant même l'étude du polymorphisme des régions non codantes . (Naville. M , 2005)

a) Le polymorphisme Morphologique

C'est le polymorphisme de taille, de forme, de couleur etc. La variabilité génétique de la couleur de certaines espèces, appelée poly chromatisme, est certainement l'un des polymorphisme qui a été le plus étudié. (Hamon. S et Picard. D , 2010)

b) Le polymorphisme des Protéines : Les Allozymes

Depuis les années 1960, la variabilité des protéines est étudiée par électrophorèse. La vitesse de migration dépend de la charge globale de la protéine, de sa taille et de sa conformation. Toute mutation dans la séquence d'un gène codant pour une protéine peut modifier le sens d'un codon, altérer la séquence d'acides aminés donc la charge électrique de la protéine et sa vitesse de migration. (Prat. D , *et al.* 2006)

c) Le polymorphisme de l'ADN : Les marqueurs moléculaires

Les techniques issues de la biologie moléculaire permettent de rechercher des variations dans les séquences nucléotidiques de l'ADN (codant et non codant). Ces techniques sont de plus en plus utilisées pour étudier le fonctionnement génétique des populations. (Hamon. S et Picard. D , 2010)

Cette variabilité peut être recherchée dans des régions codantes de l'ADN et non codantes qui composent la grande majorité des génomes (ADN non codant = 95% de l'ADN total des eucaryotes). Cette variabilité, qui n'est généralement pas exprimée au niveau phénotypique, est utilisée pour définir des marqueurs permettant soit de caractériser des individus (empreinte génétique ou *finger print*), soit de caractériser des populations, soit de cartographier des gènes. (Prat. D , *et al.* 2006) . Les principaux marqueurs moléculaires utilisés en génétique des populations sont les RAPD , RFLP , AFLP , SSR et ISSR . (Morot-Gaudry. J-F et Briat. J-F , 2004)

Deuxième Chapitre

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

Les génotypes utilisés sont répertoriés selon le catalogue officiel de l'ITGC , de l'ICARDA et du CIMMYT , et fournis par la station expérimentale de l'ITGC d'El-Khroub .



Image 01 : Les variétés BIDI-17 , CIRTA et WAHA



Image 02 : Les variétés GTA DUR , KORIFFLA SHAM et TELL

Six variétés de blé dur ont fait l'objet de ce travail , locales se caractérisant par une meilleure adaptation au milieu ; introduites améliorées mais moins tolérantes au climat de culture. Leurs origines sont présentées dans le tableau suivant (Tableau n° 04) .

Tableau 04 : Origines des variétés étudiées de blé dur

Code	Variétés	Origine
V 1	BIDI 17	ITGC / Algérie
V 2	CIRTA	ITGC / Algérie
V 3	WAHA	ICARDA / Syrie
V 4	GTA x DUR	CIMMYT / Mexique
V 5	KORIFFLA x SHAM	ICARDA / Syrie
V 6	TELL	ITGC / Algérie

II. Mise en place de l'essai

L'essai a été réalisé au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV) , équipe 2 de Biotechnologie et Amélioration des Plantes à Chaabet El Rasses , Université Constantine 1 .

L'expérimentation a été conduite dans la chambre de culture . Elle consiste à étudier le polymorphisme génétique a l'aide des marqueurs moléculaires RAPD chez les six génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) après germination . L'expérimentation a été réalisée à une température de 25°C et une photopériode de 16h de lumière et 8 h de nuit

Dans cet essai le genotypage a été effectué sur six variétés de blé dur Fournies par la ferme expérimentale de l'ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures) Constantine .

L'extraction de l'ADNg a été réalisée sur 150mg de feuilles fraîches selon la méthode de Saghai-Marooof (1984) avec l'utilisation de 15 Amorces RAPD , l'amplification a été réalisée avec un thermocycleur *GenAmp , PCR system 9700 , Applied Biosystems* .

L'essai s'est déroulé comme suit :

1. Le gonflement

Les graines choisies doivent être saines , elles ont été sélectionnées selon leur taille et leur forme . Pour chaque variété , les graines au nombre de cinquante , sont :

- Désinfectées à l'eau de javel à 5% pendant 20 min .
- Rincées plusieurs fois avec de l'eau distillée .
- Incubées 2h a 25°C dans un Incubateur avec agitation , dans des tubes Falcon de 50 ml pour éclatement de l'enveloppe dans de l'eau ultra pure .
- Incubées 48 h a 4°C , les graines gonflent et ce choc thermique aide à la levée de dormance des graines .



Image 03 : Incubateur avec agitation *Stuart*

2. La Pré germination

Les graines sont mises à germer dans des boîtes , ces dernières sont tapissées par trois couches de papier filtre comme substrat . Dans notre cas , nous avons imbibé les boîtes contenant des graines avec de l'eau deux fois par jour .

Les boîtes sont mises à l'obscurité dans une chambre de culture à une température de 25°C. La germination est repérée par la sortie de la radicule (du 3^{ème} au 5^{ème} jour) hors des téguments de la graine dont la longueur est d'au moins de 2 mm .



Image 04 : Pré-germination des graines des six variétés étudiées

3. Le repiquage

Après l'obtention de la radicule les boîtes sont mises à la lumière avec une photo période de 16h de lumière et 6h d'obscurité.

Après que les graines des variétés des blés dur ont été mises à germer dans des boîtes et que les radicules sont bien développées , elle sont ensuite ou bien :

- **Transférées en culture Hydroponique** : dans la chambre de culture dans des grands Bac avec support contenant un milieu nutritif (Milieu BD) a raison de 5L par Bac tout en identifiant le génotype , et la date de mise en culture . (Annexe 01) .



Image 05 : Culture Hydroponique des graines pré-germées dans la chambre de culture

- **Transférées dans un Sol** : en conditions naturels avec un arrosage par jour . Sans oublier d'identifier les génotypes a germer .



Image 06 : Culture dans le Sol des graines de blé dur

III. Caractérisation moléculaire

1. L'extraction de l'ADN génomique

L'extraction a été effectuée selon la méthode CTAB (Saghai *et al.* , 1984) comme suit : (Image n° 07)

Préchauffer le tampon CTAB 2X additionné de Beta-mercaptoéthanol dans un bain marie a 65°C. Ensuite , Broyer le matériel végétal (environ 150mg) dans un mortier avec l'azote liquide (manipuler avec les gants) puis transférer le broyat dans un tube Eppendorf de 2ml avec une spatule (mettez les tubes bien fermés dans l'azote liquide) .

Ajouter 900 µl de tampon CTAB 2X additionné de Beta-mercaptoéthanol préchauffé a 65°C et Homogénéiser au vortex puis Incuber 60mn dans un bain marie a 65°C avec agitation .

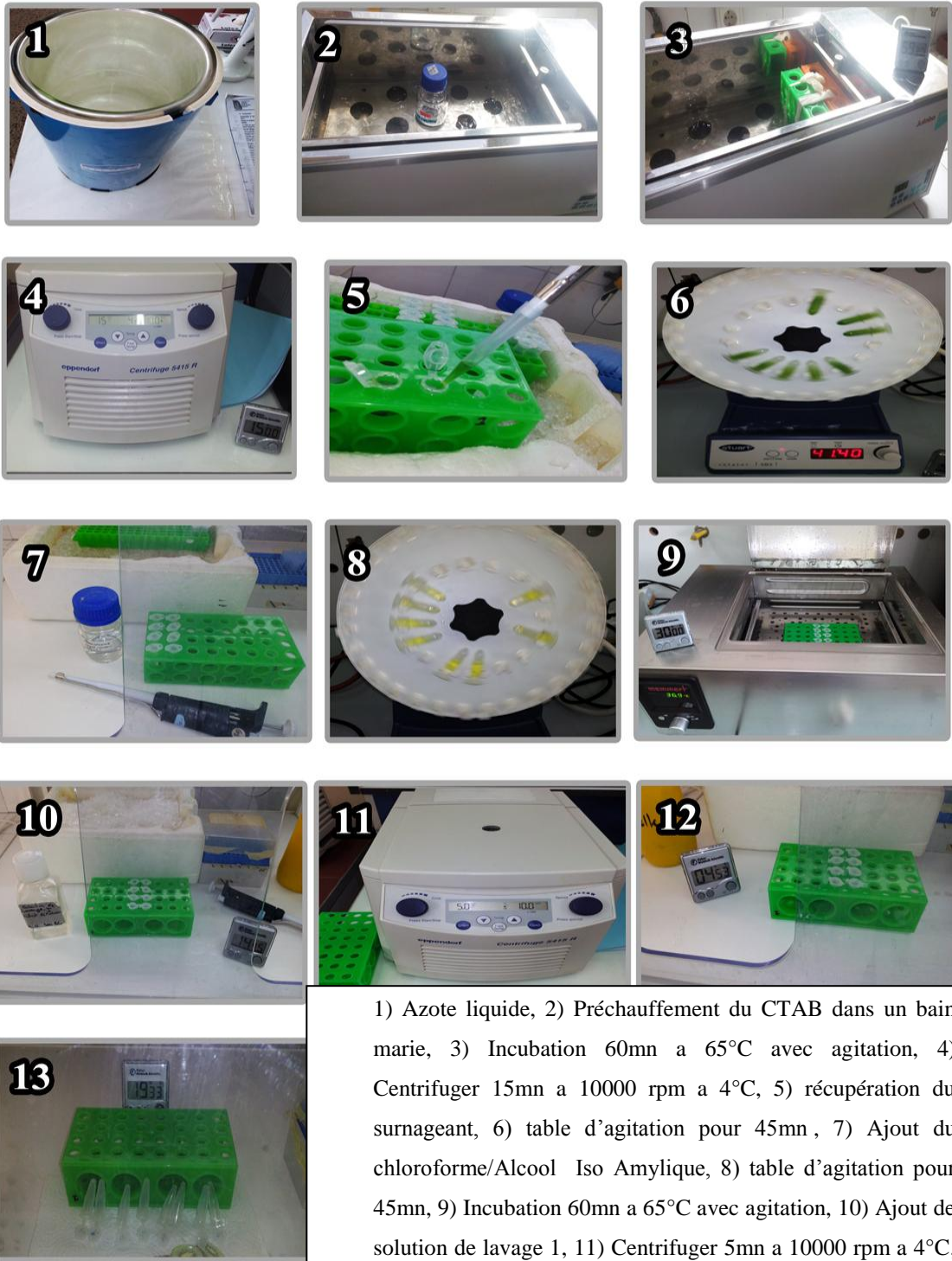
Centrifuger 15mn a 10000 rpm a 4°C et récupérer environ 800 µl de surnageant dans un nouveau tube Eppendorf de 2ml . Ensuite Ajouter 800 µl (1vol) de chloroforme/Alcool Iso amylique (24 :1) et agiter pendant 45mn a vitesse lente (100 a 150 rpm) sur une table d'agitation (Faire attention aux fuites) .

Centrifuger 15mn a 10000rpm a 4°C et récupérer la phase aqueuse supérieure a l'aide de micropipette P1000 et la mettre dans un nouveau tube Eppendorf de 2ml puis ajouter 800 µl (1vol) de chloroforme/Alcool Iso amylique (24 :1) .

Agiter pendant 45mn a vitesse lente (100 a 150 rpm) sur une table d'agitation (Faire attention aux fuites) et centrifuger 15mn a 10000rpm a 4°C puis récupérer la phase aqueuse supérieure a l'aide de micropipette P1000 et la mettre dans un nouveau tube Eppendorf de 1.5ml (éviter de prendre la couche blanche au milieu) .

Ajouter 3 à 5 µl RNase (10mg/ml) , agiter par inversion et incuber 30mn a 37°C . Ensuite ajouter 540 µl (2/3vol) d'isopropanol froid (-20°C) et Inverser les tubes doucement jusqu'à l'apparition d'une pelote blanche puis laisser précipiter a -20°C pendant 5 à 10 mn .

Centrifuger 10mn a 10000rpm a 4°C et éliminer le surnageant très délicatement avec une micropipette puis Ajouter 500 µl de solution de lavage 1 et incuber pendant 15mn a température ambiante . Centrifuger 5mn a 10000 rpm a 4°C ensuite éliminer le surnageant et Ajouter 500 µl de solution de lavage 2 .



1) Azote liquide, 2) Préchauffement du CTAB dans un bain marie, 3) Incubation 60mn a 65°C avec agitation, 4) Centrifuger 15mn a 10000 rpm a 4°C, 5) récupération du surnageant, 6) table d'agitation pour 45mn , 7) Ajout du chloroforme/Alcool Iso Amylique, 8) table d'agitation pour 45mn, 9) Incubation 60mn a 65°C avec agitation, 10) Ajout de solution de lavage 1, 11) Centrifuger 5mn a 10000 rpm a 4°C, 12) Ajout de solution de lavage 2 , 13) Séchage a l'air libre .

Image 07 : Etapes de l'Extraction de l'ADNg des six génotypes étudiés au CTAB

Ne pas incuber plus de 5mn et Centrifuger après 5mn a 10000 rpm a 4°C . puis éliminer le surnageant et sécher l'ADN a l'air libre pendant 10 à 20 mn .

Enfin suspendre le culot d'ADN dans 100 µl de l'eau distillée ultra pure et stocker l'ADN pendant une nuit a 4°C avant dosage .

2. La Quantification de l'ADN et Le contrôle de qualité

- a. **Quantification à l'aide du Nano drop** : ou 2 μl de chaque échantillon étudié est déposé pour lecture . Sans oublier les blanc avant et après chaque dépôt , . La quantité finale d'ADN extrait variait de 200 a 800 $\text{ng}/\mu\text{l}$.
- Il a été nécessaire de faire des dilutions pour les réactions de PCR .



Image 08 : Dépôt d'un échantillon sur Nano drop

- b. **Contrôle de qualité par électrophorèse sur gel d'Agarose** : a 0.8% après coloration au Bromure d'éthidium. Les dépôts sont effectués dans la cuve a raison de 12 μl (10 μl ADNg + 2 μl Tampon de charge 6X) par puits , avec 3 a 5 μl de marqueur de taille 1Kb .

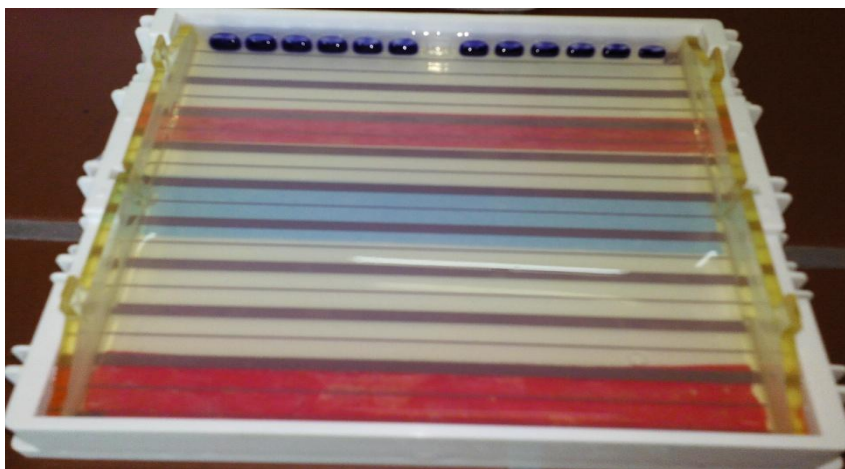


Image 09 : Dépôt des échantillons sur gel



Image 10 : Migration des échantillons par électrophorèse sur gel d'agarose 0.8%, 30 mn
à 100V

3. Les amorces RAPD utilisées

Un jeu de 15 marqueurs RAPD a été utilisé dans cette étude . Les noms de ces marqueurs (Operon Technologies , USA) , leurs séquences et leur taille sont présentés dans le Tableau n° 05 .

Tableau 05 : Amorces Arbitraires utilisées dans les réactions PCR-RAPD

Code	Amorce RAPD	Séquence	Longueur pb
A 1	OPG-09	5'– CTGACGTCAC – 3'	10
A 2	OPF-20	5'– GGTCTAGAGG – 3'	10
A 3	OPA-17	5'– GACCGCTTGT – 3'	10
A 4	OPC-05	5'– GATGACCGCC – 3'	10
A 5	OPE-13	5'– CCCGATTCGG – 3'	10
A 6	OPO-03	5'– CTGATACGCC – 3'	10
A 7	OPO-05	5'– CCCAGTCACT – 3'	10
A 8	OPO-06	5'– CCACGGGAAG – 3'	10
A 9	B-19	5'– ACCCCCGAAG – 3'	10
A 10	OPA-20	5'– CTTCGCATCC – 3'	10
A 11	OPH-20	5'– GGGAGACATC – 3'	10
A 12	OPJ-06	5'– TCGTTCCGCA – 3'	10
A 13	OPA-10	5'– GTGATCGCAG – 3'	10
A 14	OPA-13	5'– CAGCACCCAC – 3'	10
A 15	OPB-01	5'– GTTTCGCTCC – 3'	10

Ces marqueurs moléculaires ont été utilisés pour examiner la diversité génétique des variétés locales et introduites . Les réactions de PCR ont été réalisées dans un thermocycleur *Applied Biosystems* .

4. Les réactions d'amplification

Les réactions RAPD ont été réalisées dans un volume final de 25 μ l pour chaque génotype contenant : 1 μ l d'ADNg (20ng/ μ l) , 12.5 μ l d'Ampli Taq ADN polymerase , 1 μ l de GC Enhancer , 1 μ l d'Amorce RAPD (5ng/ μ l) et 9.5 μ l d'H₂O up . Les dilutions des Amorces ainsi que de l'ADNg ont été faites après extraction et stockées a - 20 °C

Quinze amorces RAPD ont été utilisées pour la réaction PCR en utilisant un thermocycleur *Applied Bio systems 9700* , programmé pour 40 cycles comme suit : Dénaturation initiale a 94°C pendant 5mn , deuxième dénaturation a 94°C pendant 1mn , Hybridation a 37°C pendant 1mn , Extension a 72°C pendant 1 mn et une Extension finale a 72°C pendant 7mn

5. La vérification des produits PCR et Visualisation des Résultats

Les produits de PCR ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose a 2% après coloration au Bromure d'éthidium dans un tampon TBE 1 X (Image n° 12).

Les dépôts sont fait selon un schéma (Image n° 11) . La durée ainsi que l'Ampérage sont notés a la fin de la migration .

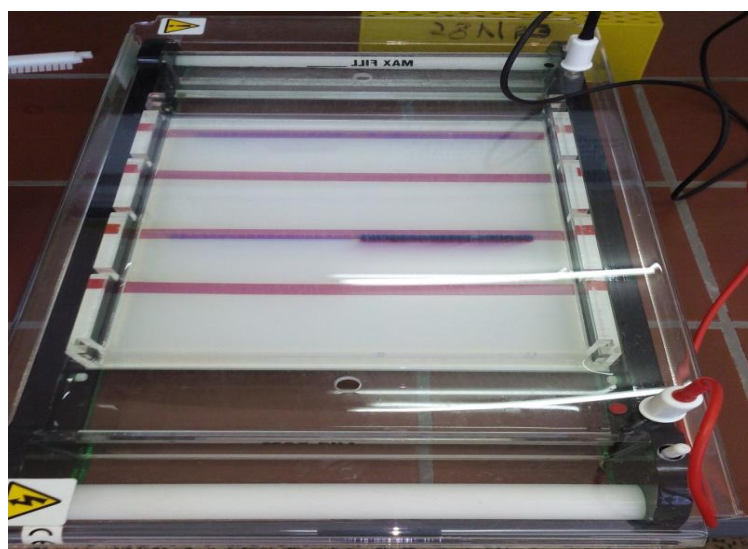


Image 11 : Electrophorèse sur gel d'Agarose à 2% pendant 2h , a 135 V et de 140 a 173 mA , des produits PCR

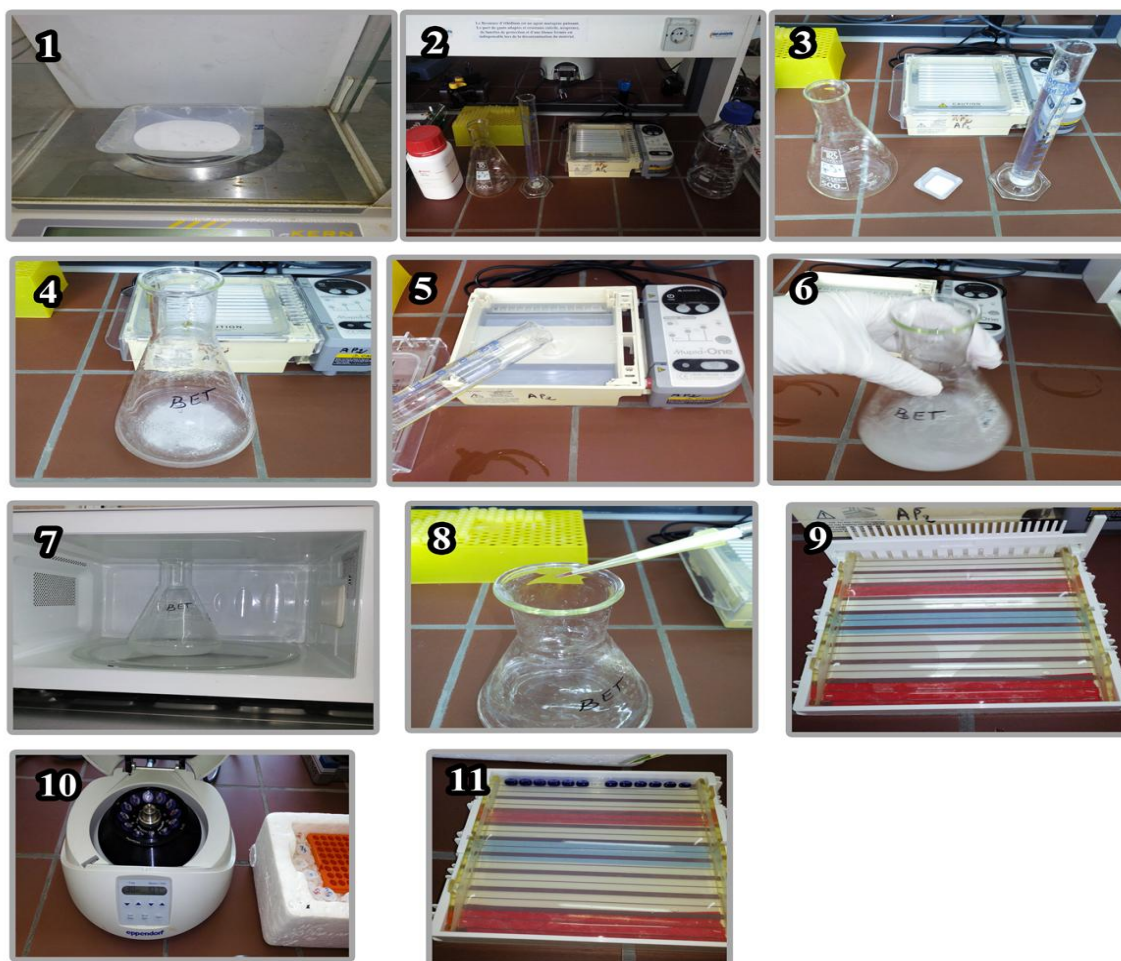


Image 12 : Protocole de préparation du gel d'électrophorèse

Les bandes RAPD sont ensuite visualisées sous lumière UV et photographiées en utilisant le système *E-BOX VX2* .

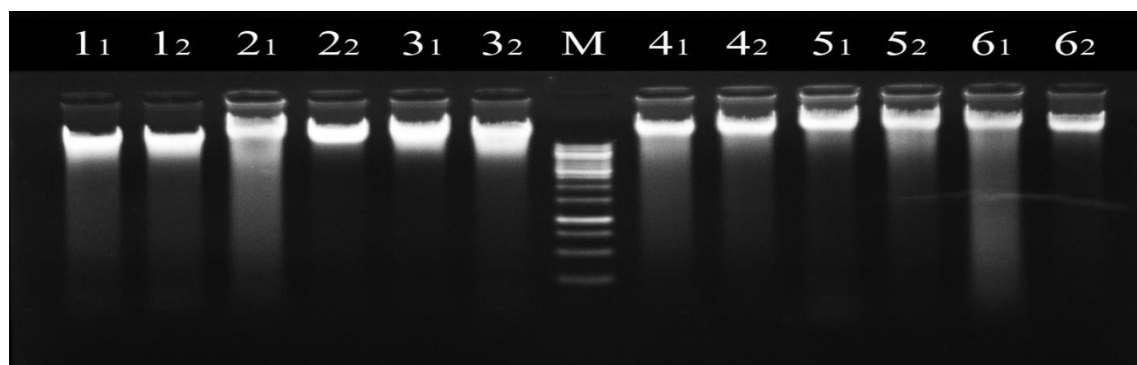


Figure 09 : Electrophorèse sur gel d'agarose a 0.8% , 30mn a 100 V pour vérification de la qualité de l'ADNg extrait des six variétés étudiées avec le marqueur de taille 1Kb .

6. L'Analyse statistique des Données

Afin de visualiser les relations génétiques entre les six génotypes étudiés , des matrices type Présence/Absence (1/0) de bandes ont été réalisées .

Un dendrogramme a été construit a partir des matrices du polymorphisme par regroupement sur la base de la méthode d'Analyse des données de la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). Ces traitement ont été réalisés sur *XL-STAT 2014* .

Pour chaque Amorce RAPD , il a été calculé , le nombre total de bandes amplifiées , le nombre de bandes monomorphes , le nombre de bandes polymorphes , et le pourcentage du polymorphisme par le logiciel *E-Capt* .

Après avoir calculé la fréquence allélique , La valeur du PIC a été calculée comme suit : (Botstein *et al.* , 1980)

$$PIC = 1 - \sum P_{ij}^2$$

Ou : P_{ij} = la fréquence de i^{th} allèle dans j^{th} génotype pour chaque locus .

L'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée pour déterminer les valeurs propres , le pourcentage et la variance cumulative . Ces traitement ont été réalisés par le logiciel *XL-STAT 2014* .

Troisième Chapitre
Résultats et Discussions

1. L'électrophorèse et la PCR : Analyse moléculaire par marqueurs

a. Le Polymorphisme détecté par les marqueurs RAPD

Pour l'étude de la diversité génétique de six variétés locales et introduites de blé dur , quinze amorces RAPD ont été utilisées .

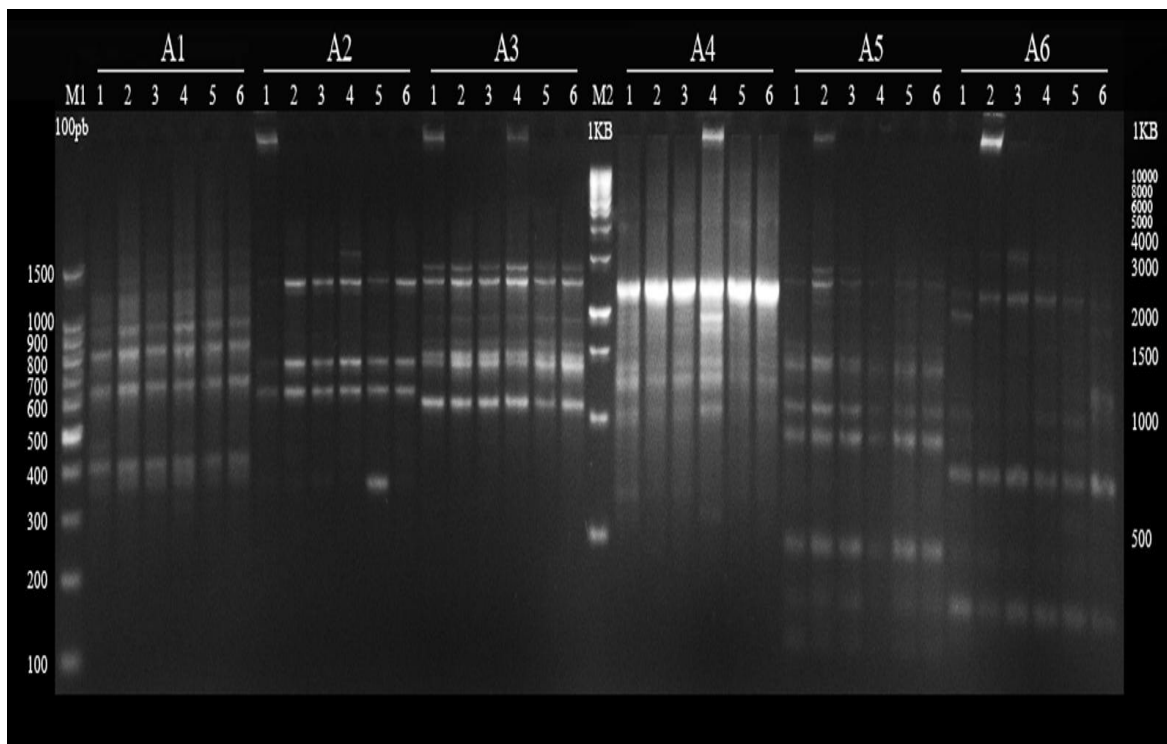


Figure 10 : Profil électrophorétique du gel d'agarose a 2% ,130V , de 132 a 174 mA pendant 2h15mn des produits PCR (six géotypes de codés de 1 a 6) Avec les Amorces OPG-09/OPF-20/OPA-17/OPC-05/OPE-13/OPO-03 (Codées de A01 a A06) , et les marqueurs de tailles 100pb et 1Kb

Les résultats des Figures n° 10 , 11 , 12 , montrent un polymorphisme important révélé par les amorces RAPD utilisées dans cette étude , leurs séquences , le nombre total de bandes Amplifiées (n) , Le nombre de bandes polymorphes (bp) , le nombre de bandes monomorphes (bm) et le pourcentage de polymorphisme (P%) , sont présentés sur le Tableau n° 06 .

Pour le pourcentage de polymorphisme , ce paramètre varie de 40% chez l'amorce OPF-20 a 100% chez les amorces OPH-20 , OPA-10 , OPA-13 , avec une moyenne de

69.14% . Il y'a a noter un taux de polymorphisme de 53.9% chez l'amorce OPO-06 , de 54.5% et 54.6 % chez les amorces OPG-09 et OPO-05 respectivement , un taux de 66.7 chez les deux amorces OPA-17 et OPE-13 , 70% et 75 % chez les amorces OPC-05 et B-19 respectivement , 84.6% chez l'amorce OPA-20 et enfin un taux de polymorphisme de 86.7% chez l'amorce OPB-01 . Sans oublier l'amorce OPJ-06 ou le taux de polymorphisme est de 0% a cause de l'absence de bandes polymorphes .

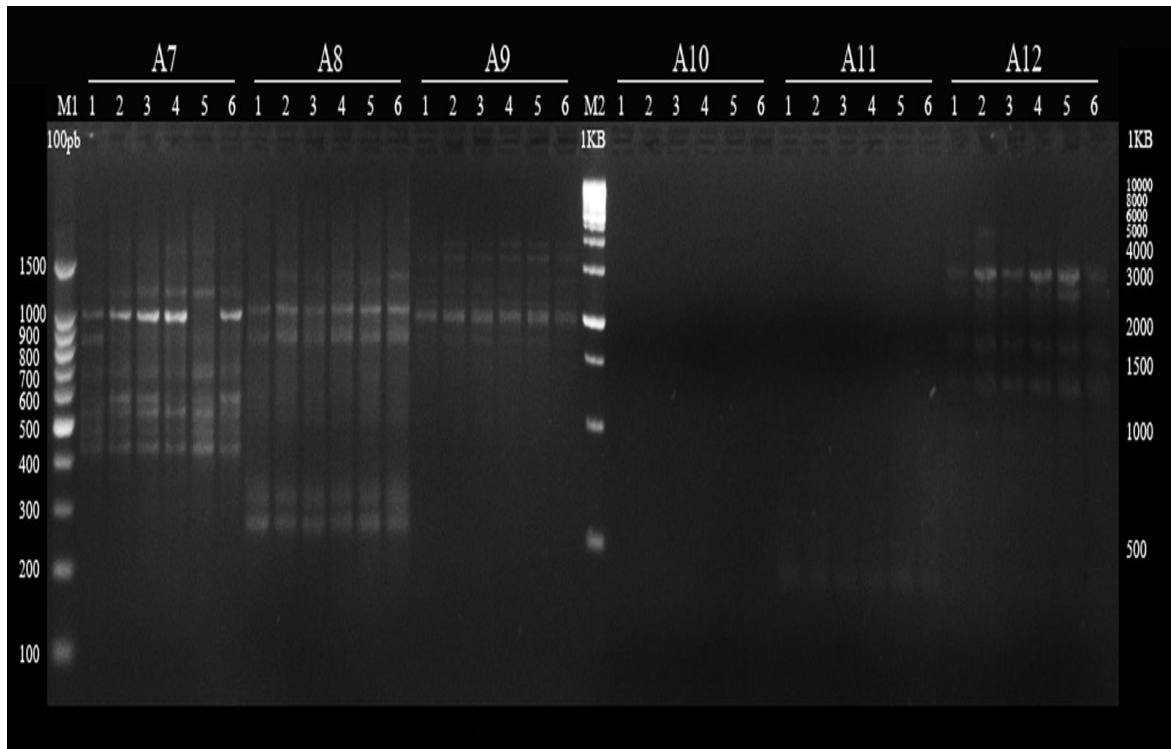


Figure 11 : Profil électro phorétique du gel d'agarose a 2% ,130V , de 132 a 174 mA pendant 2h15mn des produits PCR (six géotypes de codés de 1 a 6) Avec les Amorces OPO-05/OPO-06/B-19/OPA-20/OPH-20/OPJ-06 (Codées de A07 a A12), et les marqueurs de tailles 100pb et 1Kb

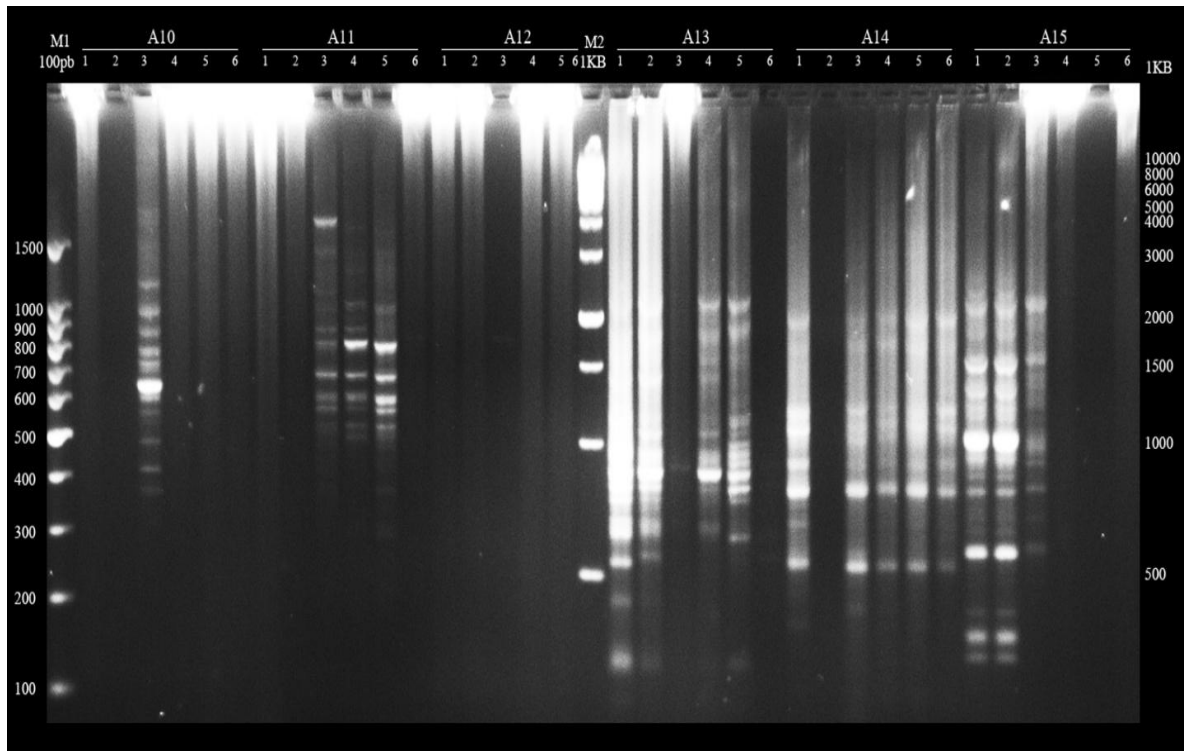


Figure 12 : Profil électrophorétique du gel d'agarose a 2% ,130V , de 120 a 165 mA pendant 2h30mn des produits PCR (six génotypes de codés de 1 a 6) Avec les Amorces OPA-20/OPH-20/OPJ-06/OPA-10/OPA-13/OPB-01 (Codées de A10 a A15) , et les marqueurs de tailles 100pb et 1Kb

b. La diversité moléculaire

Les quinze amorces étudiées ont produits un nombre total de cent soixante neuf bandes (Tableau n° 06) , avec une moyenne de onze bandes par amorce , dont quoi cent vingt quatre se sont révélées polymorphes soit 74%. On note la présence de quinze bandes chez les amorces OPE-13 et OPB-01 , Treize bandes chez les amorces OPO-03 , OPO-06 et OPA-20 , douze bandes chez les Amorces OPA-17 , B-19 , OPH-20 et OPA-10 . Aussi , onze bandes chez les amorces OPG-09 et OPO-05, Dix bandes chez les Amorces OPF-20 et OPC-05 , Huit bandes chez l'amorce OPA-13 et enfin Deux bandes chez l'amorce OPJ-06 .

Le nombre total de bandes monomorphes (bm) révélés par les amorces RAPD utilisées est de quarante cinq bandes , avec une moyenne de Trois bandes par Amorce . On observe la présence de Six bandes monomorphe chez les amorces OPF-20 et OPO-06 , Cinq bandes chez les amorces OPG-09 , OPE-13 et OPO-05 , Quatre bandes chez l'amorce

OPA-17 , Trois bandes chez les amorces OPC-05 et B-19 , Deux bandes chez les amorces OPO-03 , OPA-20 , OPB-01 et OPJ-06 en enfin Zéro bandes monomorphes chez OPH-20 , OPA-10 et OPA-13 .

Le nombre total de bandes polymorphes (bp) est de cent vingt quatre , ce nombre est maximum a treize bandes pour l’amorce OPB-01 . Dans cette étude , le nombre moyen de fragments polymorphes par amorces chez l’ensemble des génotypes étudiés est de huit bandes . Ont conclut la présence de Douze bandes chez les amorces OPA-10 et OPH-20 , Onze bandes chez les amorces OPO-03 et OPA-20 , Dix bandes chez l’amorce OPE-13 , Neuf bandes chez l’amorce B-19 , Huit bandes chez les amorces OPA-17 et OPA-13 , Sept bandes chez les amorces OPC-05 et OPO-06 , Six bandes chez les amorces OPG-09 et OPO-05 , Quatre chez OPF-20 et enfin Absence de bandes polymorphes pour l’amorce OPJ-06 .

Différents nombres d’Amorces ont été utilisées pour les études de différentes espèces de blé dur , et ont révéler différents degrés de polymorphisme . Tonk *et al.* , 2014 , ont montré l’importance et le degrés de polymorphisme révélé par ces Amorces en utilisant 17 amorces RAPD pour l’évaluation et la comparaison de la diversité génétique dans des génotypes de Triticale et révèlent 69.15% de polymorphisme parmi tous les génotypes étudiés . Nos résultats sont aussi en accord ceux rapporté par Grewal *et al.* , 2007 , avec 25 amorces RAPD et ont détecter 85.49% de polymorphisme parmi 20 génotypes de blé de l’Inde . Aussi , Cifci et Yagdi , 2012, ont utiliser 17 amorces RAPD avec 16 génotypes de blé tendre , et ont noter 74.9 % de polymorphisme . Ce qui indique que Nos résultats sont cohérents avec les études antérieurs sur cet axe .

2. Le contenu de l’information polymorphe (PIC)

a. La richesse Allélique

Le nombre moyen d'allèles par locus (A), appelé également taux d'allélisme ou richesse allélique, est défini pour ni allèles au locus i et pour L loci comme :

$$A = 1 / L \sum ni$$

Si les paramètres de diversité génétique (diversité de Nei , distance génétique et paramètres de différenciation génétique) sont estimées sur la base des différences entre les fréquences alléliques, le taux d'allélisme tient compte du nombre d'allèles par locus .

Pour décrire la diversité génétique , Nous avons calculé trois paramètres principaux dans notre étude qui sont : Le pourcentage de polymorphisme (P%) , la Fréquence allélique (fA) ainsi que le contenu de l'information polymorphe (PIC) . (Tableau n° 06)

Tableau 06 : Liste des Amorces RAPD utilisées avec leurs séquences , la taille des bandes amplifiées (TB pb) , le nombre total de bandes obtenus (n) , le nombre de bandes monomorphes (bm) , le nombre de bandes polymorphes (bp) , le pourcentage de polymorphisme (P%) , la moyenne majeure de la fréquence d'allèle (fA) , ainsi que le contenu de l'information polymorphe (PIC) .

Amorce	Séquence	TB pb	n	bm	bp	P%	fA	PIC
OPG-09	5'- CTGACGTCAC - 3'	300-3000	11	5	6	54.5	0.83	0.17
OPF-20	5'- GGTCTAGAGG- 3'	300-10000	10	6	4	40	0.90	0.10
OPA-17	5'- GACCGCTTGT - 3'	600-10000	12	4	8	66.7	0.80	0.20
OPC-05	5'- GATGACCGCC - 3'	400-10000	10	3	7	70	0.83	0.19
OPE-13	5'- CCCGATTCGG - 3'	100-10000	15	5	10	66.7	0.79	0.21
OPO-03	5'- CTGATACGCC - 3'	100-10000	13	2	11	84.6	0.79	0.23
OPO-05	5'- CCCAGTCACT - 3'	300-4000	11	5	6	54.6	0.83	0.17
OPO-06	5'- CCACGGGAAG - 3'	200-4000	13	6	7	53.9	0.78	0.21
B-19	5'- ACCCCCGAAG - 3'	100-5000	12	3	9	75	0.82	0.21
OPA-20	5'- CTTCGCATCC - 3'	300-10000	13	2	11	84.6	0.85	0.21
OPH-20	5'- GGGAGACATC - 3'	400-10000	12	0	12	100	0.65	0.32
OPJ-06	5'- TCGTTCCGCA - 3'	1500-10000	2	2	0	0	1	0
OPA-10	5'- GTGATCGCAG - 3'	200-10000	12	0	12	100	0.63	0.35
OPA-13	5'- CAGCACCCAC - 3'	200-1500	8	0	8	100	0.75	0.28
OPB-01	5'- GTTTCGCTCC - 3'	100-10000	15	2	13	86.7	0.71	0.28
Total	/	/	169	45	124	69.14	0.79	0.21

L'analyse du PIC a été effectuée pour déterminer la fréquence allélique , le nombre d'allèles amplifiés par amorce ainsi que la diversité génétique pour chaque amorce RAPD utilisées .

Les valeurs de la fréquence Allélique dans cette étude se sont révélées proches et varient de 1 chez l'amorce OPJ-06 à 0.63 chez l'amorce OPA-10 avec une moyenne de 0.79. On note une valeur de 0.65 chez l'amorce OPH-20, 0.71 chez l'amorce OPB-01, 0.78 chez l'amorce OPO-06, 0.79 chez les amorces OPE-13 et OPO-03. Aussi 0.80 chez l'amorce OPA-17, 0.82 chez l'amorce B-19, 0.83 chez les amorces OPG-09 et OPO-05 et OPC-05, 0.85 chez l'amorce OPA-20 et enfin 0.90 chez l'amorce OPF-20.

Par contre les valeurs du PIC varient chez les Amorces de la plus petite valeur, Zéro chez l'amorce OPJ-06 à la plus grande valeur 0.35 chez la variété OPA-10 avec une moyenne de 0.21. On note une valeur de 0.32 chez l'amorce OPH-20, 0.28 chez les amorces OPA-13 et OPB-01, 0.23 chez l'amorce OPO-03, 0.21 chez les amorces OPE-13, OPO-06, B-19 et OPA-20. Aussi 0.20 chez l'amorce OPA-17, 0.19 chez l'amorce OPC-05 et enfin 0.17 chez l'amorce OPG-04

Les valeurs modérées du PIC peuvent être attribuées aux natures diverses des génotypes de blé dur étudiés et/ou à la haute normativité des marqueurs RAPD utilisés dans cette étude. L'analyse de la valeur du PIC a été utilisée dans divers travaux sur la diversité génétique. (Qadir *et al.* 2015, Razmjoo *et al.*, 2015, Shinde *et al.* 2015, Tonk *et al.* 2014)

Pour compléter l'analyse on a effectué une classification Ascendante Hiérarchique.

3. La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

Un dendrogramme peut être construit sur la base des distances génétiques ou des bandes des profils électrophorétiques. Il représente donc une classification qui a pour but d'obtenir une représentation schématique simple d'un tableau de données dont les colonnes (Amorces) caractérisent l'ensemble des lignes (Variétés).

Il permet de visualiser les regroupements possibles de ces dernières, et en répartissant des entités en groupes (classes) homogènes, chaque groupe étant bien différencié des autres.

Le premier Dendrogramme représente les six variétés de blé dur étudiées Figure n° 13, et le deuxième représente les classes dans les quelles sont regroupées ces variétés Figure n° 14. On se basant sur la troncatures effectuées ces dendrogrammes

permettent de visualiser le groupement progressif des variétés . Toutes les analyses de regroupement sont basées sur les coefficients de similarité de Jaccard en utilisant une classification ascendante hiérarchique (CAH) .

Les analyses de regroupement par (CAH) en utilisant les similarité génétiques obtenues a partir des données RAPD sont montrés dans la Figure n° 13 et la Figure n° 14 .

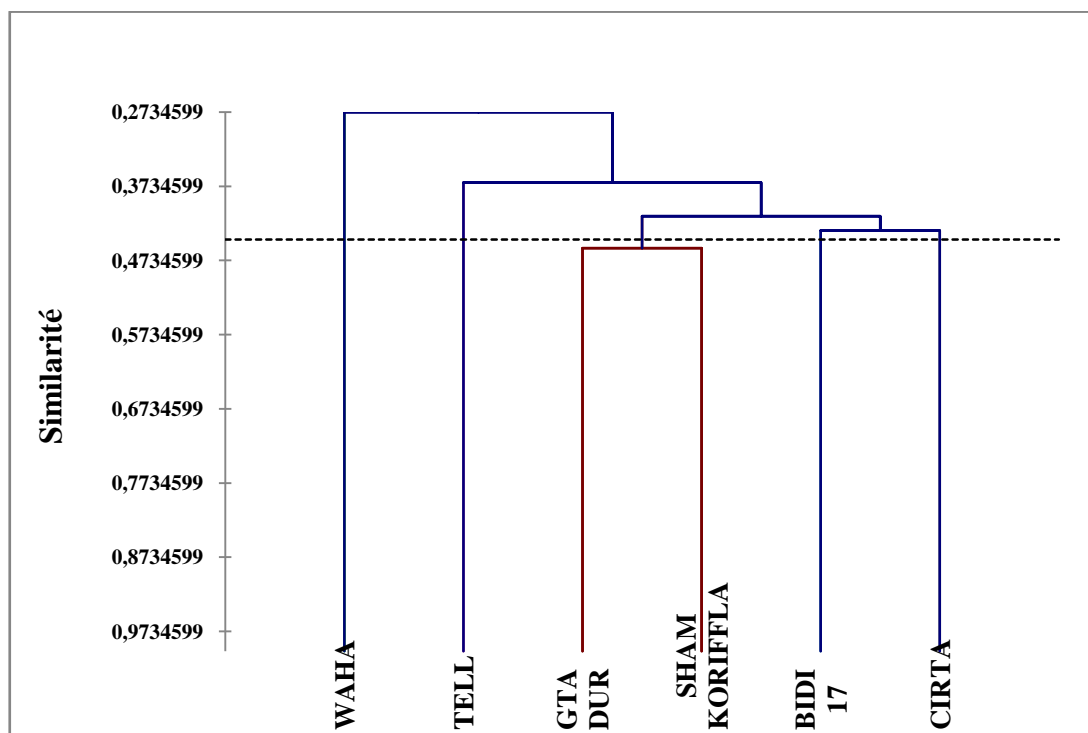


Figure 13 : Dendrogramme d'analyse de similarité pour les six variétés de blé dur étudiées obtenu par les Marqueurs RAPD

Les génotypes sont regroupés similairement avec de légères différences sur les deux figures (La première en classant les variétés , et la deuxième en créant des classes regroupant ces variétés) .

Les génotypes sont regroupés dans cinq classes : La première classe regroupe la variété locale BIDI-17 , variété Ancienne de l'Algérie . La deuxième classe contient la variété locale CIRTA qui est une variété Locale mais pas aussi ancienne que la variété BIDI-17 .

La troisième classe inclut la variété WAHA , variété introduite et améliorée de l'ICARDA, de la Syrie . La quatrième classe regroupe deux variétés Introduites ,qui sont

la variété GTA x DUR et KORIFFLA x SHAM , du CIMMYT en Mexique et de l'ICARDA en Syrie respectivement . Cela peut être due a l'Origine différente des Variétés.

Enfin la cinquième classe comprend la variété locale TELL , aussi de l'ITGC d'El Khroub , de l'Algérie qui est une variété récente par rapport aux deux premières variétés locales .

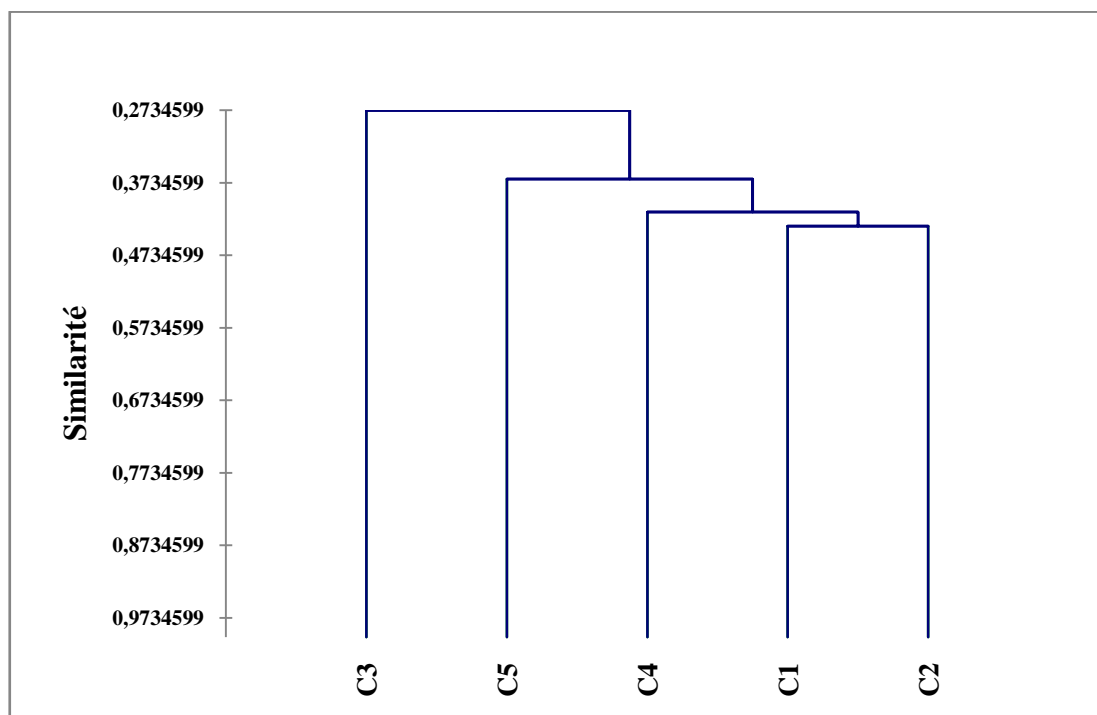


Figure 14 : Dendrogramme montrant les classes des six variétés de blé dur étudiées obtenu par analyse des Marqueurs RAPD
(C = classe) : C3 = V3 , C5 = V6 , C4 = V4 et V5 , C1 = V1 , C2 = V2

La similarité génétique obtenu par les données RAPD , plage de 0.27 a 0.97 avec une moyenne de 0.62 .

La matrice de similarité génétique obtenu a partir des données RAPD (Tableau n° 07), a été utilisée pour classer les variétés étudiées selon leur structure génétique .

Afin de connaître la distance génétique (D) entre deux variétés , nous avons effectué les calculs entre tous les individus pris deux à deux et A partir des distances génétiques, et le dendrogramme qui été construit a regroupé les individus qui ont des petites distances génétiques.

Tableau 07 : Matrice de similarité des variétés de blé dur par classes

	C 1	C 2	C 3	C 4	C 5
C 1	0				
C 2	0,707	0			
C 3	0,793	0,768	0		
C 4	0,748	0,692	0,768	0	
C 5	0,787	0,734	0,866	0,800	0

La distance génétique Varie de 0.692 a 0.800 avec une moyenne de 0.75 . La plus petite distance a été noté entre la variété CIRTA de la deuxième classe et les Deux variétés de la quatrième classe donc GTA x DUR et KORIFFLA x SHAM (0.692), tandis que la plus grande valeur est entre la quatrième classe et la variété TELL de la cinquième classe (0.800) .

Cependant les variétés regroupées ainsi , les deux Variétés introduites (GTA x DUR et KORIFFLA x SHAM) sont dans la même classe , mais la variété améliorée WAHA de l'ICARDA est classée seule . De même pour les variétés Locales , les variétés BIDI-17 et CIRTA sont regroupées ensemble , à l'exception de la variété TELL .

Tonk *et al.* , 2014 ont conclus que la corrélation pour les matrices de similarité RAPD a montré une très haute qualité de l'ajustement des groupes ou Quatorze variétés de tritcale de l'Egypte et de la Grèce ont été classées dans deux groupes séparant les variétés sur la base de leurs origines a l'exception d'une variété de la Grèce qui a été classé seule . ce qui est le cas notre étude. Aussi Tahir , 2008 a étudié 11 génotypes de blé de la Turquie , d'où deux groupes distincts pour le blé tendre . Le premier comprend Trois variétés et le deuxième deux variétés (Ces deux dernières ont montré un très haut taux de similarité) . Quant au blé dur , deux groupes aussi se sont révélés séparément , dont le premier comprend quatre variétés , deux d'entre elles ont montrées une très grande similarité , et le deuxième regroupe deux variétés , ou la variété Acsad 65 a montré la plus grande distance .

Dans le Tableau n° 08 sont affichées les informations concernant les nœuds successifs du dendrogramme qui sont complémentaires a l'analyse de la CAH . Le premier nœud a pour indice le nombre de variété augmenté de 1. Ainsi, il est aisé de repérer à quel moment une variété ou un groupe de variétés est regroupé avec une autre variété ou groupe de variété au niveau d'un nouveau nœud dans le dendrogramme.

Tableau 08 : Statistiques des Nœuds

Nœud	Niveau	Variété	Fils gauche	Fils droit
11	0,2735	6	3	10
10	0,3686	5	6	9
9	0,4138	4	7	8
8	0,4333	2	1	2
7	0,4569	2	4	5

Le Diagramme des niveaux (Figure n°15) est celui où sont affichées les statistiques des nœuds du dendrogramme.

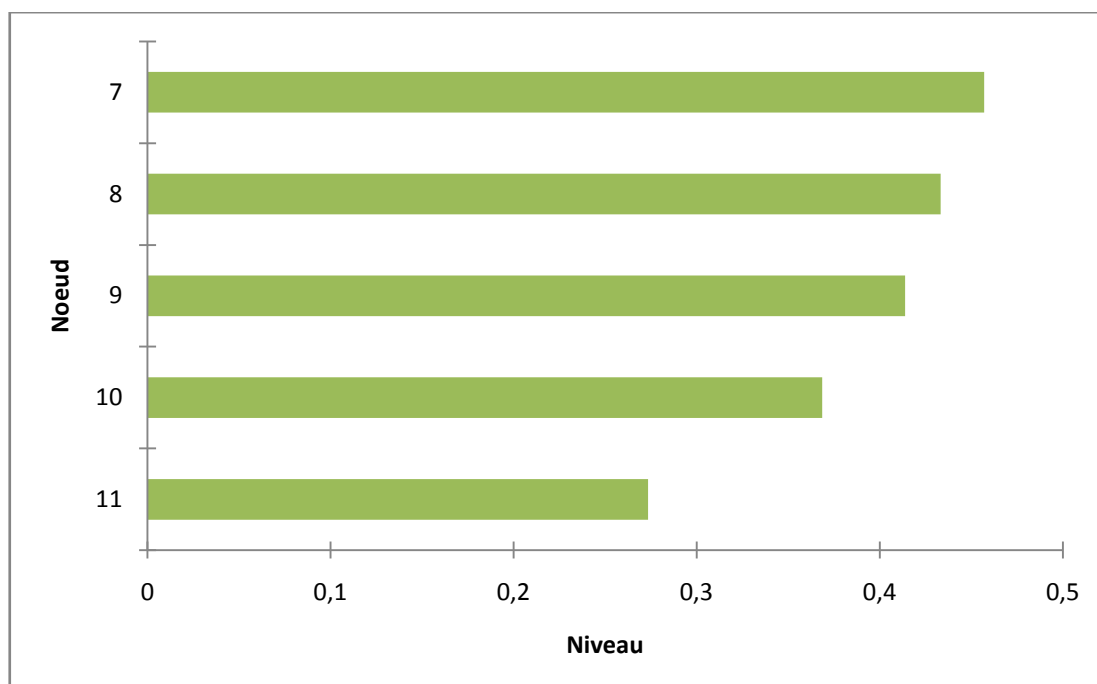


Figure 15 : Diagramme des niveaux des nœuds pour les génotypes étudiés

Pour plus de précision dans les résultats de classement des génotypes étudiés , nous avons procédé à une analyse des composantes principales (ACP) qui est une étude complémentaire définitive .

4. L'Analyse des composantes principales (ACP)

L'ACP est une des plus importantes méthodes de coordination . Elle construit une nouvelle série d'axes orthogonaux de coordination pour que la projection des variétés sur ces derniers ait le max de variance .

Dans cette étude les résultats de l'ACP ont été presque similaires (mais plus précis) aux résultats de la CAH .

Comme le montre le tableau n° 09 , le pourcentage de variabilité cumulée pour les six variétés est de 49.26% (27.46% pour F1 et 21.80 pour F2) .

Tableau 09 : Valeur propre et pourcentage de variabilité cumulé sur les cinq axes

	F1	F2	F3	F4	F5
Valeur propre	33,7809	26,8168	24,6128	20,6574	17,1321
Variabilité (%)	27,4641	21,8023	20,0104	16,7946	13,9286
% cumulé	27,4641	49,2664	69,2768	86,0714	100,0000

Ainsi le montre l'histogramme (Figure n°16) l'augmentation de la valeur du pourcentage de la variabilité cumulée de la valeur 27.46% pour F1 jusqu'à 100% pour F5 . Tandis que la valeur propre diminue du F1 au F5 et cela de 33.78 a 17.13 .

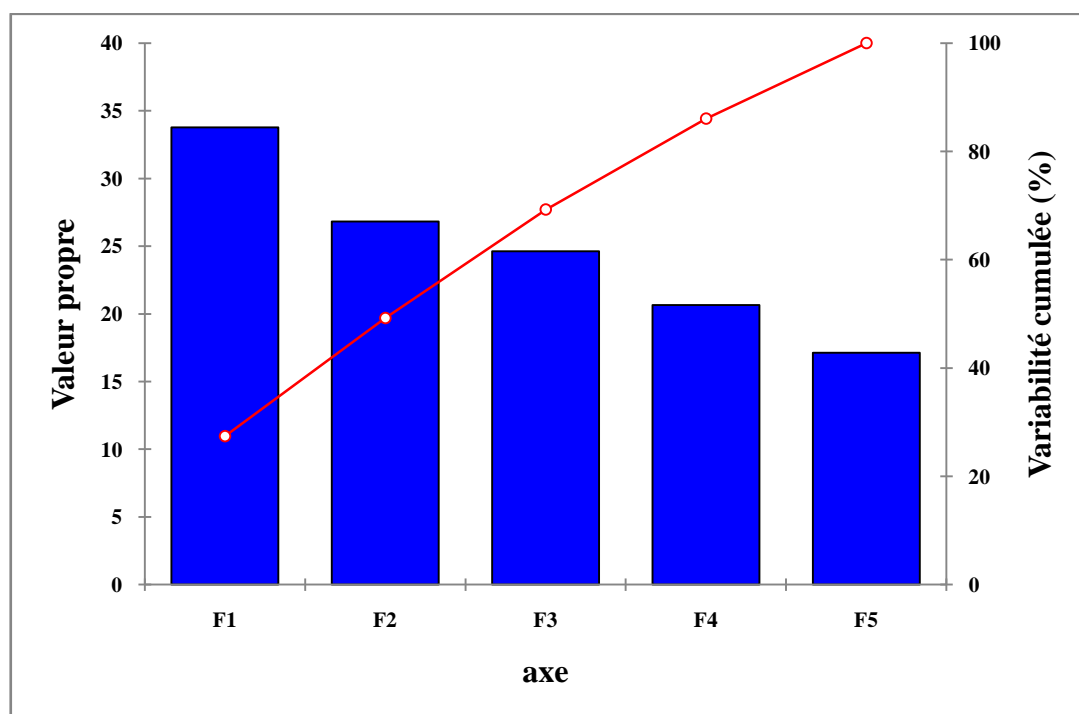


Figure 16 : Histogramme des Valeurs propres et pourcentages de la variabilité cumulée

Les deux premiers composants principaux comptent 49.27% de la variance génétique totale (Tableau n° 09) , dont 27.46% pour F1 et 21.80% pour F2 (Figure n° 16) ce qui confirme la fiabilité de l'ACP comme analyse de l'exploration de données dans les études sur la diversité génétique .

Tableau 10 : Pourcentages des contributions de chaque variété sur les différents facteurs

	F1	F2	F3	F4	F5
BIDI-17	0,0557	0,0083	29,8706	50,9263	2,4724
CIRTA	0,4361	1,3267	28,5154	28,5270	24,5281
WAHA	66,5057	9,4751	7,3500	0,0020	0,0005
GTAxDUR	0,0093	31,9076	0,0002	14,1320	37,2843
KORIFFLAxSHAM	3,8177	20,6421	23,9265	6,1078	28,8393
TELL	29,1756	36,6402	10,3373	0,3049	6,8753

Les valeurs en gras (Tableau n° 10) sont les valeurs pour les quelles la contribution d'une variété a la construction d'un facteur est grande . Ce qui est a noté , c'est que les variétés BIDI-17 , CIRTA et GTA x DUR ne contribue pas a la construction du premier facteur , aussi pas a la construction du deuxième facteur sauf la variété GTA x DUR

Contrairement a la CAH , l'analyse a groupée les six génotypes dans quatre classes au lieu de Cinq (Figure n° 17) . La première classe comprend la Variété locale TELL , la deuxième classe inclut la variété introduite et améliorée WAHA . Les variétés BIDI-17 et CIRTA sont groupées ensemble dans une troisième classe , tandis que la quatrième classe regroupe la variété GTA x DUR et la variété SHAM x KORIFFLA .

La différence donc est pour les deux variétés locales CIRTA et BIDI-17 qui sont regroupées dans une seule classe par cette analyse , et classées séparément avec la CAH . Donc les résultats des deux méthodes sont légèrement comparables et l'ACP vient complémentaire a la CAH .

Ce qui est le cas des travaux de Cifci et Yagdi , 2012 qui ont étudié Seize génotypes de blé et ont reportés que tous les génotypes sont groupés dans Deux groupes par la CAH , par contre l'ACP a révélé Cinq groupes , la différence ici est importante . Aussi Qadir *et al.* , 2015 ont étudié la diversité génétique dans des génotypes synthétiques de blé Hexaploïde avec des marqueurs RAPD , ou l'ACP a divisée les génotypes en Quatre groupes contrairement a la CAH qui a groupée les génotypes dans Deux groupes majeurs .

Cette variation peut être due au fait que les bandes de dimensions moléculaires similaires peuvent avoir des origines diverses . Aussi ainsi deux variétés Locales sont groupées ensemble . Deux variétés introduites sont aussi classées ensemble , Reste la

variété Améliorée introduite WAHA qui est classé seule , et la variété locale TELL qui est aussi classée seule .

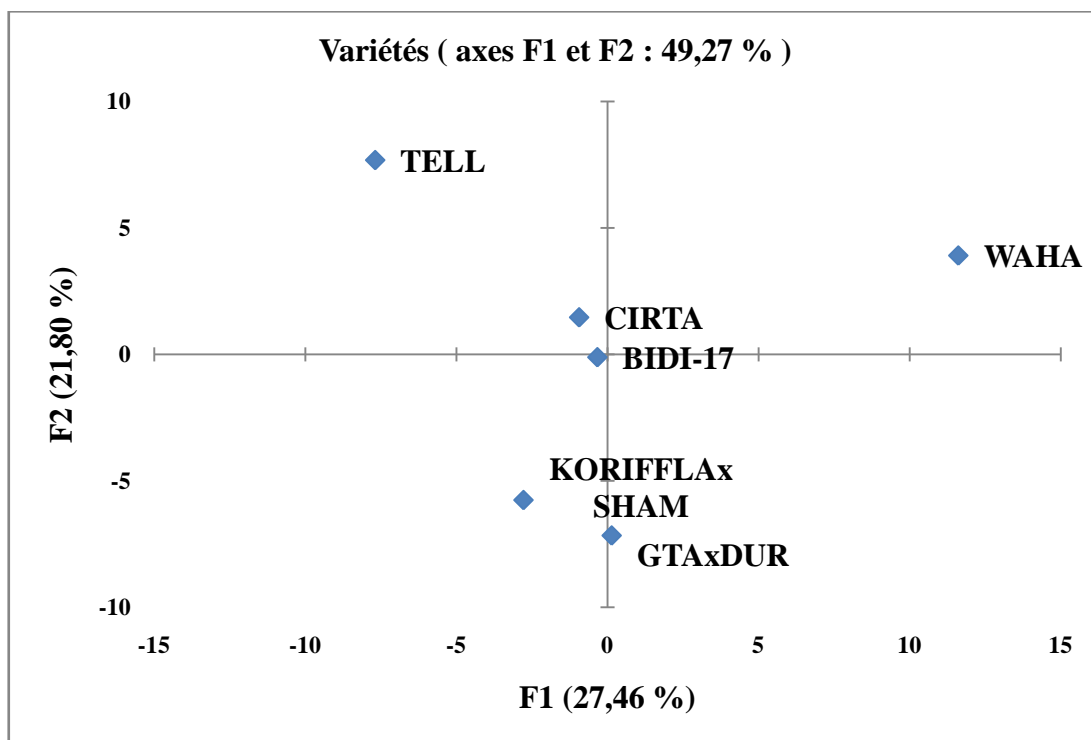


Figure 17 : Analyse des composantes principales des six variétés étudiées

Comme le montre la Figure n° 18 , la contribution de différentes amorces pour l'étude de la diversité génétique pour les six variétés .

On note que chaque variété est génétiquement différente et caractérisée par la présence d'un groupe d'amorces plus que d'autres pour l'étude de la diversité génétique .

Commençant par les variétés CIRTA et BIDI-17 ou l'amorce OPE-13 est présente avec Douze et Neuf allèles respectivement , l'amorce OPO-05 avec Huit et Sept allèles , l'amorce OPH-20 avec Trois allèles pour les deux variétés , l'amorce OPA-20 avec Deux allèles pour les Deux variétés aussi , aussi l'amorce OPA-13 avec Six et Quatre allèles respectivement , et enfin l'amorce OPO-06 avec Neuf et Sept allèles sont les plus présentes .

Pour les Variétés GTA x DUR et KORIFFLA x SHAM , l'amorce OPE-13 présente avec Huit et Dix allèles respectivement , l'amorce B-19 avec sept et Dix allèles , l'amorce OPO-05 avec Neuf allèles pour les Deux variétés, l'amorce OPO-06

avec Dix et Neuf allèles pour chacune des variétés , l'amorce OPH-20 Cinq allèles pour les deux variétés et l'amorce OPA-10 avec Dix allèles pour les Deux variétés . Ces amorces sont beaucoup présentes pour l'étude de ces deux variétés .

Avec la variété WAHA les amorces OPE-13 et OPO-03 sont présentes toutes les deux avec Dix allèles , les amorces OPO-06 et OPH-20 avec Huit allèles , et l'amorce OPB-01 avec treize allèles .

Et enfin l'amorce OPG-09 présente avec Neuf allèles , l'amorce OPE-13 avec Six allèles , l'amorce B-19 et l'amorce OPO-03 avec Sept allèles toutes les deux et l'amorce OPA-13 avec Huit allèles . Toutes ces amorces sont présentes dans l'étude sur la variété TELL .

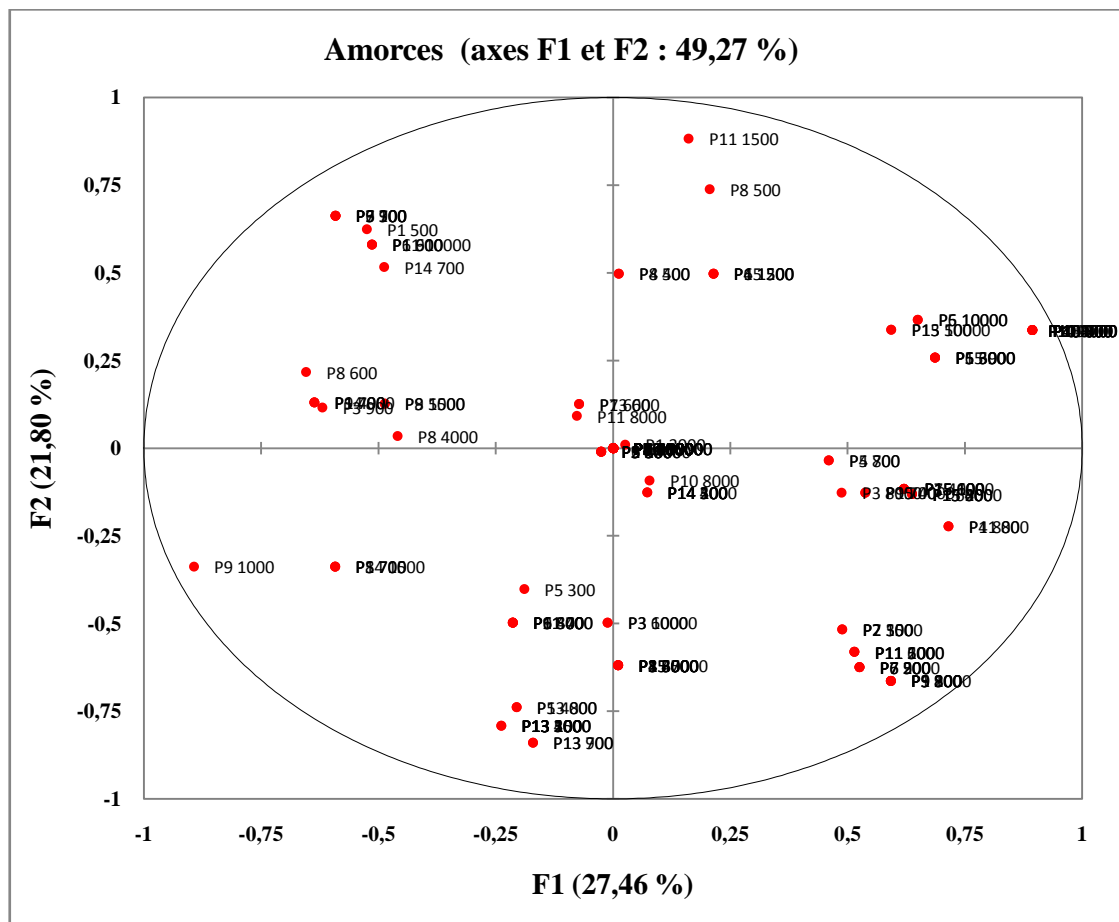


Figure 18 : Contribution des Amorce RAPD pour les six variétés

Conclusion générale

Conclusion générale

La diversité génétique de six variétés de Blé dur (*Triticum durum* . Desf) , dont trois variétés Locales et trois variétés introduites (ICARDA et CIMMYT) ont été évaluées par moyen de marqueurs moléculaires RAPD . Quinze amorces RAPD on été utilisées pour l'analyse et la comparaison de la diversité génétique des génotypes de blé étudiés .

Un total de bandes amplifiées de cent soixante neuf a été noté , dont quoi cent vingt quatre bandes polymorphes , donc soixante quatorze pour cent . Le nombre total de bandes amplifiées par amorce est de Deux bandes chez l'amorce OPJ-06 a quinze bandes chez les amorces OPE-13 et OPB-01 avec une moyenne de Onze bandes par amorce . Une corrélation significative a été observée entre le nombre total de bandes amplifiées et le nombre total de bandes polymorphes . La taille des amplifias PCR varie de 100 pb a 10000pb ,

Le contenu de l'information polymorphe, le coefficient de similarité génétique , la classification ascendante hiérarchique et l'analyse des composantes principales ont montrés une diversité génétique entre les génotypes étudiés .

Les valeurs du coefficient de similarité varient de 0.69 a 0.80 avec une moyenne de 0.75, indiquant une variabilité entre les variétés .

Les Six génotypes de blé ont été groupés dans Cinq classes selon une classification ascendante hiérarchique , les deux Variétés introduites GTA x DUR et KORIFFLA x SHAM sont dans la même classe , mais la variété améliorée WAHA de l'ICARDA est classée seule . De même pour les variétés locales , les variétés BIDI-17 et CIRTA sont regroupées, à l'exception de la variété TELL .

Pour plus de précision dans les résultats de classement , nous avons effectuer une analyse des composantes principales qui est une étude complémentaire définitive, et contrairement a la CAH , l'analyse a groupée les six génotypes dans quatre classes au lieu de Cinq . La première classe comprend la Variété locale TELL , la deuxième classe inclut la variété introduite et améliorée WAHA . Les variétés locales BIDI-17 et CIRTA sont groupées ensemble dans une troisième classe , tandis que la quatrième classe regroupe la variété GTA x DUR et la variété SHAM x KORIFFLA , introduites .

Chaque variété est génétiquement différente et caractérisée par la présence d'un groupe d'amorces plus que d'autres pour l'étude de la diversité génétique .

La classe des variétés CIRTA et BIDI-17 , présente un nombre d'allèles élevé par rapport a la classe des Variétés GTA x DUR et KORIFFLA x SHAM ou le nombre est égale a celui de la classe de la variété WAHA (les trois variétés introduites présentent pratiquement le même nombre d'allèles pour les amorces présentes) , et le nombre est encore réduit chez la classe de la variété locale TELL .

Le classement des variétés locales ensemble et le nombre élevé d'allèles présents chez ces variétés par analyse RAPD par rapport aux variétés introduites , confirme qu'il existe une diversité génétique entre les variétés que ce soit par rapport a leurs origines diverses , ou par rapport a leur adaptation au milieu vis-à-vis les conditions de l'environnement .

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Abbassenne. F , Bouzerzour. H , Hachemi. L (1997) : « Phénologie et production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) en zone semi-aride ». *Annales Agronomiques INA*, n°18. p24- 36.

Abdellatif. K.F et Abouzeid. H.M (2011) : « Assessment of genetic diversity of Mediterranean bread wheat using RAPD markers » . *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* . n°9 . p157-163 .

Al-Fares. H et Abu-Qaoud. H (2012) : « Molecular characterization of genetic diversity in some durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in Palestine » . *African Journal of Biotechnology* . n°11. p12958-12963 .

Anonyme (2016) : Légère hausse de la production de blé en 2015 - Le domaine du commerce Agricole , <http://www.tsa-algerie.com/> site consulté le 05/02/2016 a 18 :00.

Babay. E , Hanana. M , Mzid. R , Ben Haj salah. H , Rodrigez-Quijano. M , Ghorbel. A , Slim Amara. H (2014) : « Diversité génétique et qualité technologique du blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.) Husn.) cultivé en Tunisie ». *New Science* .p34.

Bahlouli. F, Bouzerzour. H , Benmahammed. A, Hassous. K.L (2005) : « Selection of high yielding and risk efficient durum wheat (*Triticum durum* Desf.) ».

Baldy. C , Ruelle. P , Fernandes. A (1993) : « Résistance à la sécheresse du sorgho-grain en climat méditerranéen ». *Sécheresse*, n°4 . p85-93.

Benabdelhafid. Z , Bouldjadj. R , Ykhlef. N , Djekoun. A (2015) : « Selection of salinity tolerance and molecular genetic markers in Durum Wheat *Triticum durum* Desf » . *International Journalof Advenced Research* . n°3. P 397-406 .

Bhourikhila. S , Douh. B , Mguidiche. A , Boujelben. A (2015) : « Effet de la contrainte hydrique et des changements climatiques sur la productivité du blé dur en conditions climatiques semi arides en Tunisie » . *Larhyss journal*. p70.

Botstein. D , White. R.L , Skolnick. M , Davis. R.W (1980) : « Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment lenght polymorphism » . *Am. J. Hum. Gen.* n°32. P314-333.

Bousba. R (2012) : « Caractérisation de la tolérance a la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum Desf*) » . *Thèse de Doctorat de l'Université Mentouri Constantine* .117p.

Bousba. R , Baum. M , Djekoun. A , Labadidi. S , Djighly. A , Benbelkacem. K , Labhilili. M , Gaboun. F , Ykhlef. N (2012) : « Screening for Drought Tolerance using Molecular Markers and phenotypic diversity in Durum wheat Genotypes» . *World Applied sciences journal* . p1219-1226 .

Bousba. R , Djekoun. A , Ykhlef. N (2010) : « Identification des marqueurs biochimiques et physiologiques de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur *Triticum durum Desf* » . *Revue des régions arides – numéro spécial* - . p628-633 .

Bousba. R , Ykhlef. N , Djekoun. A (2009) : « Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of Durum wheat (*Triticum durum Desf*) » . *World journal of agricultural sciences* . p609-616 .

Bouzerzour. H , Benmahammed. A , Benkharbache. N , Hassous. K.L (2002) « Contribution des nouvelles obtentions à l'amélioration et à la stabilité du rendement d'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone semi-aride d'altitude » . *Revue Recherche Agronomique de l'INRAA*, n°10. p45-58.

Bouzerzour. H , Zerargui. H , Dekhili. M (1995) : « Relationships among duration of vegetative and grain filling periods, yield components and grain yield in durum wheat » . *Awamia*, n°75 . p15-23.

Cattiveli. L , Baldi. P , Crosatti. N , Di Fonzo. N (2002) : « Chromosome regions and stress related sequences involved in resistance to abiotic stress in Triticeae » *Plant Molecular Biology*. n°48. p649-665.

Cifci. A.E et Yagdi. K (2012) : « Study of genetic diversity in Wheat *Triticum Aestivum* Varieties using RAPD Analysis » . *Turkish journal of field Crops* . n°17 . p91-95.

Clarke. J.M et Mc Craig. T.N (1982) : « Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat » . *Crop Sci.*n° 22. p503-506.

Croston. R.P, et Williams J.T (1981) : « A world survey of wheat genetic resources » . *IBRGR. Bulletin* /80/59. p37 .

De vienne. D (1998) : Les Marqueurs Moléculaires en Génétique et Biotechnologie Végétales . *INRA* Edition. p204.

Dekkers. J.C.M et Hospital. F (2002) : « The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations [Review] » . *Natl. Rev. Genet.* n°3. p22-32.

Djermoun. A (2009) : « La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques » . *Nature et Technologie* n°01. p45-47.

Eagles. H.A , Bariana. H.S , Ogonnaya. F.C , Rebetzke. G.J , Hollamby. G.J , Henry. R.J , Henschke. P.H , Carter. M (2001) : « Implementation of markers in Australian wheat breeding » . *Aust. J. Agric. Res.* n°52 . p1349–1356.

FAO A (2015) : « Statistical Pocketbook – Word Food and Agriculture » .

FAO B (2015) : « Perspectives de l'Alimentation - Les marchés en bref » , I5003F/1/10.15 .

Farooq. S , Shah. T.M , Askari. E , Zaidi. A.A , Arif. M , Iqbal. N (1994) « Identification of different wheat genotypes through polymorphism based on random amplified polymorphic DNA (RAPD) » . *Pakistan Journal of Botany.* n°26.p373-382.

Fellah. A , Benmahammed. A , Djekoun. A , Bouzerzour. H (2002) : « Sélection pour améliorer la tolérance aux stress abiotiques chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*) » . *Actes de l'IAV*, Hassan II, (Maroc) . n°22 . p161-170.

Gallais. A (2011) : « Méthodes de création de Variétés en Amélioration des Plantes » . *Quae* Edition. p280.

Gallais. A (2013) : Evolution des outils pour l'amélioration des plantes . De la Domestication a la Transgénèse . *Quae* Edition . p184.

Gaufichon. L , Prioul. J-L , Bachelier. B (2010) : « Quelles sont les perspectives d'amélioration génétique de plantes cultivées tolérantes à la sécheresse ? » . *FARM.* p3038.

Grewal. S , Kharb. P , Malik. R , Jain. S , Jain. R.K (2007) : « Assessment of Genetic diversity among some Indian Wheat cultivars using RAPD markers » . *Journal of Biotechnology* . n°6 . p18-23.

Hamada. Y (2002) : « Evaluation de la variabilité génétique et utilisation des espèces tétraploïdes du genre *Triticum* pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) » . *Thèse Magister. Université Mentouri Constantine*, p167.

Hamon. S , Picard. D (2010) : Biotechnologies végétales . *Quae* Edition. p64.

Henry. Y, et Uyser. J (2000) : « L'origine du blé ». *Pour la Science*, Hors série 26. p60-62.

Huang. L , Brooks. S.A , Li. W.L , Fellers. J.P , Trick. H.N , Gill. B.S (2003) : « Map based cloning of leaf rust resistance gene *Lr21* from the large and polyploid genome of bread wheat ». *Genetics* 164. p655–664.

Khan. M.K , Pandey. A , Thomas. G , Akkaya. M.S , Kayis. S.A , Ozsensoy. Y , Hamurcu. M , Gezgin. S ,Topal. A , Hakki. E.E (2015) : « Genetic diversity and population structure of wheat in India and Turkey » . *AoB plants Journal for plant sciences* . p1-14 .

Kölliker. R , Last. L , Herzog. F , Widmer. F (2012) : « La diversité génétique dans l'agriculture » . *Recherche Agronomique Suisse* 5 . p12–19

Kribaa. M (2002) : « Effet de la jachère sur les sols en céréaliculture pluviale dans les zones semi-arides méditerranéennes. Cas des hautes plaines Sétifiennes en Algérie » . *Thèse d'Etat INA El-Harrach* . p170 .

Kučka Hložáková. T , Gálová. Z , Gregová. E , Vivodík. M , Balážová. Z , Miháliková. D (2016) : « RAPD Analysis of the genetic polymorphism in European Wheat genotypes » . *Potravinarstvo Scientific Journal for Food Industry* . n°1, p1-6 .

Langridge. P , Lagudah. E.S , Holton. T.A , Appels. R , Sharp. P.J , Chalmers. K.J (2001) : « Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review » . *Aust. J. Agric. Rest.* n°52. p1043-1077.

Leclerc. JC (1988) : « Ecophysiologie végétale » . *Edition l'Université de Saint Etienne*. p350 .

Levitt. J (1980) : « Responses of plants to environmental stresses. I chelling, freezing, ad high temperature stresses » . 2 ed. *Academic press*. NY. p640.

Levy. A , Feldman. M (2002) : « The impact of polyploidy on grass genome evolution». *Plant Physiol.* 130. p1587-1593.

Mahjoub. A , Mguis. K , Rouaissi. M , Abdellaoui. R , Ben Brahim. N (2012) : « RAPD analysis of genetic diversity in natural populations of *Aegilops geniculata* Roth and *Triticum durum* Desf from Tunisia » . *Agriculture and Biology Journal of North America* . n°11. p466-475.

Mazouz. L (2006) : « Etude de la contribution des paramètres phénol-morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf.) dans l'étage bioclimatique semi-aride». *Mémoire de Magister, université Hadj Lakhdar, Batna.* p7.

Mebrek. N , Benrachedi. K , Mouhouche. B (2009) : « Etude de l'effet du stress hydrique du blé dur ». *Le journal de l'Eau et de l'Environnement.* p71.

Mekhlouf. A , Bouzerzour. H , Benmahammed. A , Hadj Sahraoui. A , Harkati. N (2006) : « Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) au climat semi-aride». *Sécheresse* . p80-89

Metzker. ML (2010) : « Sequencing technologies – The next generation » . *Nature Reviews* . p36.

Monneveux. P & This. D (1997) : « La génétique face au problème de la tolérance des plantes cultivées a la sécheresse : espoirs et difficultés » . ENSA.INRA . *Sécheresse n° 1* , vol 8 . p29-37.

Monneveux. P (1991) : « Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance à aux déficit hydrique des céréales d'hiver ? » . *In amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides.* Tunis (Tinisie), AUPELF- UREF, p165-186.

Monneveux. P , Reynolds. M.P , Aguilar. J.G , Singh. R.P (2002) : « Effects of the 7DL-7AJ translocation from *Leghopyrum elongatum* on wheat peld and related morphophysiological traits under different environments ». *Plant breeding.* n°122. p379-384.

Morot-Gaudry. J-F , Briat. J-F (2004) : « La génomique en biologie végétale » . *INRA* Edition. p349-453.

Nachit. M , Nachit. G , Keteta. H , Gauch. H.G , Zobel. R.W (1992) : « Use of AMMI and linear regression models to analyse genotype environment interaction in durum wheat». *Theor. Appl. Gent* . n°83 . p597-601.

Naghavi. M.R , Malaki. M , Alizadeh. H , Pirseiedi. M , Mardi. M (2009) : « An Assessment of Genetic Diversity in wild Diploid Wheat *Triticum boeoticum* from West of Iran using RAPD , AFLP and SSR markers » . *Journal . Agr . Sci.Tech* . n°11. p585-598 .

Najimi. B, El Jaafari. S, Jlibène. M, Jacquemin. JM (2003) : « Applications des Marqueurs Moléculaires dans l'Amélioration du Blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes » . *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* p43.

Naville. M (2005) : « La biodiversité des espèces cultivées : Analyse dans le cas du blé ». *Boutique des Sciences* . p9-14 .

Nielsen. N , Backes. G , Stougaard. J , Andersen. S , Jahoor. A (2014) : « Genetic Diversity and Population Structure Analysis of European Hexaploid Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties» . *PLOS one*. p13.

Nouri. L (2002) : « Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) , en conditions de déficit hydrique ». *Thèse de magister en Biologie Végétale*. p4-16.

Oweiss. Th.Y , Zhang. H (1998) : « Water use efficiency : index for optimizing supplemental irrigation of wheat in water scarce areas ». *J. Applied Irrigation Science*. n°33 . p321-336.

Pena. R.J, Pfeiffer. W.H (2005) : « Breeding methodologies and strategies for durum wheat quality improvement ». In : *Durum wheat breeding: current approaches and future strategies*. Food product press. p663-686.

Prat. D , Faivre Rampant. A , Prado. (2006) : « Analyse du Génome et Gestion des ressources génétique forestières » . *INRA Edition*. p456.

Qadir. A , Ilyas. M , Akhtar. W , Aziz. E , Rasheed. A , Mahmood. T (2015) : « Study of genetic diversity in synthetic hexaploid wheats using RAPD » . *The Journal of Animal & Plant Sciences*. n°25. p1660-1666 .

Rawashdeh. I , Rawashdeh. N.Q , Haddad. N.I , Ahmed. A (2010) : « Genetic Diversity Analysis among Jordanian Durum Wheat Landraces, Improved Cultivars and Wild Types (*Triticum dicoccoides*) Using RAPD Technique » . *Jordan Journal of Agricultural Sciences*. n°4. p548-559.

Razmjoo. M , Mohammadi. R , Shooshtari. L (2015) : « Evaluation of genetic diversity in durum wheat genotypes (*Triticum turgidum var. durum*) using ISSR markers » . *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* . p522-529.

Sabbour. A.M , Gomaa. E.F , Sallam. R.A , Shaaban. S.A (2015) : « Genetic Diversity among Some Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes as Revealed by RAPD and SSR Analyses ». *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* n°15. p2069-2075.

Saghai-Marouf. M.A , Soliman K.M , Jorgensen R.A , Allard R.W (1984) : « Ribosomal DAN spacer-length polymorphisms in barley : Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics ». *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* . p8014-8018.

Samouelian. F , Gaudin. V , Boccara. M (2009) : « Génétique Moléculaire des Plantes ». *Quae* Edition. p230.

Santoni. S , Faivre-Rampant. P , Prado. E , Prat. D (2000) : « Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes ». *Cah. Agri.* n°9. p3311-3327.

Sawalha. K , Eideh. H , Laham. S , Hasasneh. H , Mezeid. B (2008) : « Genetic diversity studies on Wheat Landraces in Palestine using RAPD markers in comparison to phenotypic classification ». *Journal of Applied Biological Sciences* . n°2 . p29-34.

Scofield. T , Evans. J , Cook. M.G , Wardlaw. I.F (1988) : « Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat ». *Aust.J.Plant physiol* . n°4. p785-797.

Shinde1. A , Mahajan. S.R , Adlinge. P.M. , Patil1. A.G (2015) : « Genetic finger printing of different cultivars of wheat by using RAPD marker » . *Indian Res. J. Genet. & Biotech* . n°7 . p400-404 .

Smadhi. D , Zella. L (2012) : « Variabilité de la pluviométrie et son impact sur la production céréalière au nord de l'Algérie , période 1970-2009 ». *Science & Technologie*. p56.

Tahir. N.A (2008) : « Assessment of Genetic diversity among Wheat varieties in Sulaimanyah using RAPD analysis ». *Journal of Biological sciences* . p159-164.

Tonk. F.A , Tosun. M , Ilker. E , Istipliler. D , Tatar. O (2014) : « Evaluation and comparison of ISSR and RAPD markers for assessment of génétic diversity in *Triticum* genotypes ». *Bulgarian journal of Agricultural Science* . n°6 . p1413-1419.

Triboi. E , Planchon. J , Magne. J (1985) : « Déterminisme du poids moyen du grain chez le blé. Effet sur la variation du rendement ». *CR Acad. Agri de France*. n°71. p871-886.

Turner. N.C (1979) : « Drought resistance and adaptation to water deficits in crops plants». *in : Stress Physiology in Crop Plants, Mussell, H. et Staples, R.C. (éd.) Wiley intersciences* , New York, p303-372.

Van Oosterom. E.J , Ceccarelli. S , Peacock. J.M , (1993) « Yield response of barley to rainfall and temperature in Mediterranean environments ». *Journal of Agricultural Sciences Cambridge*. n°121. p304-313

Vellend. M & Geber. M.A (2005) : « Connection between species diversity and genetic diversity ». *Ecology Letters* 8 . p767–781.

Voltas. J , Romagosa. I, Lafarga. A , Armesto. A.P , Sombrero. A , Araus J.L (1999) : « Genotype by environment interaction for grain yield and carbon isotope discrimination of barley in Mediterranean Spain ». *Australian Journal of Agricultural Research*. n° 50, p1263–1271.

Ykhlef. N (2001) : « Photosynthèse, activité photochimique et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Dref) ». *Thèse de doctorat d'Etat, Université Mentouri, Constantine*. p146.

Annexes

Annexe 01

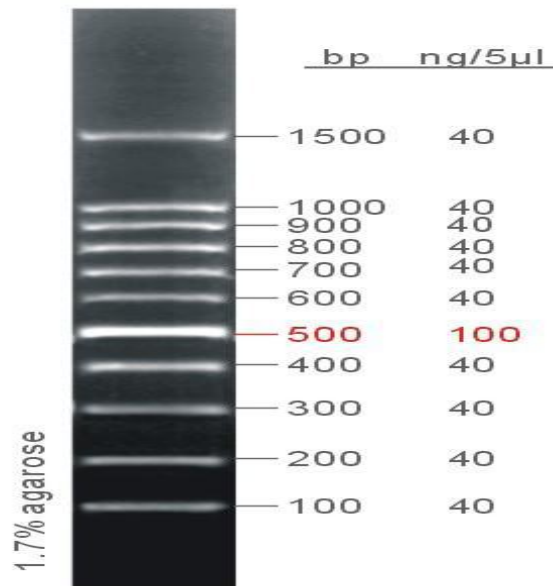
Le Milieu de culture BD utilisé en culture Hydroponique pour 5 L volume final

Solutions mères		Pour 1L	Pour 100 ml	V a prélever
1) CaCl ₂ 2H ₂ O	2 M	294 g/l	29.4 g	2.5ml/5L
2) KH ₂ PO ₄	1 M	136 g/l	13.6 g	2.5ml/5L
3) MgSO ₄ 7H ₂ O	0.5 M	123 g/l	12.3 g	2.5ml/5L
K ₂ SO ₄	0.5 M	87 g/l	8.7 g	
MnSO ₄	2 mM	0.34 g/l	0.034 g	
4) Fe , EDTA	195 mM	7.34 g/l	0.734 g	62.5ml/5L
5) Oligoéléments				2.5ml/5L
H ₃ BO ₃	4 mM	0.247 g/l	0.1235 g	
MgSO ₄ 7H ₂ O	1 mM	0.288 g/l	0.144 g	
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.4 mM	0.100 g/l	0.05 g	
CoSO ₄ 7H ₂ O	0.2 mM	0.056 g/l	0.028 g	
NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.2 mM	0.048 g/l	0.024 g	

Annexe 02

Marqueur de taille 100 pb (Biomatik DNA ladder , Quantitative , ready to use)

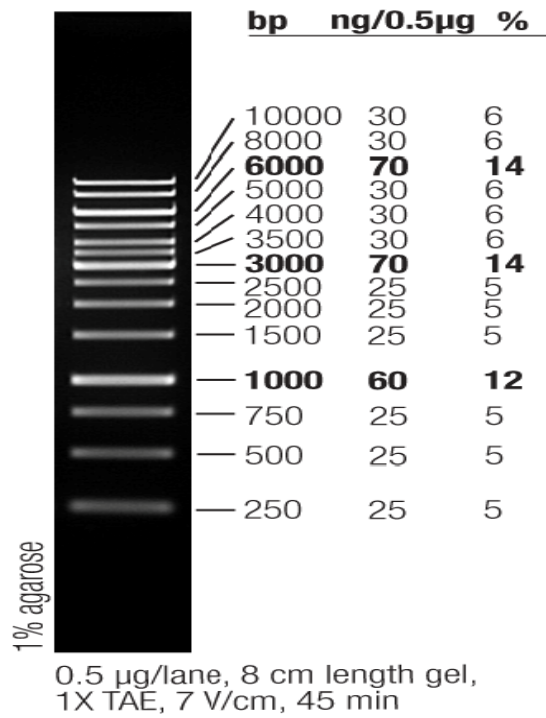
100bp ladder



5 µl/lane, 8 cm gel
0.5×TBE, 5 V/cm, 1 h

Annexe 03

Marqueur de taille 1 Kb (O'Gene Ruler DNA ladder , ready to use)



Annexe 04

Cosinus carrés des six génotypes étudiés

	F1	F2	F3	F4	F5
BIDI-17	0,0010	0,0001	0,4014	0,5743	0,0231
CIRTA	0,0084	0,0202	0,3984	0,3345	0,2385
WAHA	0,8378	0,0948	0,0675	0,0000	0,0000
GTAx DUR	0,0002	0,4789	0,0000	0,1634	0,3575
KORIFLAX SHAM	0,0682	0,2926	0,3113	0,0667	0,2612
TELL	0,4200	0,4187	0,1084	0,0027	0,0502

Les valeurs en gras correspondent pour chaque variété au facteur pour lequel le cosinus carré est le plus grand .

Diversité génétique et Adaptation de quelques variétés de Blé dur
- *Triticum Durum* Desf - :
Utilisation des marqueurs moléculaires

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et Génomique végétale

L'étude présente porte sur l'évaluation de la diversité génétique par Quinze amorces de marqueurs RAPD de six géotypes de Blé dur (*Triticum durum* . Desf) d'origines locales et introduites .

Un total de bandes amplifiées de cent soixante neuf a été noté , dont quoi cent vingt quatre bandes polymorphes , donc soixante quatorze pour cent . Le nombre total de bandes amplifiées par amorce est de Deux bandes chez l'amorce OPJ-06 a quinze bandes chez les amorces OPE-13 et OPB-01 avec une moyenne de Onze bandes par amorce . Les valeurs du coefficient de similarité varient de 0.69 a 0.80 avec une moyenne de 0.75, indiquant une variabilité entre les variétés .

Les Six géotypes de blé ont été groupés dans Cinq classes selon une classification ascendante hiérarchique , les deux Variétés introduites GTA x DUR et KORIFFLA x SHAM sont dans la même classe, mais la variété améliorée WAHA de l'ICARDA est classée seule . De même pour les variétés locales, les variétés BIDI-17 et CIRTA sont regroupées à l'exception de la variété TELL . L'analyse en composantes principales a groupée les six géotypes dans quatre classes au lieu de Cinq , ou les variétés locales BIDI-17 et CIRTA sont classées ensemble .

Les variétés locales présentent un nombre d'allèles élevé par rapport au nombre d'allèles présents chez les variétés introduites .

Mots clés : Blé dur , stress Abiotique , Marqueurs moléculaires , Adaptation , Diversité génétique , RAPD.

Laboratoire de recherche de Biochimie , Génétique et Biotechnologie végétale à UFM Constantine .

Jury d'évaluation :

Président du jury : M^{me}. YKHLEF Nadia , **Professeur** à UFM Constantine .

Rapporteur : M^{me}. BOUSBA Ratiba , **MCA** à UFM Constantine .

Examineur : M^{lle}. MOUELLEF Adra , **MAA** à UFM Constantine .

Date de soutenance : 18/06/2016