



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 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Génomique Végétale

Intitulé :

**Caractérisation moléculaire de quelques variétés algériennes
de blé dur (*Triticum durum* Desf.) par les microsatellites.**

Présenté et soutenu par : *NOUAR Abderrahmane*

BENABDELKADER Yasser

Le : 28/06/2018

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Dr. BOUSBA Ratiba. M.C.A UMC Constantine

Rapporteur : Mr KELLOU Kamel. M.A.A UMC Constantine

Examineur : Dr. BENBELKACEM Abdelkader. Directeur de recherche INRAA
Constantine

*Année universitaire
2017 - 2018*

Remerciements

Tout d'abord j'aimerais remercier notre encadrant Mr KELLOU K. Maître assistant à l'université Mentouri Constantine 1 qui nous a proposé ce thème, qui nous a aidés presque chaque jour du matin au soir, qui nous a appris beaucoup de choses, je le remercie pour tous les conseils qu'il nous a donnés, pour tous ses encouragements. Je le remercie du fond du cœur pour tous ces moments qu'on a passés à travailler ensemble.

Je remercie Betty, Wafa, Mohamed et Anis qui n'ont jamais hésité à apporter leur aide, et plus important encore un grand merci à Faiza pour l'aide incommensurable qu'elle a apportée.

Je remercie les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail Dr Bousbaa R et Dr Benbelkacem A. c'est un grand honneur pour moi que vous ayez accepté de juger mon travail.

Je remercie l'équipe du laboratoire dont Mr BELBEKRI, Mme Chafika, Mr Temagoult, Mme Rima, pour tous les conseils qu'ils nous ont donnés, pour toute l'aide qu'ils ont apportée et pour tous leurs encouragements.

Merci à tous les professeurs qui m'ont enseigné durant mon cursus universitaire, en particulier Mr Hamidechi A. Mr Chehili H. et Mme Benabdoun M.

ABDOU N.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en premier lieu à mes chers parents pour toutes ces années de sacrifices.

A ma chère soeurette Mína qui a toujours été là pour moi.

A mes 2 frères Arslane et Samí qui m'ont toujours soutenus moralement

A Bétty qui arrive toujours à me redonner le sourire

A Mr Nadir B mon employeur qui m'a toujours encourager à continuer alors que je n'étais ~~presque~~ jamais au bureau à cause de mes études !

A tous mes amis qui ont toujours été là pour moi !

ABDOU N.

Table des matières

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Le blé dur.....	3
1. Généralités.....	3
2. Origines.....	3
2.1. Origine géographique	3
2.2. Origine génétique	3
3. Culture du blé dur	5
3.1. Dans le monde.....	5
3.2. En Algérie.....	5
4. Maladies du blé dur	7
4.1.La rouille.....	7
a. La rouille jaune.....	7
b. La rouille noire.....	8
c. La rouille brune.....	8
4.2.. Les septorioses.....	10
a. La tache séptorienne.....	10
b. La septoriose des feuilles et épis.....	10
4.3. L'oidium.....	12
a. L'oidium sur les feuilles	12
b. L'oidium sur les épis.....	12
5. Importance alimentaire et économique	12
5.1.Dans le monde	12
5.2.En Algérie.....	13
II. Les marqueurs génétiques.....	14
1. Définition.....	14
2. Types de marqueurs	14
2.1. Les marqueurs morphologiques	14
2.2. Les marqueurs biochimiques ou protéiques	14
3. Caractéristiques d'un bon marqueur moléculaire	15
4. Types de marqueurs moléculaires	15
4.1.Les marqueurs dominants	16
a. Les marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....	16
b. Les marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	16

4.2. Les marqueurs Co-dominants	17
a. Les marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....	17
b. Les microsatellites : SSR (Simple Sequence Repeat).....	17
c. Les marqueurs STS (Sequence-Tagged Sites).....	21

Chapitre II : Matériels et Méthodes

I. Matériels	22
1. Matériel végétal	22
II. Méthodes	22
1. Extraction de l'ADN	22
2. Dosage de l'ADN	24
3. Evaluation de la qualité de l'ADN	24
4. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	24
5. Vérification de l'amplifiât par électrophorèse sur gel d'agarose.....	26

Chapitre III : Résultats et Discussion

I. Vérification de la quantité et la pureté des ADNs extraits.....	27
II. Contrôle de la qualité d'ADN extrait	28
III. Polymorphisme des marqueurs étudiés	30
1. Marqueurs liés aux gènes de qualité du blé dur.....	30
1.1. Locus Xpsp2999.....	30
1.2. Locus Xpsp3000.....	31
1.3. Xgwm193.....	32
2. Marqueurs liés aux gènes de résistance à la fusariose.....	33
2.1. Locus Xgwm2.....	33
2.2. Locus Xgwm493.....	35
2.3. Locus Xgwm533.....	36
2.4. Locus Xgwm674.....	37
3. Marqueurs liés aux gènes de résistance aux rouilles	38
3.1. Locus Xgwm140.....	38
3.2. Locus Xbarc8.....	38
3.3. Locus Xwmc44.....	39
3.4. Locus Xgwm161.....	40
IV. Analyse de la diversité génétique.....	42
V. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH).....	44

Conclusion et perspectives.....46

Références bibliographiques.....48

Résumé

La culture du blé est l'une des plus anciennes pratiques agricoles adoptée par l'homme afin de subvenir à ses besoins nutritifs. Avec l'avancement technologique, l'homme est passé de la sélection massale vers les biotechnologies et la sélection assistée par marqueurs. Le blé dur est une céréale cultivée à travers le monde entier, surtout dans les pays méditerranéens où sa culture représente environ 70% des terres cultivées. Les différences climatiques et géographiques entre les régions potentielles en blé avec la domestication pratiquée par l'homme sont les raisons principales de la grande diversité variétale et génétique au sein de cette plante. Les pays qui considèrent le blé comme étant une grande culture exploitent cette grande biodiversité afin de lutter contre les différentes contraintes biotiques et abiotiques qui réduisent le rendement et qui font qu'ils ne soient pas auto-suffisants. Ces pays font des travaux scientifiques dans le but de développer leurs variétés locales ou de créer des nouvelles variétés. Pour cela, ils font appel aux méthodes de croisements et de sélection.

Dans ce travail, nous avons identifié les marqueurs les plus polymorphes des caractères de résistance désirables au sein de huit variétés locales du blé dur qui sont homologuées et cultivées dans la région de Constantine. Et on les a comparés avec deux variétés de blé tendre et une variété d'une ancienne sélection de blé dur. Pour ce faire, nous avons utilisé des marqueurs moléculaires de type SSR. Pour atteindre notre objectif, 11 marqueurs microsatellites ont été choisis avec des amorces qui leur sont spécifiques, et cela pour amplifier les régions d'ADN ciblé afin de pouvoir visualiser le polymorphisme au sein du génome des différentes variétés de blé dur. Nos résultats ont indiqués que les cultivars utilisés dans cette étude pouvaient être utilisés pour améliorer la résistance à certaines maladies, la qualité et la diversité génétique et aussi que la variabilité génétique élevée enregistrée chez les variétés du blé dur homologuées peut être exploitée au future dans les programmes de sélection assistés par marqueurs.

Mots Clés : Blé, Polymorphisme, Microsatellites, SSR, SAM, Caractère.

Abstract

Wheat cultivation is one of the oldest agricultural practices adopted by man to support his nutritional needs. With technological advancement, man has passed from nomadism and mass selection to biotechnology and marker-assisted selection. Durum wheat is a cereal crop adopted throughout the world, especially in Mediterranean countries where its cultivation accounts for about 70% of cultivated land. The climatic and geographical differences between the potential wheat regions and the domestication practiced by humans are the main reasons for the great varietal and genetic diversity within this plant. Countries, which consider wheat as a large crop, exploit this great biodiversity to combat the different biotic and abiotic constraints that reduce yields and make them self-satisfactory. These countries are doing scientific works in order to develop their local varieties or to create new varieties. For this, they use the methods of crossing and selection.

In this work, we identified the most polymorphic markers of desirable characteristics of resistance in eight local varieties of durum wheat that are registered and grown in the Constantine region. Then they were compared with two varieties of soft wheat and a variety of an old selection of durum wheat. To perform our objectif, we used molecular markers of the SSR type and, to achieve our goal, 11 microsatellite markers were chosen with their specific primers and so to amplify the targeted DNA regions in order to be able to visualize the polymorphism in the genome of the different varieties of durum wheat. Our results indicated that varieties we used in this study could be used to upgrade the resistance of some diseases, the quality and the genetic diversity and the high genetic variability recorded on these varieties of wheat can be used in the future on the MAS programs

Key words: Wheat, Polymorphism, Microsatellites, SSR, MAS, Characters.

ملخص

زراعة القمح هي واحدة من أقدم الممارسات الزراعية التي اعتمدها الإنسان لدعم احتياجاته الغذائية. مع التقدم التكنولوجي ، انتقل الإنسان من الوسائل التقليدية والانتقاء الجماعي إلى التقنيات الحيوية والانتقاء بمساعدة الواسمات. القمح الصلب نوع من الحبوب التي تزرع في جميع أنحاء العالم ، وخاصة في بلدان البحر الأبيض المتوسط حيث أن زراعته تحتل 70 ٪ من الأراضي الزراعية.

إن الاختلافات المناخية والجغرافية في المناطق الملائمة لزراعة القمح التي تقوم بتحسين نوعيته من طرف الإنسان هي من الأسباب الرئيسية لتنوع الأصناف والتنوع الجيني داخل هذا النبات. تستغل البلدان ، التي تعتبر القمح كمحصول ذو قيمة ، هذا التنوع البيولوجي الكبير لمكافحة مختلف المعوقات الحيوية واللاحيوية التي تقلل المردود وتجعلها مكثيفة ذاتياً. تقوم هذه الدول بأعمال علمية لتطوير أصنافها المحلية أو لإنشاء أصناف جديدة. لهذا ، يستخدمون أساليب النمو والانتقاء.

شهدت الجزائر تطوراً كبيراً في أساليب الانتقاء حيث يستهدف المصنفون الخصائص التي تجعل المحصول مقاوم أو يستهدفون المردودية عبر الانتقاء المعمول بواسطة الواسم "SAM"

في هذا العمل ، حددنا الواسمات التي تملك أشكال متعددة لخاصية المقاومة في ثمانية أنواع من القمح الصلب المحلي المسجل والمزروع في منطقة قسنطينة. ثم قورنت مع نوعين من القمح اللين و تشكيلة مختارة من القمح الصلب. من أجل تنفيذ هدفنا

• قمنا باستخدام واسمات جزيئية من نوع SSR

لتحقيق هدفنا إختارنا 11 واسم مع وسيلة تشغيل خاصة وذلك لتوسعة مناطق الحمض النووي المستهدف حتى نتمكن من معاينة تنوع الأشكال في وسط جينوم لمختلف أصناف القمح الصلب •

	Page
Figure 1 : Origine géographique du blé dur	4
Figure 2 : Origine génétique du blé dur	4
Figure 3 : Production du blé dur dans le monde	6
Figure 4 : La rouille du blé dur	9
Figure 5 : La septoriose du blé dur	11
Figure 6 : L'oïdium du blé dur	13
Figure 07 : Technique de la révélation d'un polymorphisme par les marqueurs moléculaires dominants	18
Figure 8 : Technique de la révélation d'un polymorphisme par les marqueurs moléculaires co-dominants	20
Figure 9 : Analyse de la qualité d'extraction des ADNs de chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre par électrophorèse sur gel d'agarose à 0.5%	29
Figure 10 : Analyse de la qualité des extraits d'ADN de 3 génotypes de blé dur et tendre (Cirta, Hoggar, et Chinese Spring) par électrophorèse sur gel d'agarose 0.5% après dilution.	29
Figure 11 : Vérification de l'amplification du locus Xpsp2999 chez 09 variétés de blé dur et 02 de blé tendre sur un gel d'agarose de 2%	30
Figure 12 : Vérification de l'amplification du locus Xpsp3000 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur gel d'agarose à 2%.	31
Figure 13 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm193 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur un gel d'agarose de 2%	33
Figure 14 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm2 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur gel d'agarose à 2%	34

Figure 15 : 2e vérification de l'amplification du locus Xgwm2 chez les variétés Cirta et Hoggar du blé dur sur gel d'agarose à 2%.	34
Figure 16 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm493 des 09 variétés de blé dur et 02 de blé tendre sur un gel d'agarose à 2%	35
Figure 17 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm533 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur un gel d'agarose de 2%.	36
Figure 18 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm674 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur gel d'agarose à 2%	37
Figure 19 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm140 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur un gel d'agarose de 2%	38
Figure 20 : Vérification de l'amplification du locus Xbarc8 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur gel d'agarose 2%	39
Figure 21 : Vérification de l'amplification du locus Xwmc44 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur gel d'agarose 2%	40
Figure 22 : vérification de l'amplification du locus Xgwm161 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur gel d'agarose 2%	41
Figure 23 : Dendrogramme montrant les relations entre les 11 génotypes de blé dur et tendre étudiés	44
Tableau 01 : Variétés de blé dur sélectionnées pour notre essaie	23
Tableau 02 : Amorces utilisées dans les réactions PCR	25
Tableau 3 : Quantités d'ADN extraites des 11 génotypes étudiés et rapports de pureté	27
Tableau 4 : Nombre d'allèles amplifiés, nombre d'allèles polymorphes, polymorphisme et contenu de l'information du polymorphisme (PIC)	42

INTRODUCTION

L'agriculture est une pratique très ancienne qui a vu le jour depuis des milliers d'années, l'homme l'a appliqué afin de couvrir ses besoins alimentaires après qu'il a voulu reproduire les bonnes variétés des fruits qu'il consommé. De nos jours les cultures céréalières occupent une place importante dans l'alimentation de tous les pays du monde, et surtout les pays africains. (Nedjah, 2016)

Parmi les céréales cultivées en Afrique, il se trouve que la culture du blé est d'une importance primordiale parce qu'elle représente la matière première pour des produits d'alimentation de base pour l'homme (pain, pâtes alimentaires, biscuits...), et aussi pour l'animale de ferme tel que les volailles. (Amallah, 2017).

En Algérie, environ 3.5 millions d'ha des superficies agricoles sont consacrés à la culture des céréales, cela a été confirmé selon les statistiques de l'année 2017 de l'ONFAA (Observatoire National des Filières Agricole et Agronomie), dont 40% est occupée par le blé dur. Mais malgré cela et les efforts fournis, le rendement reste insuffisant pour atteindre l'autosatisfaction surtout avec la population qui est toujours en croissance. (Nedjah, 2016).

La production algérienne des céréales n'a pas pu atteindre l'autosuffisance, elle couvre une partie seulement de la consommation du peuple, ceci est expliqué par des problèmes climatiques tel que la pluviométrie variable et faible qui se traduisent par des contraintes hydriques et thermiques (Azaoui, 2015).

Alors vu la grande importance que représente la culture du blé en Algérie, le pays a développé des stratégies agricoles afin de dépasser ces obstacles et réaliser l'objectif de couvrir ses besoins en blé pour un début, et peut être entrer dans le maillon de l'exportation de cet aliment. Parmi les stratégies que l'Algérie a mis au point ; les méthodes de sélection directes, mais ces méthodes ont montrées une limite vis-à-vis des problèmes techniques et le temps que prend cette sélection, alors les recherches menées par les organisations du domaine ont tourné leurs attentions vers les techniques qui leur font gagner le temps et qui fournissent des résultats plus précis.

Cela implique l'utilisation des nouvelles technologies de la biologie moléculaire afin de créer des variétés qui présenteront le maximum des caractéristiques désirables en vue de la résistance aux différents stressés et aussi sur les plans quantitatifs et qualitatifs.

Parmi ces nouvelles biotechnologies qui sont pratiquées dans la création variétale on trouve la sélection assistée par marqueurs ou bien SAM, cette technologie permet de sélectionner et de cribler les caractères désirables dès la F2, ce qui va aider à réduire le temps nécessaire à la fixation des caractères ciblés.

Le travail qui va être effectué représente la première étape qui précède la sélection assistée par marqueurs, cette étape consiste à trouver les marqueurs qui présentent un polymorphisme détectable au sein des génomes de quelques variétés de blé dur homologués et cultivés dans la région de l'Est Algérien « Le Constantinois », les marqueurs qu'on a utilisé sont de type Microsatellites, et ces SSR montrent une liaisons avec des caractères de qualité et de résistance qui sont intéressants aux yeux des producteurs et des sélectionneurs.

A la fin de notre travail, nous serons capables de répondre à quelques questions telles que la possibilité d'utiliser les marqueurs qu'on a choisis dans des future SAM ? La possibilité de proposer des variétés avec une meilleure performance. Et aussi la possibilité de faire un génotypage pour nos variétés locales afin de les enregistré.

BIBLIOGRAPHIE

I. Le blé dur (*Triticum durum*)

1. Généralités

Le blé est une plante annuelle, herbacée, monocotylédone appartenant au genre *Triticum* et à la famille des poacées dont : le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*T. durum*). Ce sont des espèces à feuilles alternes, formées d'un chaume portant un épi constitué de deux rangées d'épillets sessiles et aplatis. Les fleurs sont nombreuses, petites et peu visibles, elles sont groupées en épis situés à l'extrémité des chaumes. Le blé dur est le principal représentant des blés tétraploïdes à grains nu (Lounes et Guerfi, 2010)

La culture du blé dur constitue l'une des activités agricoles importantes. Il y a plus de trois millions d'années que les nomades pratiquaient la chasse et la cueillette pour se nourrir. Après la stabilité des nomades, la culture des céréales est devenue possible. Le blé était l'une des céréales connues depuis l'antiquité, sa culture remonte vers 7000 avant Jésus-Christ (Ruel, 2006).

2. Origine

2.1. Origine géographique

Les blés sauvages tétraploïdes sont largement répandus au Proche-Orient, où les humains ont commencé à les récolter dans la nature. Comparativement aux blés diploïdes, leurs grands épis et leurs gros grains les rendaient beaucoup plus intéressants pour la domestication. On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, la Syrie, l'Iraq, l'Iran et la Palestine. (**Figure 01**) (Feldman, 2001).

2.2. Origine génétique

Plusieurs espèces de ploïdie différentes sont regroupées dans le genre *Triticum* qui est un exemple classique d'allo-polypléidie, dont les génomes homéologues dérivent de l'hybridation inter espèces appartenant à la même famille (Levy et Feldman, 2002). Le blé dur (*T. turgidum* ssp. *durum* Desf.) est une espèce allo-tétraploïde ($2n= 28$, AABB) qui a pour origine l'hybridation suivie par un doublement chromosomique entre *T. urartu* (génomme AA) et une espèce voisine d'*Aegilops speltoides* (génomme BB) (**Figure 02**) (Huang et al., 2002).

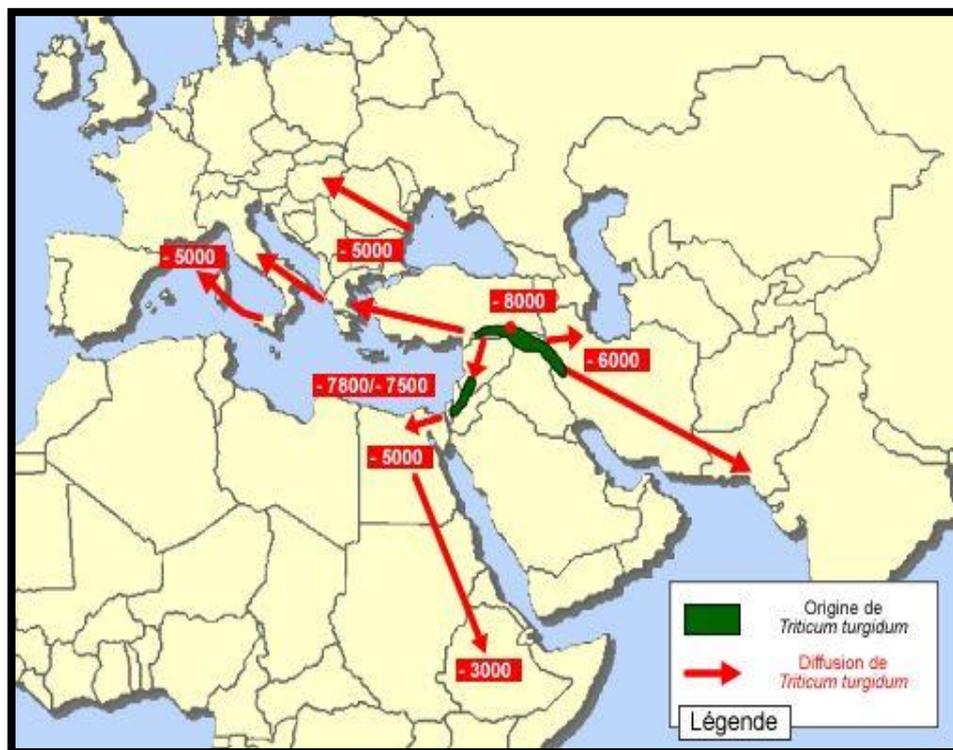


Figure 01 : Origine géographique du blé dur (Viagallica, 2018).

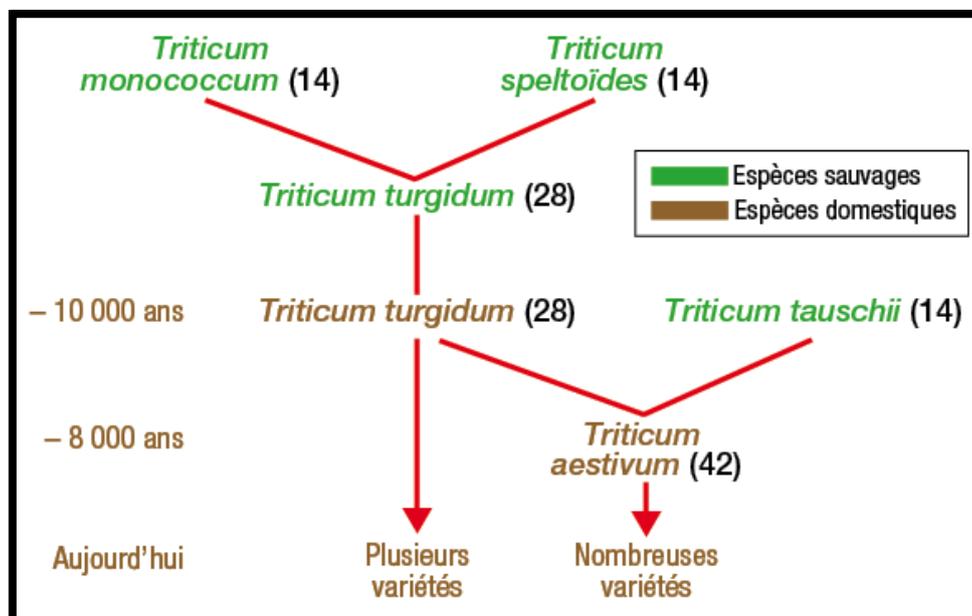


Figure 02 : Origine génétique du blé dur (Anonyme a, 2018).

Sakamura (1918) cité par Cauderon (1979), fut le premier qui a déterminé le nombre exact des chromosomes de diverses espèces de *Triticum* et leurs différents niveaux de ploïdie :

- *T. aestivum* : 42 chromosomes hexaploïdes.
- *T. turgidum* : 28 chromosomes tétraploïdes ($2n=4x=28$) génome AABB.
- *T. monococcum* : 14 chromosomes diploïdes.

3. Culture du blé dur

3.1. Dans le monde

La culture du blé dur occupe une grande place dans certaines régions du monde, notamment dans les zones semi arides dont le climat est de type méditerranéen (Pena et Pfeiffer, 2005). Dans le monde, la superficie moyenne consacrée annuellement à sa culture est estimée à 8 millions d'ha, pour une production annuelle moyenne de 37.9 millions de tonnes entre 2006 et 2010 (Ice, 2011).

La culture du blé dur est concentrée au Moyen-Orient, en Afrique du Nord, en Russie, au Canada, l'Inde et l'Europe méditerranéenne. La moyenne de la production du blé dur entre 2006-2010 est de 9 millions de tonnes par an. L'Union Européenne reste le plus grand producteur du blé dur dans le monde. Le Canada en deuxième rang avec 4.8 millions de tonnes par an, suivi de la Turquie et des États-Unis, avec 1.99 et 2.67 millions de tonnes métriques respectivement. Ces quatre pays fournissent à eux seuls les deux tiers de la production mondiale (Ouanzar 2012).

3.2. En Algérie

La culture du blé en Algérie est l'une des préoccupations principales du gouvernement notamment lorsqu'il s'agit de la sécurité alimentaire du pays. Sa production occupe une place très importante dans la structure spatiale de l'activité agricole céréalière. En 2012, la superficie agricole consacrée à la production du blé dur était 1.4 millions d'ha (Bourihane et Mekkaoui, 2013). La céréaliculture est localisée essentiellement dans les régions semi-arides.

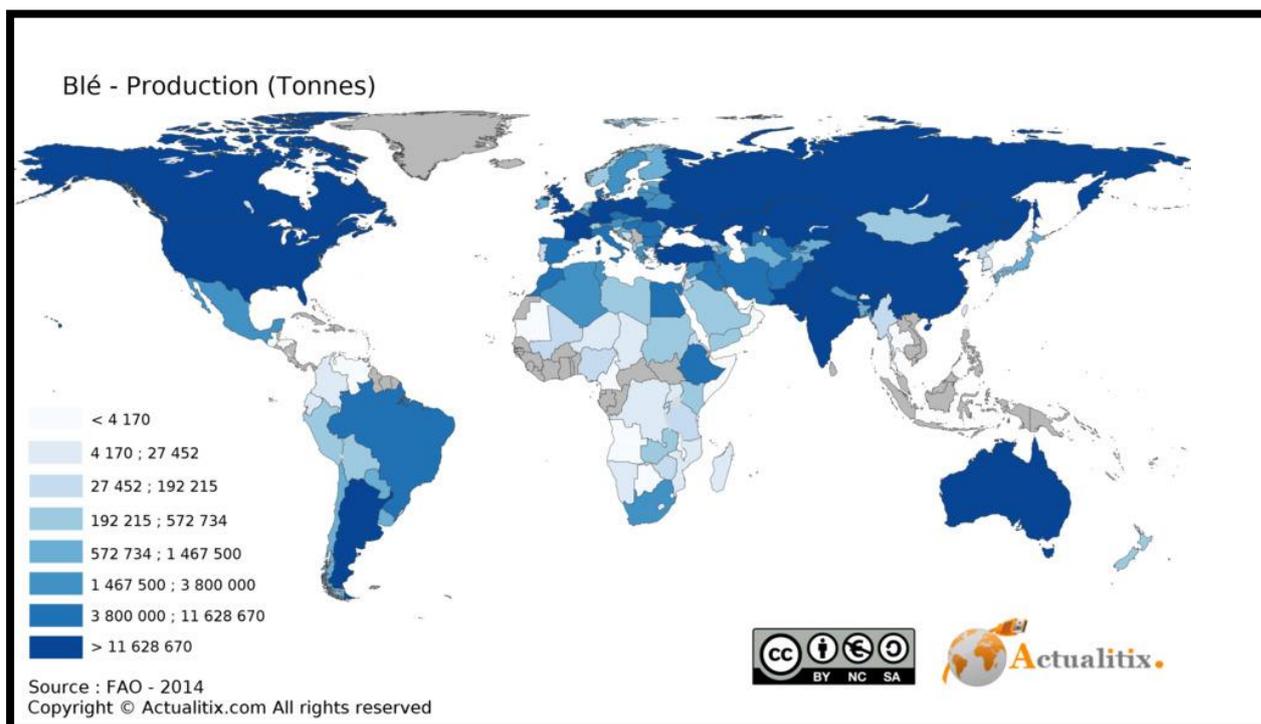


Figure 03 : Production du blé dur dans le monde (Actualitix, 2016).

Selon Boulal *et al.*, (2007), et Locif, (2015), les principales régions de production en Algérie sont :

- La zone des plaines telliennes dont la pluviométrie est comprise entre 350 et 500 mm, mais avec une distribution irrégulière (Constantine, Bouira, Médéa, Tlemcen, Mila, Souk Ahras, Aïn Defla, Chlef, Aïn Tmouchent, Relizane et Sidi Bel-Abbès).
- La zone des hauts plateaux caractérisée par une faible pluviométrie (200-350mm) : Sétif, Saïda, Oum El-Bouaghi, Bordj bou Arréridj, Tiaret et Tissemsilt.
- La zone de la région littorale et sub-littorale : Centre-Est du pays à pluviométrie supérieure à 600 mm (Tipaza, Skikda, Guelma, El Taref, Béjaïa, Tizi ouzou et Annaba).
- La région du sud avec les périmètres irrigués et les cultures oasiennes.

4. Maladies du blé dur

4.1. La rouille

Les symptômes des différents types de rouille sont présentés sur la **Figure 04**.

a. La rouille jaune

La rouille jaune est causée par le *Puccinia striiformis* qui est une maladie fongique principalement foliaire, bien qu'elle puisse infecter d'autres tissus tels que : la tige et l'épi (Chen, 2005 ; Evans *et al.*, 2008). Les spores de la rouille jaune peuvent être transportées par le vent à longue distance. Quand ils sont dans des conditions favorables à leur développement, ils peuvent altérer la culture du blé. Les pertes peuvent aller jusqu'à 50% du rendement en réduisant le poids des grains (Ezzahiri, 2010). Les conditions favorisant le développement de la rouille jaune sont des températures nocturnes entre 10 et 15°C et des humidités relatives supérieures à 80% pendant 18 heures. L'agent pathogène infecte les tissus verts des plantes des céréales et des herbes. L'infection n'a pas de stade exact, elle peut se produire à partir du stade d'une feuille jusqu'à la maturité. Les symptômes apparaissent environ une semaine après l'infection, alors que la sporulation commence pendant deux semaines après l'infection, lorsque les conditions thermiques sont optimales où le climat est plutôt frais (Henkrar, 2017).

Des pustules orangées apparaissent sur les feuilles et les tiges disposées en stries le long de nervures des feuilles. Elles sont souvent de petite taille (0,5 mm) (Masson, 2012). À la fin de la saison de croissance, elles deviennent noires après la formation de spores connues

sous le nom de « téléospores ». Ces pustules correspondent à la déchirure de l'épiderme qui laisse apparaître ainsi une poudre dont la couleur varie de l'orange, rouge brique, marron au jaune, selon l'espèce pathogène. Les rouilles ne sont pas transmises par semence (Aouali et Douici-Khalfi, 2013). Sur les feuilles, la rouille jaune se présente généralement sous forme de stries qui suivent les nervures (**Figure 04-A**) (Sanah, 2015).

b. La rouille noire

La rouille noire a été la maladie la plus dévastatrice dans plusieurs pays du monde où le blé est cultivé. Elle est causée par l'agent pathogène *Puccinia graminis* qui attaque le blé et d'autres céréales comme hôte principal (Nasraoui, 2006). Les conditions chaudes et humides favorisent le développement de rouille noire, et la gravité de cette maladie peut augmenter rapidement une fois la récolte est uniformément infectée (Henkrar, 2017). Les symptômes de *P. graminis* se manifestent par des pustules plus longues que celles de la rouille brune, qui sont de couleur rouge-brique à marron foncé (**Figure 04-B**). Elles se développent sur les feuilles, les tiges et les épis (Ezzahiri, 2001 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

c. La rouille brune

Cette maladie est causée par l'agent pathogène *Puccinia triticina* qui apparaît généralement après ou au cours de l'épiaison. Elle se trouve dans plusieurs régions du monde par rapport à la rouille jaune ou la rouille noire (Bolton *et al.*, 2008). Les pustules brunes (**Figure 04-C**), dispersées se développent à température moyenne (13°C à 18°C) à la fin du printemps. Les blés à courte paille sont résistants à cette maladie. Les spores de la rouille brune sont déposés par le vent ou par la pluie sur la feuille, après l'absorption de l'eau par les feuilles, ils gonflent et développent un tube de germe qui forme un film d'humidité sur la surface des feuilles (Henkar, 2017). La germination se réalise après 4-8 h à 20°C sous une humidité de 100 % (Zhang *et al.*, 2003).

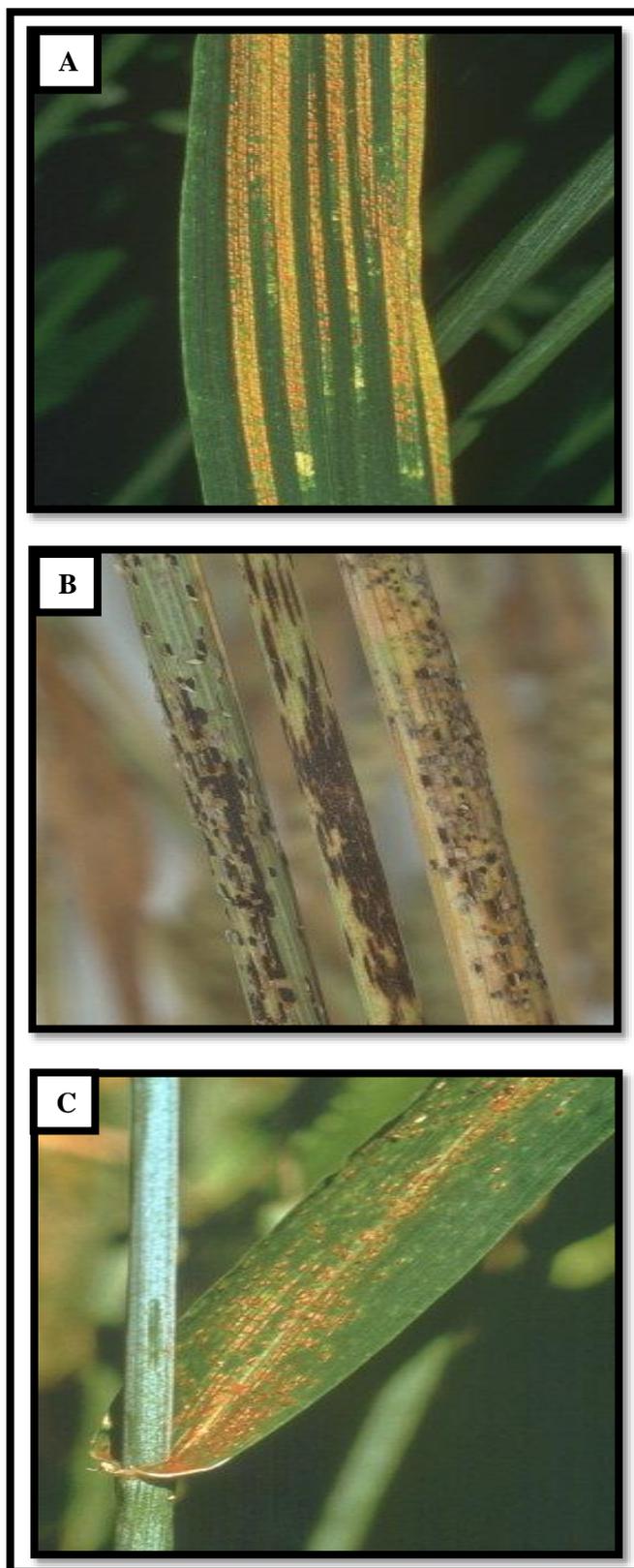


Figure 04 : La rouille du blé dur (INRA, 2018).

A : la rouille jaune ; B : la rouille noire ; C : la rouille brune.

4.2. Les septorioses

La septoriose est une maladie cryptogamique très fréquente dans le monde provoquée par deux parasites fongiques connus sous le nom de *Septoria tritici* et *S. nodorum*. Cette espèce cause la tache septorienne foliaire du blé tandis que *S. nodorum* affecte les épis (Bensadoun, 2010). Cette maladie attaque principalement le blé depuis le stade de la germination jusqu'à le stade de la maturité (Abdi, 2015), et participe à la destruction d'environ 2% du blé mondial, ce qui fait la perte de millions de tonnes de grains et des billions de dollars chaque année (Henkrar, 2017).

a. La tache séptorienne

L'agent causal de la tache séptorienne des glumes est *Septoria tritici*. Il attaque le blé, le triticale, le seigle et l'orge. Ses conidies sont plus courtes, plus épaisses et plus droites que toutes les autres espèces de *Septoria* qui sont plus filiformes (Ayad, 2014). A maturité, elles sont munies d'une à trois cloisons transversales bien distinctes. *S. nodorum* est connu aussi comme agent de fonte de semis et elle est aussi transmise par la semence (Eyal *et al.*, 1987). En cas de forte attaque, les graines encore vertes présentent une tache brune dorsale très visible (**Figure 05-A**) (Ayad, 2014). Cette espèce contamine et cause des lésions importantes sur les feuilles, réduit la surface foliaire ce qui affecte la photosynthèse, et influe négativement sur la croissance de la plante et son rendement (Boulahouache, 2014).

b. La septoriose des feuilles et épis

Les principales causes de la septoriose des feuilles (**Figure 05-B**) et épis sont les semences et les chaumes du blé à la surface du sol. Après la levée on peut trouver quelques foyers dus à des contaminations très précoces soit par l'intermédiaire des semences ou par les pycnidiospores provenant des débris des récoltes précédentes. Les pycnidiospores sont le moteur de développement épidémique de la maladie. Elles commencent à germer à partir d'une humidité relative de 98% au niveau de la feuille. La température doit être comprise entre 5°C et 37°C, et l'optimum de germination se trouvant entre 20 et 25°C. Les pycnides se forment que sur des tissus morts au niveau d'un tissu malade. Le développement des pycnides et des pycnidiospores est stoppé en dessous d'une humidité relative de 98% au niveau du feuillage et ne peut se produire qu'entre 4°C et 28°C (Agromaroc, 2018).



Figure 05 : La septoriose du blé dur (Syngenta, 2017).

A : la tache septorienne ; B : la septoriose des feuilles et épis.

4.3 L'oidium

Toutes les céréales y compris le blé, peuvent être attaquées par l'agent pathogène *Erysiphe graminis* sur toute la durée de culture qui touche les feuilles et les épis.

a. L'oidium sur les feuilles

Les premiers symptômes de la maladie apparaissent sous forme d'un duvet blanchâtre (**Figure 06-A**) ou gris pâle sur les limbes des feuilles basales, puis se développent sur les feuilles des étages supérieurs (Ezzahiri, 2001 ; Douici-Khalfi, 2009). En présence d'une forte hygrométrie, les cléistothèces libèrent les ascospores produites par voie sexuée, qui peuvent alors provoquer des infections automnales. On estime par ailleurs que les cléistothèces ont une importance secondaire pour le mycélium (Anonyme a, 2014).

b. L'oidium sur les épis

En cas d'attaque sévère, les taches apparaissent aussi sur les glumes des épis (**Figure 06-B**). La sporulation des conidies se produit dans une large gamme d'humidités relatives, mais en absence d'eau liquide. Les conidies sont disséminées par le vent, par temps sec et ensoleillé. Elles germent à n'importe quelle humidité relative, pourvu qu'il n'y ait pas d'eau liquide, et contaminent la culture dans une large gamme de températures (2°C à 30°C) (INRA, 2018).

5. Importance alimentaire et économique

5.1. Dans le monde

Le blé occupe la première place dans la production mondiale et la seconde place après le riz. Il représente une source de nourriture pour la consommation humaine (Gouasmi *et al.*, 2017). Cette céréale est la principale source de complexe des glucides, source protéique et de fibres intéressante, et contient des micronutriments indispensables. Ces constituants se répartissent de manière inégale dans des différentes fractions histologiques du grain (Feillet, 2000). Le blé fournit également une source privilégiée pour l'alimentation des animaux et de multiples applications industrielles.

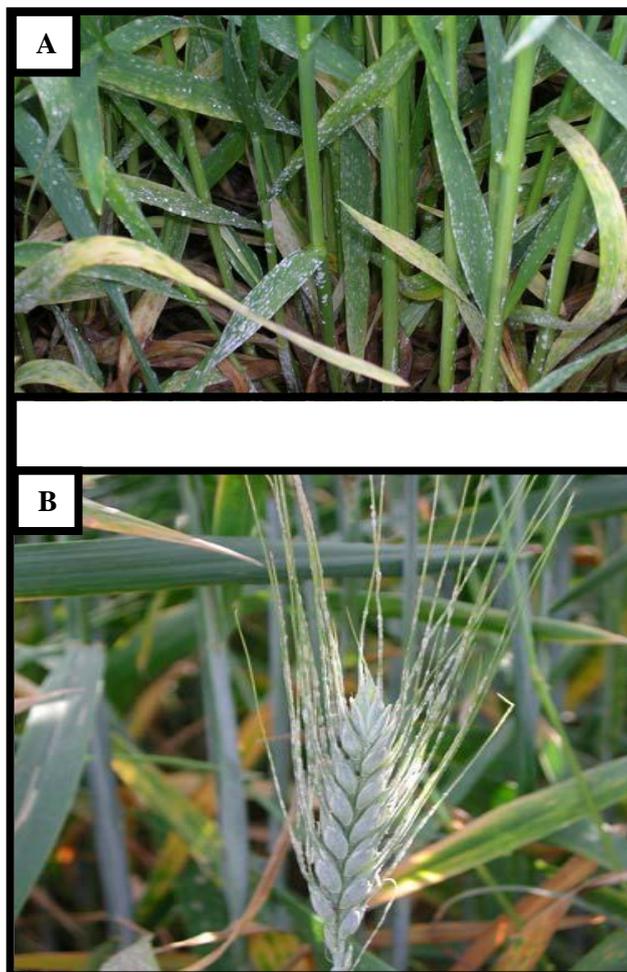


Figure 06 : L'oïdium du blé dur (Arvalis, 2018).

A : l'oïdium sur les feuilles ; B : l'oïdium sur les épis.

5.2. En Algérie

En Algérie, la céréaliculture est la principale activité dans les zones arides et semi-arides. Les superficies emblavées chaque année représentent 3,6 millions d'hectares. Le blé dur est une ancienne culture dont l'origine remonte à la venue des arabes (Ducellier, 1931). En 2012, le blé dur a atteint une production de 51,2 millions de Qx contre une production mondiale de 690 millions de tonnes. Sur une superficie de 3 millions d'ha réservée à la céréaliculture, environ 1.78 millions d'ha sont destinés à la culture du blé (CIC, 2008).

II. Les marqueurs génétiques

1. Définition

Un marqueur génétique représente toute altération dans une séquence d'acides nucléiques ou un tout autre caractère génétique qui peut être détecté et utilisé pour identifier des individus, populations, ou espèces ou pour identifier des gènes impliqués dans des maladies héréditaires. Ces marqueurs sont principalement des séquences d'ADN polymorphes, et jouent un rôle majeur dans la cartographie génétique, plus précisément, ils servent à identifier les positions des différents allèles qui ne sont pas loin l'un de l'autre dans un même chromosome et qui ont tendance à être hérités ensemble (The Editors of Encyclopaedia Britannica, 2018).

2. Types de marqueurs

2.1. Les marqueurs morphologiques

Dans le passé, la différence entre la diversité entre une population et une autre était déterminée à partir de leur différence phénotypique. L'avantage c'est que ces mesures sont immédiates, et ne nécessitent pas de matériel sophistiqué, l'inconvénient c'est que ces mesures doivent être faites par un expert de l'espèce, et elles sont aussi influencées par l'environnement, et le nombre de ce type de marqueur est très limité (Cirad et SupAgro, 2006).

2.2. Les marqueurs biochimiques ou protéiques

Comme les marqueurs morphologiques sont limités, les marqueurs biochimiques/protéiques ont été développés. Ils sont souvent considérés à tort comme une classe commune sous la dénomination de « marqueur moléculaire ». Ces marqueurs sont générés par électrophorèse, avec migration de protéines et d'enzymes et sont révélés par la coloration histochemique spécifique aux enzymes analysés. Ils ont comme inconvénients le fait qu'ils soient influencés par l'environnement et ils sont modifiés au niveau des différents stades de développement (Cirad et SupAgro, 2006).

2.3. Les marqueurs moléculaires

Dans le passé, on abordait la diversité génétique grâce aux caractères observables. Mais à l'heure actuelle, et grâce à des techniques de biologie moléculaire, on peut lire partiellement le génotype d'un individu ainsi que d'étudier la diversité génétique au niveau du génome. Grâce au marquage moléculaire, de nouvelles perspectives s'ouvrent aux sélectionneurs.

Ce type de marqueurs génétiques nous renseigne sur le génotype d'un individu et qui ne sont pas influencés par l'environnement. Ce sont des séquences d'ADN qui peuvent être codantes ou non codantes, présentant un polymorphisme au sein des individus. Grâce à la biologie moléculaire, on peut obtenir des plantes à partir des marqueurs polymorphes de leur ADN. Les plus utilisés sont les marqueurs RFLP, RAPD, AFLP et les microsatellites (Anonyme b, 2018).

3. Caractéristiques d'un bon marqueur moléculaire

Selon Anonyme b (2018), un bon marqueur moléculaire se doit d'être :

- Neutre : ses allèles n'ont aucun effet sur le phénotype.
- Polymorphe : il possède de nombreux allèles qui permettent de caractériser les différents individus.
- Co-dominant : permet de différencier entre l'homozygote et l'hétérozygote.
- Insensible au milieu : le milieu n'a aucun impact sur son génotype.
- Non-épistatique : on parle d'épistasie lorsqu'un ou plusieurs gènes empêchent l'expression d'autres gènes situés à d'autres lieux génétiques.
- Multi-allélique : possède plusieurs allèles sur un même locus.

4. Types de marqueurs moléculaires

Malgré le progrès continu dans le domaine de la génétique, les nouvelles technologies comme la biotechnologie sont requises pour maximiser les probabilités de succès (Ortiz 1998 ; Ruttan 1999 ; Huang et al., 2002). La découverte des enzymes de restriction a formé la base d'une nouvelle gamme de marqueurs qui sont basés sur la variation de la séquence d'ADN. Cette variation est surveillée au changement de la longueur du fragment d'ADN produit par les endonucléases. Cette méthode a pour nom « *Restriction Fragment Length Polymorphisms* » (RFLP) (Grodzicker et al., 1975 ; Botstein et al., 1980). Cette technique nécessite une grande quantité d'ADN, on y trouve peu de polymorphisme

pour certaines espèces, et elle prend beaucoup de temps, ce qui a obligé les chercheurs à trouver un type de marqueurs plus efficace.

Après la découverte de la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Saiki *et al.*, 1985 et 1986), un autre type de marqueurs basé sur la PCR est apparu comme les SSR (*Simple Sequence Repeat Polymorphism*) (Tautz, 1989), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA Markers*) (Welsh et McClelland, 1990 ; Williams *et al.*, 1990) et l'AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) ont été développés (Vos *et al.*, 1995).

Toutes ces techniques se basent sur une amplification exponentielle d'une séquence d'ADN en utilisant des amorces spécifiques en exploitant les avantages de la PCR et qui a besoin que d'une petite quantité d'ADN par réaction.

4.1. Les marqueurs dominants

a. Les marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

La technique RAPD a été développée par William *et al.*, et Welsh et Mc Clelland en 1990. Elle se base sur une réaction d'amplification par PCR de séquences d'ADN génomique prises au hasard. C'est une technique efficace pour réaliser un criblage en génétique moléculaire grâce à la PCR, et sert principalement à analyser la diversité génétique (Crossland *et al.*, 1997). Contrairement à la PCR traditionnelle, l'RAPD n'a pas besoin d'une connaissance de la séquence d'ADN de l'organisme ciblé. Les amorces 10-mer vont ou ne vont pas amplifier un segment d'ADN, dépendant des positions de la séquence qui seront complémentaires aux amorces (**Figure 07-A**) (NCBI, 2018).

b. Les marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

Cette technique se base sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de site de restriction et de polymorphisme d'hybridation d'une amorce de séquence arbitraire. C'est une combinaison entre l'RFLP pour la révélation et l'RAPD pour la PCR (Anonyme b, 2018). L'ADN cible est soumis à une digestion par enzyme de restrictions. La taille des fragments obtenus sont dépendantes des enzymes utilisés. Des adaptateurs nucléotidiques spécifiques des enzymes de restriction utilisées sont ajoutés aux extrémités des fragments de restrictions. Les fragments sont amplifiés par PCR et les amorces utilisées doivent être complémentaires de la séquence de l'adaptateur, prolongées de quelques nucléotides (1 à 3)

arbitraires appelées : bases débordantes. Seulement les fragments possédants les bases complémentaires de ces bases arbitraires seront amplifiées. Celles-ci sont appelées : amorces sélectives, permettant de réduire le nombre de fragments amplifiés à une centaine. A la fin une électrophorèse de l'amplifiât sera faite (**Figure 07-B**) (Baaziz, 2018).

4.2. Les marqueurs co-dominants

a. Les marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Le polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP) est une technique inventée par le scientifique Alec Jeffreys en 1985 pendant qu'il faisait ses recherches dans les maladies héréditaires (Cheriyedath, 2016). La technique repose sur la digestion d'un ADN cible par une ou plusieurs enzymes de restrictions spécifiques aux sites de restriction portés par l'ADN. Après une électrophorèse, les fragments séparés seront hybridés avec un ADN sonde qu'on obtient à partir d'une banque d'ADN génomique (**Figure 8-A**). Cette dernière peut appartenir à une espèce proche de l'espèce étudiée (Baaziz, 2018).

b. Les microsatellites : SSR (Simple Sequence Repeat)

Il existe dans le génome des séquences constituées d'unités répétées de 1 à 4 nucléotides, et qui sont appelés « microsatellites ». Leur polymorphisme est basé sur le nombre d'unités de répétitions dans une région définie du génome étudié (Litt et Luty, 1989 ; Weber et May, 1989 ; Jacob *et al.*, 1991). Le nombre et la composition des répétitions des microsatellites diffèrent entre les plantes et les animaux. La fréquence de répétitions dépassant les 20 pb a été estimée de revenir chaque 33 kb chez les plantes, contrairement aux mammifères où elles reviennent chaque 6 kb (Wang *et al.*, 1994).

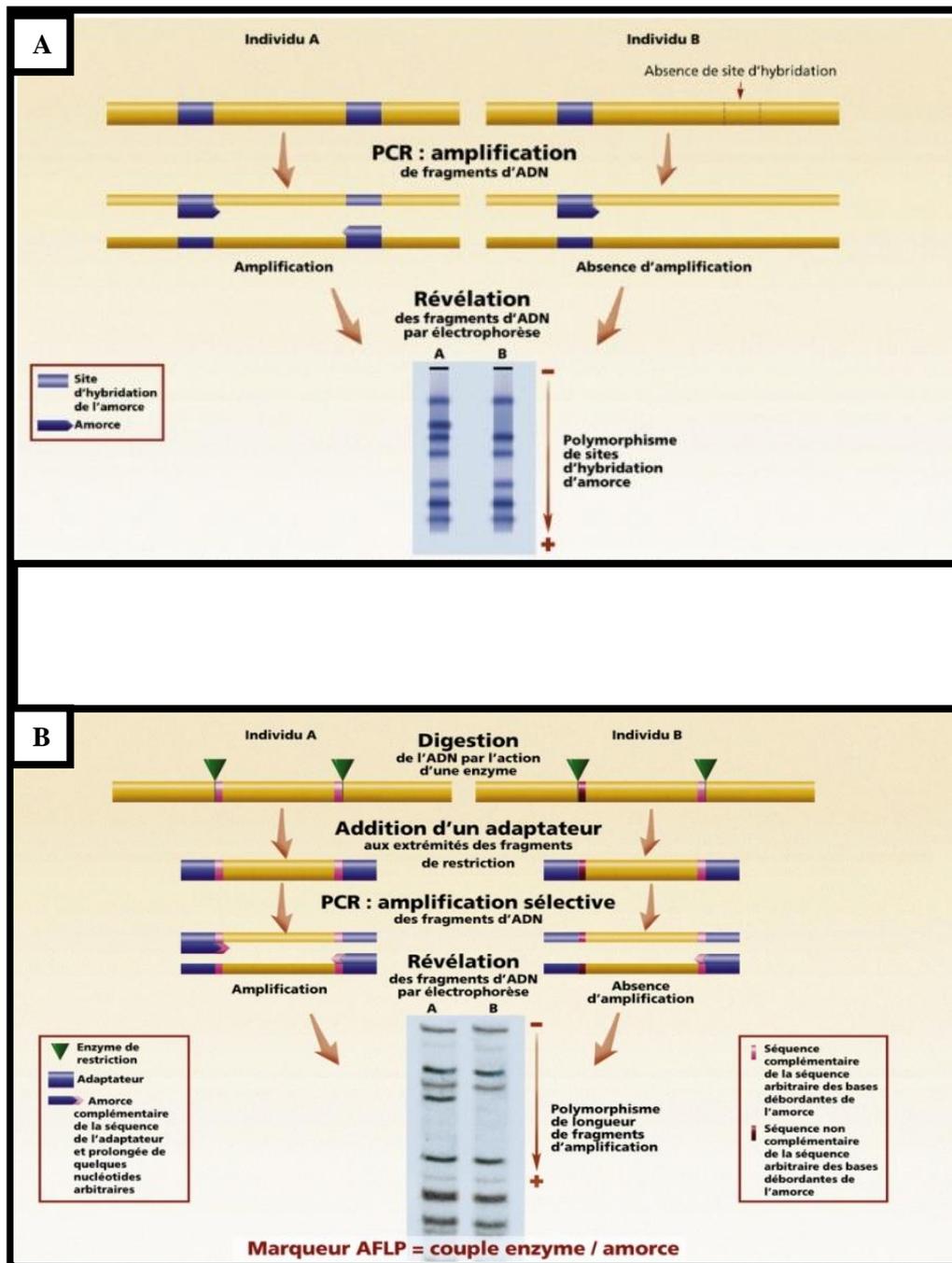


Figure 07 : Technique de la révélation d'un polymorphisme par les marqueurs moléculaires dominants (Anonyme b, 2018).

A : l'RAPD ; B : l'AFLP.

Chez l'humain AC et TC sont des répétitions très communes, mais chez les plantes on trouve beaucoup plus AT suivis par AG ou TC (Powell *et al.*, 1996). En général, les plantes ont 10 fois moins d'SSRs que l'humain. Les séquences nucléotidiques répétées en tandem sont utilisées pour désigner les amorces qui amplifieront les différents nombres d'unités répétitions chez les espèces. Ce type de polymorphisme est très reproductible. Les amorces désignées peuvent être utilisées pour une détection rapide et précise des locis polymorphes et l'information peut être utilisée pour le développement d'une carte physique basée sur ces séquences marquées (Hughes *et al.*, 1993). Malheureusement, il n'y a pas beaucoup d'amorces détectant les SSR qui ont été développés pour les plantes. Par exemple, pour le blé les marqueurs Xgwm et Xgdm ont été utilisés pour la création d'une carte de résistance des gènes et pour la détection d'introgressions du *Triticum timopheevii* dans un génotype de blé commun (Sharma, 2014).

Les marqueurs moléculaires sont des outils efficaces pour suivre et identifier les segments chromosomiques étrangers introgressés dans le blé (Dobrovolskaya *et al.*, 2009). Il a été démontré que les SSR du blé sont facilement transférables aux espèces proches et peuvent être utile pour la cartographie de leurs génomes (Sourdille *et al.*, 2001; Adonina *et al.*, 2005). De plus des SSR, les dérivés des marqueurs des EST-SSR sont très utilisés dans l'analyse du génome des céréales. La transférabilité de ces marqueurs a permis leur utilisation dans la cartographie comparative (Thiel *et al.*, 2003; Yu *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006). Les étapes de la technique SSR sont représentées sur la **Figure 8-B**.

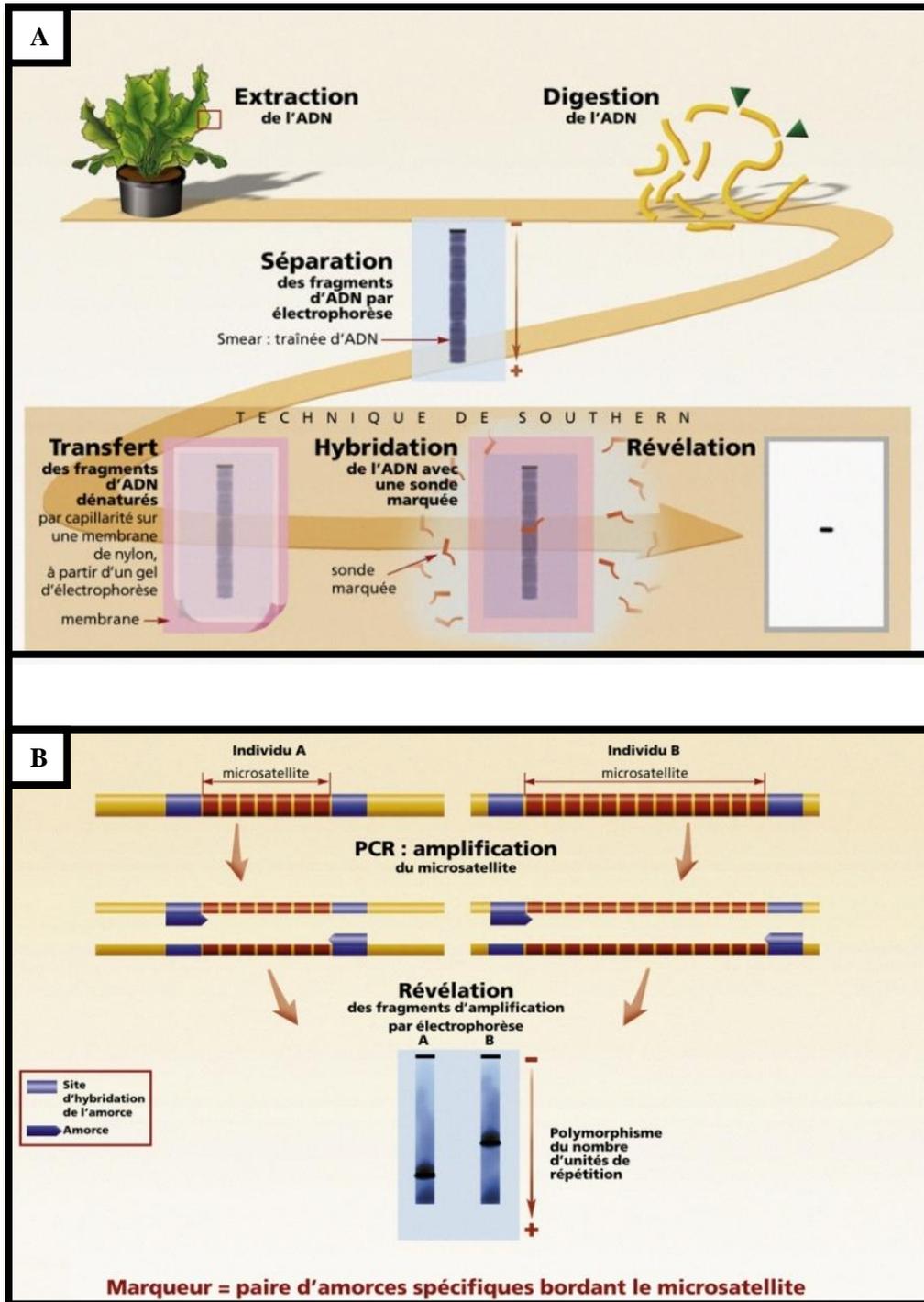


Figure 8 : Technique de la révélation d'un polymorphisme par les marqueurs moléculaires co-dominants (Anonyme b, 2018).

A : l'RFLP ; B : l'SSR.

c. Les marqueurs STS (Sequence-Tagged Sites)

Le concept des STS a été introduit par Olson et ses collaborateurs (1989) en évaluant l'impact de la PCR sur le génome humain. Ils ont découvert qu'une copie d'une séquence d'ADN déjà cartographiée pouvait servir comme marqueur moléculaire pour une cartographie physique et génétique des gènes dans le chromosome (NCBI, 2018). Ils représentent l'ensemble des marqueurs révélés par PCR. En faisant un séquençage après l'utilisation de l'un des marqueurs AFLP, RAPD et SSR, ce marqueur devient un STS qui nous permet de faire un criblage par PCR vu que ce marqueur est défini par la localisation exacte de ses amorces et l'ordre des bases. Ce criblage peut nous aider à faire le lien entre une carte physique et une carte génétique.

La différence entre les STS et les RFLP c'est que leur spécificité est obtenue par l'utilisation de sondes et non pas d'amorces. Cette exception est basée sur le plan technique et non sur le plan génétique. La spécificité des RFLP permet de faire un criblage par hybridation sur des membranes sur lesquels des échantillons d'ADN des clones ont été déposés ce qui va permettre de faire le lien entre la carte physique et la carte génétique.

***MATERIEL ET
METHODES***

I. Matériel biologique

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est composé de graines de 11 variétés (**Tableau 01**) de blé dur dont certaines sont d'origine algérienne comme : Cirta et Wahbi. Tandis que d'autres ont été fournies par des instituts étrangers tels que : l'ICARDA (*International Center for Agricultural Research in the Dry Areas*) et l'IAO ITALIO (*Institut d'Agronomie d'Outre-mer ITALIO*) et d'autres instituts. Les graines n'ont pas subi de prétraitement et ont été conservées au laboratoire à 4°C.

II. Méthodes

1. Extraction de l'ADN

Avant d'extraire l'ADN des différents échantillons, les germes de blé ont été préalablement broyés jusqu'à obtention d'une poudre. L'extraction de l'ADN a été réalisée avec le Kit Promega A1120 (**Annexe 01**). Cette méthode consiste à rajouter 600 µl de solution de lyse (Nuclei Lysis) au broyat. Après avoir vortexé les tubes Eppendorf, ces derniers ont été incubés à 65°C pendant 30 min. 3 µl de solution d'RNase sont ajoutés à chaque tube avant de les mettre de nouveau à l'étuve (30 min à 37°C). Après avoir laissé les tubes à température ambiante pendant 5min, ces derniers ont été additionnés de 200 µl de solution de précipitation des protéines puis centrifugés à 13000rpm/4min/4°C. Le surnageant est prélevé et transvasé dans la deuxième série de tubes (attention à ne pas perturber l'interface) contenant 600 µl d'isopropanol en le mélangeant par inversion. L'ADN se précipite et apparaît en retournant le tube plusieurs fois à la main. Les tubes sont centrifugés à 13000 rpm pendant 5 min. L'ADN se précipite. Le surnageant est éliminé et le culot est remis en suspension dans 600 µl d'éthanol (70%), il s'agit du premier lavage. Le tube est agité pour décoller le culot puis centrifugé dans les mêmes conditions que précédemment. Le surnageant est ensuite éliminé et le culot est séché à l'air libre pendant 20 min. Le culot d'ADN est resuspendu dans 100 µl de solution de réhydratation avant l'incubation des échantillons une nuit à 4°C.

Tableau 01 : Variétés de blé dur sélectionnées pour notre essaie.

Variétés	Origine	Pédigrée	Obtenteur	Année d'inscription	Résistance aux maladies			
					OF	OE	RB	SP
Oued Zenati	Algérie	BIDI-17; OUED-ZENATI	N/D	1937	N/D	N/D	N/D	N/D
Gta dur	Méxique	<i>Gaviota x durum</i>	ITGC Guelma	1998	+	+	+	+
Cirta	Algérie	KB214-0KB-20KB-0KB-1KB-0KB	ITGC Khroub	2004	--	+	+/-	+/-
Waha	Syrie	PLC/ruff//GTA''S''/3/...	ICARDA	1998	+	+	-	+/-
Ain Lahma	Algérie	Beltagy "	ICARDA	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Bousselem	Syrie	Heider/Marli/heider-croICD-441-1BLCTR-4AP	Semilas Fito. Sa	2007	+/-	+	-	+/-
Hoggar	Espagne	N/D	ITGC	1998	+	+	-	+/-
Simeto	Italie	<i>Capecti x Valvona</i>	IAO ITALIO	1998	+/-	+	+/-	+/-
Wahbi	Algerie	KB86022-1KB-0KB-2KB-2KB-0KB	ITGC Sétif	2011	+	+	+	+
Courto	INRA France	N/D	INRA France	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Chinese spring	INRA France	N/D	INRA France	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D

OF : Oïdium sur feuille ; OE : Oïdium sur épie ; RB : Rouille Brune ; SP : Septeriose ;
N/D : Non Disponible.

2. Dosage de l'ADN

L'ADN génomique est dosé au spectrophotomètre (NanoDrop), puis déposé sur gel d'agarose afin de visualiser sa qualité.

3. Evaluation de la qualité de l'ADN

L'ADN génomique est séparé par électrophorèse en gel d'agarose à 0,5% (0,5 g agarose QSP 100 ml de Tris Borate EDTA à 0,5X), auquel on ajoute 4 µl de BET (bromure d'éthidium : C₂₁H₂₀BrN₃), un agent intercalant des acides nucléiques fluoresçant aux UV. 10 µl de la solution d'ADN additionnée à 2 µl de tampon de charge sont déposés dans les puits et 3 µl de marqueur de poids moléculaire 100 pb (GeneOn) sont déposés à chaque extrémité du gel afin de procéder à une estimation du poids moléculaire de l'ADN. Après une migration de 20 min à 100 V, la visualisation des fragments est réalisée sous UV (*UV E-BOX VX2*).

4. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Afin de vérifier de cribler un fragment d'intérêt, les réactions d'amplification par PCR sont réalisées dans un volume réactionnel de 10 µl sur environ 1 ng d'ADN. Le mélange de réaction pour une PCR avec la Taq polymérase est le suivant : Tampon Taq PCR 1X (1,5 mM MgCl₂), 0,5 mM dNTPs, 0,4 µM de chaque amorce et 5 U Taq (voir **Annexe 02** pour la composition du mélange réactionnel 2X). Les tubes sont alors placés dans les Thermocycleurs.

Le programme utilisé suit le déroulement suivant (**Annexe 03**) : une première étape de dénaturation pendant 5 min à 95°C, puis 35 cycles comprenant : 1 min à 95°C, 1 min à 55°C ou à 61°C selon les amorces utilisées (**Tableau 02**), 2 min à 72°C, et enfin, une dernière réaction d'élongation à 75°C pendant 10 min. Cette dernière étape permet de compléter la synthèse des molécules en cours d'élongation. Les temps d'incubation à 72°C sont ajustés selon la longueur des fragments que l'on désire amplifier. La température d'hybridation est ajustée selon la température de fusion des amorces utilisées. Les échantillons sont prélevés et gardés à -20°C jusqu'au moment d'utilisation.

Dans cette étude 11 marqueurs SSR ont été utilisés. Leurs noms ainsi que leurs séquences, leur localisation et température de fusion (T_a) sont présentés dans le **tableau 02**.

Tableau 02 : Amorces utilisées dans les réactions PCR.

Marqueur	Chromosome	Séquence	Ta
barc8-F	1B	GCG-GGA-ATC-ATG-CAT-AGG-AAA-ACA-GAA	51
barc8-R		GCG-GGG-GCG-AAA-CAT-ACA-CAT-AAA-AAC-A	
gwm140-F	3B	ATG-GAG-ATA-TTT-GGC-CTA-CAA-C	61
gwm140-R		CTT-GAC-TTC-AAG-GCG-TGA-CA	
gwm161-F	3D	GAT-CGA-GTG-ATG-GCA-GAT-GG	61
gwm161-R		TGT-GAA-TTA-CTT-GGA-CGT-GG	
gwm193-F	6B	CTT-TGT-GCA-CCT-CTC-TCT-CC	61
gwm193-R		AAT-TGT-GTT-GAT-GAT-TTG-GGG	
gwm2-F	3B	CTG-CAA-GCC-TGT-GAT-CAA-CT	61
gwm2-R		CAT-TCT-CAA-ATG-ATC-GAA-CA	
gwm493-F	3B	TTC-CCA-TAA-CTA-AAA-CCG-CG	61
gwm493-R		GGA-ACA-TCA-TTT-CTG-GAC-TTT-G	
gwm533-F	3B	AAG-GCG-AAT-CAA-ACG-GAA-TA	61
gwm533-R		GTT-GCT-TTA-GGG-GAA-AAG-CC	
gwm674-F	3A	TCG-AGC-GAT-TTT-TCC-TGC	61
gwm674-R		TGA-CCG-AGT-TGA-CCA-AAA-CA	
psp2999-F	1A	TCC-CGC-CAT-GAG-TCA-ATC	55
psp2999-R		TTG-GGA-GAC-ACA-TTG-GCC	
psp3000-F	1B	GCA-GAC-CTG-TGT-CAT-TGG-TC	55
psp3000-R		GAT-ATA-GTG-GCA-GCA-GGA-TAC	
wmc44-F	1B	GGT-CTT-CTG-GGC-TTT-GAT-CCT-G	61
wmc44-R		TGT-TGC-TAG-GGA-CCC-GTA-GTG-G	

5. Vérification de l'amplifiât par électrophorèse sur gel d'agarose

Les résultats de PCR sont analysés avec des mini-gels horizontaux d'agarose à 2% (préparés dans du tampon TBE 0,5X (Tris-Borate 0,045 M, EDTA 1mM) avec une solution de bromure d'éthidium (BET à 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) permettant la visualisation de l'ADN sous lumière ultraviolette (312 nm). 12 μl de produit de PCR sont déposés tour à tour dans les puits du gel avec un sixième de volume de tampon de charge et 4 μl de marqueur de taille moléculaire 100 pb (GeneOn). Après migration et séparation des fragments d'ADN dans une cuve d'électrophorèse (contenant du tampon TBE 0,5X) à 100 V (environ 45 min), les gels sont photographiés sous UV à l'aide d'une caméra numérique *UV E-BOX VX2*.

Pour le dendrogramme le logiciel Xlstats 2014 a été utilisé.

Résultats et discussion

I. Vérification de la quantité et la pureté des ADNs extraits

Après l'extraction de l'ADN de nos variétés, on a fait une quantification des extraits en utilisant le Nanodrop2000, et ceci pour connaître les concentrations de nos ADNs ainsi que leur pureté afin de procéder à une dilution de nos échantillons pour atteindre une concentration finale de 100ng/μl requise pour réaliser la PCR.

Le tableau suivant montre la concentration de chaque échantillon, sa pureté, et la quantité d'H₂O rajoutée pour obtenir la concentration de 100 ng/μl.

Tableau 3 : Quantités d'ADN extraites des 11 génotypes étudiés et rapports de pureté

Variétés	Concentration d'ADN (ng/μl)	260/280	260/230	Dilution	H ₂ O : Q.s.p [100 ng/μl]
1. Oued Z. 368	455.2	1.87	2	10.98	39.02
2. GTA DUR	92.5	1.79	2.2	N/A	N/A
3. Cirta	1119.7	1.83	2.03	4.47	45.53
4. Waha	525.2	1.85	2.1	9.52	40.48
5. Ain Lahma	434.7	1.88	2	11.50	38.50
6. Bousselam	273.1	1.88	1.99	18.31	31.69
7. Hoggar	984.8	1.86	2.17	5.08	44.92
8. Simeto	433.8	1.87	2	11.53	38.47
9. Wahbi	363.8	1.91	2.04	13.74	36.26
10. Courto	582.2	1.84	2.02	8.59	41.41
11. CS	1571.8	1.85	1.92	3.18	46.82

N/A : not applicable (non dilué) ; Q.s.p : Quantité suffisante pour.

D'après les résultats obtenus, on note que nos extraits sont suffisants pour une amplification d'ADN, les concentrations d'ADN varient entre 1571.8 ng/μl pour Chinese Spring, et 92.5ng/μl pour GTA Dur.

L'absorbance A280 permet d'analyser la pureté de nos échantillons vis-à-vis de la présence des protéines ainsi que celle à A230 permet de tester la pureté de nos ADNs par rapport aux produits phénoliques, les bases des acides nucléiques ont une absorbance maximale à 260 nm.

Le rapport 260/280 nous permet de savoir s'il y a une contamination par des protéines ou pas, s'il est compris entre 1.8 et 2 cela veut dire qu'il n'y a pas de contamination, dans le cas contraire il y en a.

Le rapport d'absorbance de l'ensemble de nos échantillons varie entre 1.83 et 1.91, on en déduit que nos extraits d'ADN sont purs.

Le rapport 260/230 est utilisé comme mesure secondaire de la pureté des acides nucléiques par rapport aux composés phénoliques. Ces valeurs sont souvent supérieures aux valeurs du rapport 260/280 (NCBI, 2018).

Desjardins et Conklin (2010) indiquent que les valeurs idéales du rapport 260/230 sont comprises entre 1.8 et 2.2, si le rapport est inférieur à 1.8 cela indiquerait la présence de contaminants qui absorbent à 230nm.

Le rapport d'absorbance de nos échantillons varie entre 1.92 et 2.2, ce qui nous permet de confirmer que nos extraits d'ADN sont purs.

En comparant les résultats qu'on a obtenu avec le kit de purification PROMEGA et ceux de Boulahrouf et Merdjana, 2017 qui ont travaillé avec la méthode CTAB, on remarque que le kit nous a permis d'améliorer la qualité d'extraction d'ADN de nos échantillons.

II. Contrôle de la qualité d'ADN extrait

Après avoir visualisé les résultats de l'électrophorèse qu'on a effectuée pour vérifier la qualité d'ADN extrait, on voit une bande de la même taille dans presque tous les échantillons à l'exception de 3 variétés d'entre elles (Cirta, Hoggar et Chinese Spring) qui ont montré comme une dégradation de l'ADN dans ces échantillons, (**Tableau 3**) on a supposé qu'il s'agissait d'une mauvaise migration à cause de la forte concentration enregistrée par Nanodrop2000 (**Figure 9**).

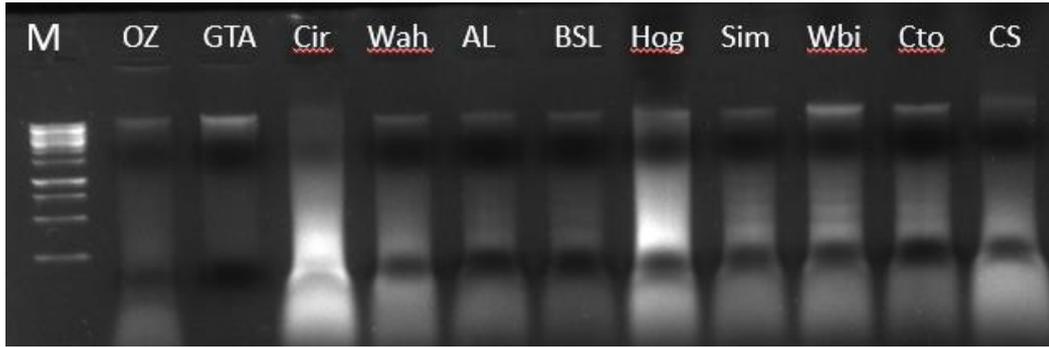


Figure 9 : Analyse de la qualité d'extraction des ADNs chez neuf génotypes de blé dur et deux de blé tendre par électrophorèse sur gel d'agarose à 0.5%

Les quantités d'ADN enregistrées pour les 3 variétés concernées sont les plus élevées, on a noté les concentrations de 1571,8 ; 1119,7 et 984,8 ng/ μ l pour Chinese spring, Cirta et Hoggar respectivement. Après avoir dilué ces concentrations à la moitié on a refait une seconde électrophorèse. Les résultats obtenus sont présentés sur la **Figure 10** :

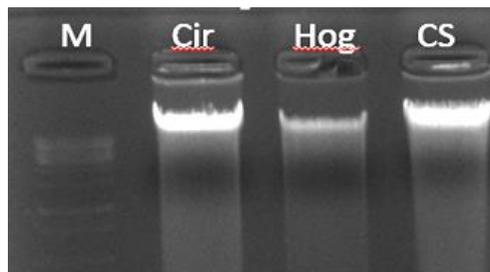


Figure 10 : Analyse de la qualité des extraits d'ADN de 3 génotypes de blé dur et tendre (Cirta, Hoggar, et Chinese Spring) par électrophorèse sur gel d'agarose 0.5% après dilution.

Le résultat de la seconde électrophorèse nous a permis de confirmer que l'ADN de ces génotypes est de bonne qualité et sa concentration a été trop élevée lors de la première électrophorèse (**Figure 9**).

III. Polymorphisme des marqueurs étudiés

1. Marqueurs liés aux gènes de qualité du blé dur

1.1. Locus Xpsp2999

A partir de ce profil électrophorétique on remarque qu'il y a une bande commune chez toutes les variétés étudiées dont la taille est aux environs de 180pb, ainsi les génotypes OZ, GTA, AL, BSL, Hog, Sim et Wbi ont présenté une autre bande d'une taille de 450pb. Cependant, une autre bande d'une taille de 200pb est amplifiée seulement chez Cto et CS (**Figure 11**).

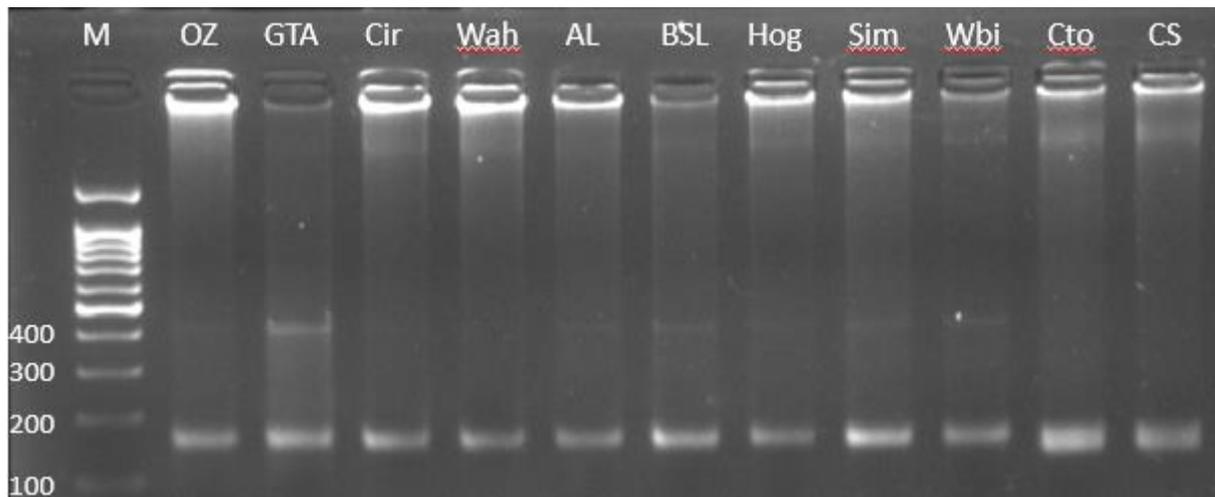


Figure 11 : Vérification de l'amplification du locus Xpsp2999 chez neuf variétés de blé dur et deux de blé tendre sur un gel d'agarose de 2%

L'obtention de polymorphisme pour ce marqueur nous permet de dire que les variétés témoins de blé tendre Cto et CS ont la même forme allélique pour ce locus. A partir de ce gel, on peut dire que le locus Xpsp2999, porté sur le bras court du chromosome 1A du blé dur, est plus ou moins polymorphe pour l'amplification de 550pb par comparaison à la variété locale Oued Zenati 368.

1.2. Locus Xpsp3000

Les résultats d'électrophorégramme des amplifiats de ce marqueur psp3000 ont permis de déceler l'existence de polymorphisme entre les 11 variétés, où on voit 2 bandes de tailles différentes 210pb et 260pb environ entre les variétés étudiées mis à part Chinese Spring ou on ne voit qu'une bande aux environs de 290pb (**Figure 12**), il y a aussi une autre bande de la taille de 550pb environ qui est présente chez 6 génotypes GTA, AL, BSL, Sim, Wbiet et Cto.

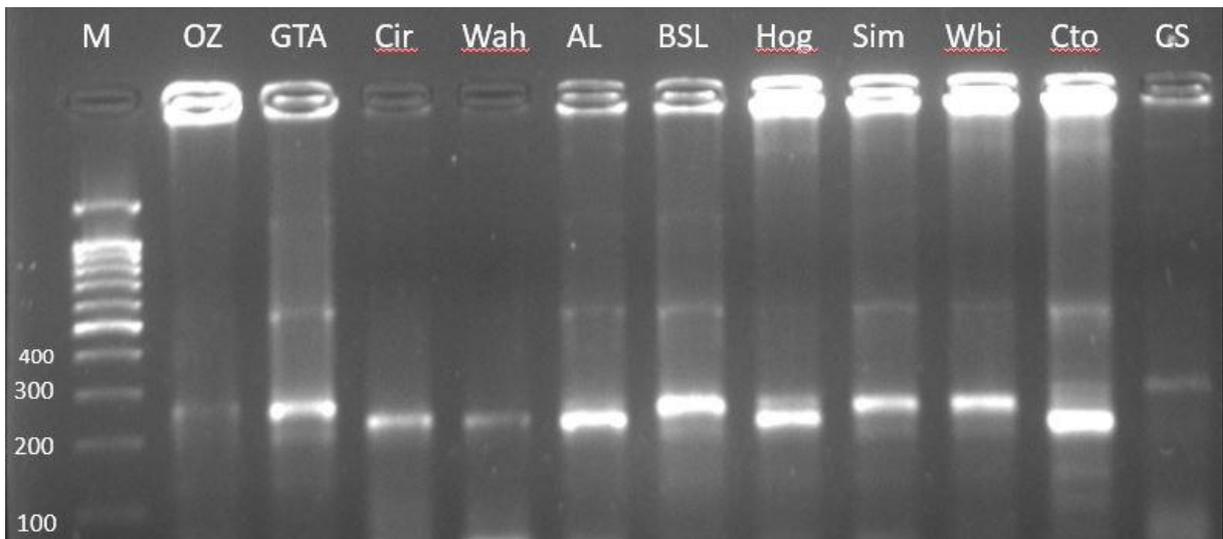


Figure 12 : Vérification de l'amplification du locus Xpsp3000 chez neuf génotypes de blé dur et deux de blé tendre sur gel d'agarose à 2%.

Les bras courts des chromosomes 1A et 1B renferment les deux marqueurs psp2999 et psp3000 respectivement avec la répétition du motif Xpsp2999 (CAG) 5 et (CAA) 8 fois, et la répétition du motif Xpsp3000 (CAA) 15 fois. Devos et *al.* (1995) rapportent la liaison de ce marqueur aux gluténines (LMW) Gli 1-1 et aux γ -gliadines. Le marqueur SSR Xpsp2999 a été utilisé par Bougot et *al.* (2002) pour distinguer aussi la résistance de l'allèle Pm3 à *Blumeria graminis* de l'Oïdium (*powdery mildew*). In : Vyhnánek et Bednář, 2005 ; Srichumpa et *al.*, 2005. Liu et *al.* (2005) ont confirmé que le marqueur psp2999 est lié avec la résistance à la mouche de Hesse est spécialement les allèles H9, H10 et H11 avec respectivement 3,5 ; 2,2 et 1,7 cM.

Dans notre cas, pour le marqueur psp3000 la taille des produits variait de 180-260 pb. Quatre variantes alléliques ont été détectées. Vyhnánek et Bednář, (2005) ont indiqué que Manifesto et *al.* (2001) en utilisant ce marqueur SSR et psp3000 ont détecté dans les produits de blé ayant des dimensions similaires de (133-157 pb) avec 11 variantes alléliques décrites, y compris les allèles nuls.

Pour les marqueurs SSR Xpsp3000 qui décrivent la liaison avec la γ -gliadines (Devos et *al.*, 1995) produisant 285 pb est couplé au gène de résistance à la rouille jaune *Yr10* (Barian et *al.*, 2002). Manifesto et *al.* (2001) rapportent l'existence de 13 variantes alléliques de blé (213-285 pb) incluant zéro. Cité par Vyhnánek et Bednář, 2005.

Hamdi, (2011) et Bellil et *al.*, (2014) rapportent que les variétés Boussellam, Hoggar, Oued Zenati 368, GTA Dur, et Wahbi présentent l'allèle (a) pour le locus Glu-A3 de la sous unité 6 des LMW liée avec le microsatellite psp3000. Les génotypes Waha et Cirta ont l'allèle (b) de la sous unité 5 des LMW. Ainsi la variété Simeto son profil allélique est de type (c) avec les sous unités des LMW (6+10). Le génotype de la variété Ain Lahma est nul pour les mêmes sous unités avec l'allèle (h) liés au marqueur psp3000. Cependant, Henkrar et *al.*, 2017 rapportent que la variété Chinese Spring du blé tendre porte l'allèle (a) pour la sous unité 6 des LMW.

1.3. Xgwm193

L'amplification de ce marqueur nous a permis de noter qu'il y a un profil électrophorétique commun d'une bande de 300pb entre toutes les variétés à l'exception de CS. On a enregistré une amplification d'une deuxième bande d'environ 180pb qui est peu visible mais présente chez les variétés GTA, Wah, AL, Hog, Sim, Wbi et Cto. Alors qu'AL est la seule variété qui a montré une bande aux environs de 260pb (**Figure 13**).

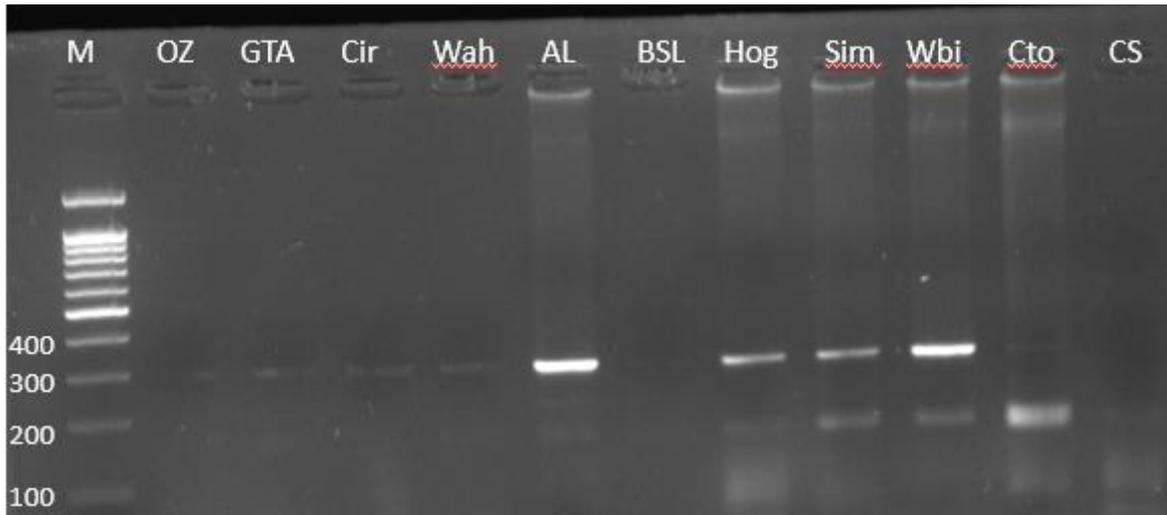


Figure 13 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm193 chez neuf géotypes de blé dur et deux de blé tendre sur un gel d'agarose de 2%

Le marqueur gwm193 a été cartographié sur le bras court du chromosome 6B pour la première fois chez *Triticum turgidum* var. *dicoccoides* (Olmos et al., 2003). Ce microsatellite et le gwm508 sont hautement liés avec le QTL GPC (*Grain protein content*) ou la teneur des protéines des graines (*QGpc.ndsu.6Bb* QTL).

Nefzaoui et al. (2014) ont enregistré l'amplification de deux allèles pour ce marqueur chez 16 géotypes tunisiens de blé dur avec une faible teneur en information du polymorphisme (PIC) et un faible indice de diversité génétique, ce qui reflète sa faible information génétique.

2. Marqueurs liés aux gènes de résistance à la fusariose

2.1. Locus Xgwm2

A partir de ce gel on remarque que presque l'ensemble des géotypes partagent 2 bandes, dont la première a une taille d'environ 180pb et l'autre 250pb. Chez la variété Simeto on ne remarque que la bande 180pb. Par contre GTA dur et Oued Zenati sont les seules variétés qui ont une bande d'environ 400pb (**Figure 14**).

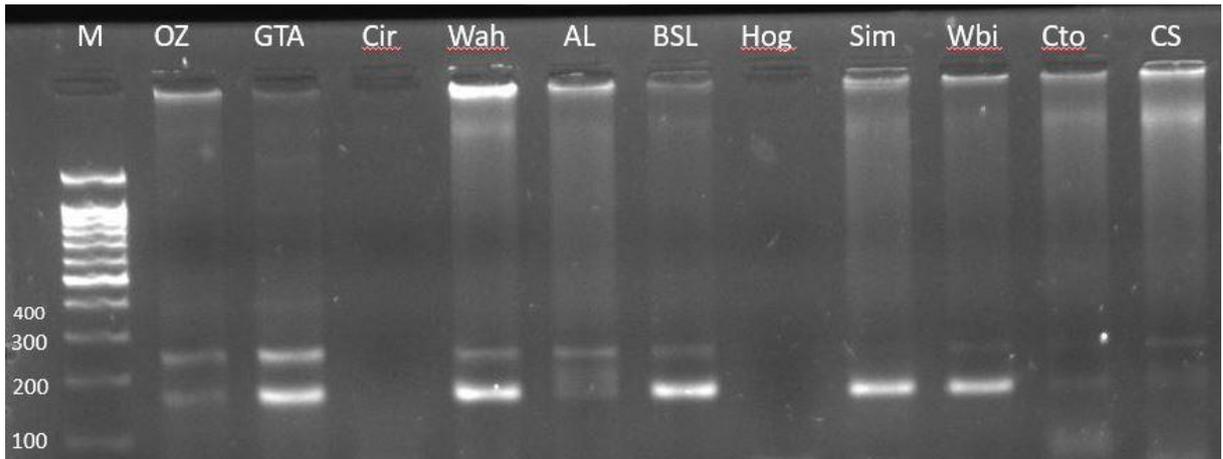


Figure 14 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm2 chez neuf géotypes de blé dur et deux de blé tendre sur gel d'agarose à 2%

Aucune amplification n'a été enregistrée chez Cirta et Hoggar, la raison peut être qu'il n'y a pas eu d'amplification pendant la PCR à cause d'une erreur de manipulation. Les mêmes échantillons d'amplification ont servis à une deuxième électrophorèse. On a enregistré après cette 2^{ème} électrophorèse que Hoggar a aussi 3 bandes qui sont similaires à celles trouvées chez Oued Zenati et GTA Dur, mais toujours sans aucune amplification pour la variété Cirta (**Figure 15**).

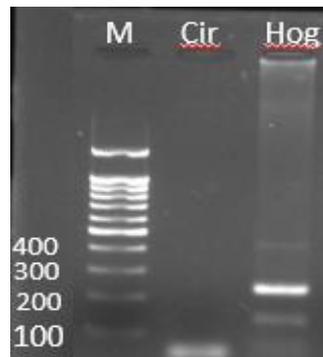


Figure 15 : 2^e vérification de l'amplification du locus Xgwm2 chez les variétés Cirta et Hoggar du blé dur sur gel d'agarose à 2%.

2.2. Locus Xgwm493 :

Le profil électrophorétique de ce marqueur montre que tous les génotypes du blé dur partagent la même bande, dont la taille est aux environs de 180pb, à l'exception des deux variétés témoins de blé tendre Cto et CS. Tandis que les variétés OZ, AL, Cto et CS partagent une bande dont la taille est aux environs de 190pb. Il y a présence d'une bande de 170pb seulement chez Cto et CS. Enfin chez la variété GTA on peut observer une bande d'une taille de 500pb (**Figure 16**).

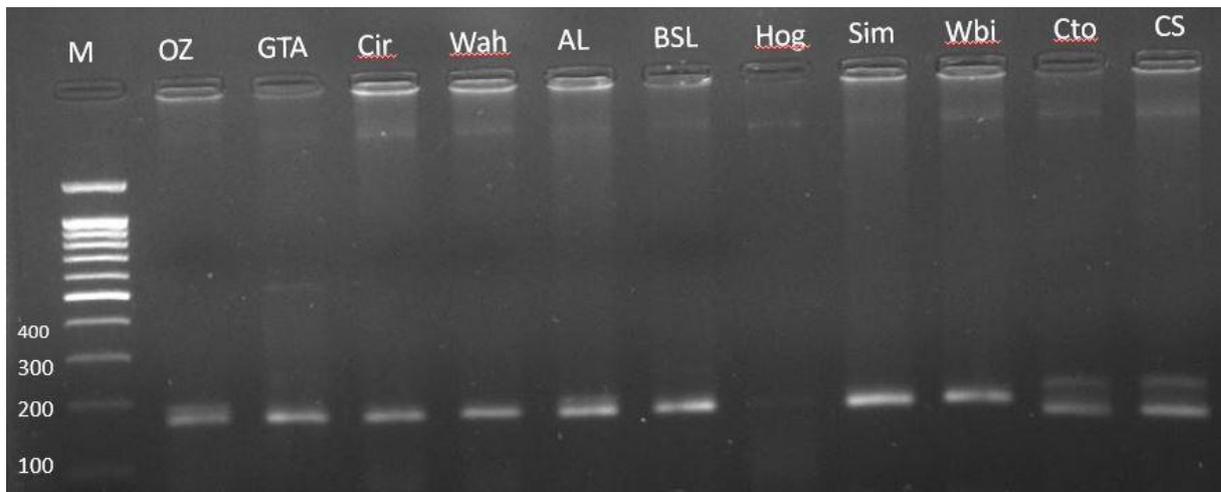


Figure 16 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm493 des neuf variétés de blé dur et deux de blé tendre sur un gel d'agarose à 2%.

La variété Hog ne présente aucune bande, cela peut être expliqué par l'absence d'une amplification chez ce génotype ou une erreur de manipulation, on peut aussi supposer que les amorces peuvent être repliées sur elles-mêmes, et dans ce cas-là, la migration laisse que des petites traces d'amorces.

2.3. Locus Xgwm533

Pour ce marqueur, on a noté l'amplification d'une bande commune dont la taille est aux environs de 190pb, elle est présente chez les variétés suivantes : OZ, Cir, BSL, Sim et Wbi. Les variétés GTA, Cir, AL, BLS et Wbi partagent une bande dont la taille est aux environs de 290pb (**Figure 17**).

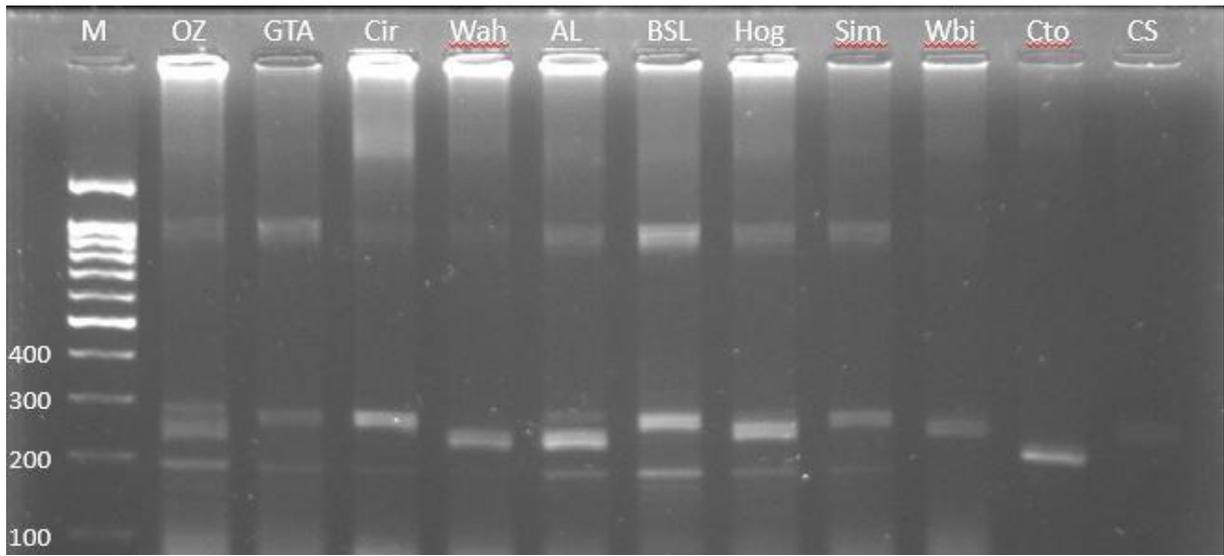


Figure 17 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm533 chez neuf géotypes de blé dur et deux de blé tendre sur un gel d'agarose de 2%.

Al, Wah et OZ présentent deux bandes communes dont la taille est aux environs de 250pb et 260pb, ainsi la variété Hog partage avec ces dernières variétés une seule bande de 260pb. Pour Cto on peut voir une bande aux environs de 200pb, pour CS la bande n'est pas trop clair, mais elle se situe aux environs de 240pb.

2.4. Locus Xgwm674

On remarque que les génotypes OZ, GTA, Wah, AL, BSL, Hog et Wbi partagent la même bande d'une taille de 200pb. Ainsi qu'une autre bande d'environ 180pb chez les variétés OZ, Cir et Sim. Une troisième bande a été enregistrée chez les variétés Cto et CS, cette bande est d'une taille d'environ 210pb. La variété OZ a montré deux bandes de tailles différentes (200 pb et 180 pb) (**Figure 18**).

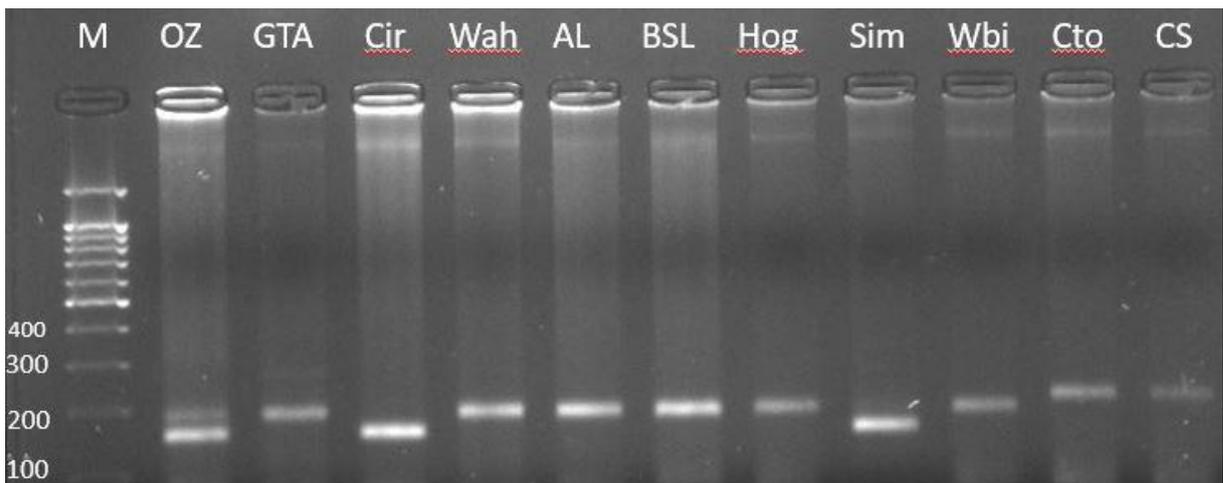


Figure 18 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm674 chez neuf génotypes de blé dur et deux de blé tendre sur gel d'agarose à 2%.

Les SSR gwm2 et gwm674 sont liés et portés sur le bras court du chromosome 3A, où la distance est de 11 cM. Ces deux marqueurs sont liés avec le gène de résistance à FHB (*Fusarium Head Blight*) ou la fusariose. Ainsi les marqueurs gwm493 et gwm533 qui sont cartographiés sur le bras court du chromosome 3B sont liés avec l'allèle *fhb1* qui confère aux génotypes la résistance à la fusariose. Cuthbert *et al.* (2006) ont trouvé que le marqueur Xgwm533 a une distance de 5.88 et 6.30 cM de l'allèle majeur FHB (type II) du gène *Fhb1* responsable de la résistance à la fusariose chez les lignées résistantes à la maladie (cité par Wiśniewska *et al.*, 2016). (Amy *et al.*, 2012)

3. Marqueurs liés aux gènes de résistance aux rouilles

3.1. Locus Xgwm140

Pour ce locus, on a noté l'existence d'une bande de la taille de 550pb environ, présente chez la majorité des génotypes, sauf pour les 4 variétés Cir et Sim du blé dur et Cto et CS du blé tendre. Les variétés Cto et CS partagent une bande dont la taille est aux environs de 190pb. Alors qu'une seule bande dont la taille est aux environs de 220pb a été enregistrée pour la variété GTA. Ce marqueur n'est pas polymorphe pour l'ensemble des génotypes du blé dur et aussi pour les deux variétés témoins du blé tendre (**Figure 19**).

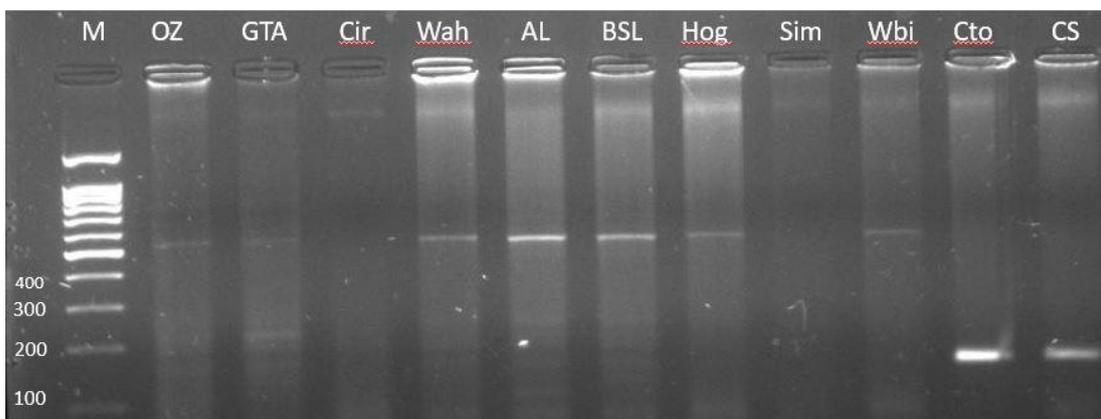


Figure 19 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm140 chez neuf génotypes de blé dur et deux de blé tendre sur un gel d'agarose de 2%

3.2. Locus Xbarc8

L'électrophorégramme nous a permis de déceler que l'ensemble des génotypes partagent une bande commune dont la taille est aux environs de 250pb, certains génotypes comme GTA, BSL, Cto et CS partagent 2 autres bandes, l'une à 300pb et l'autre à 200pb environ, ainsi la variété AL n'a présenté que la bande de 200pb (**Figure 20**).

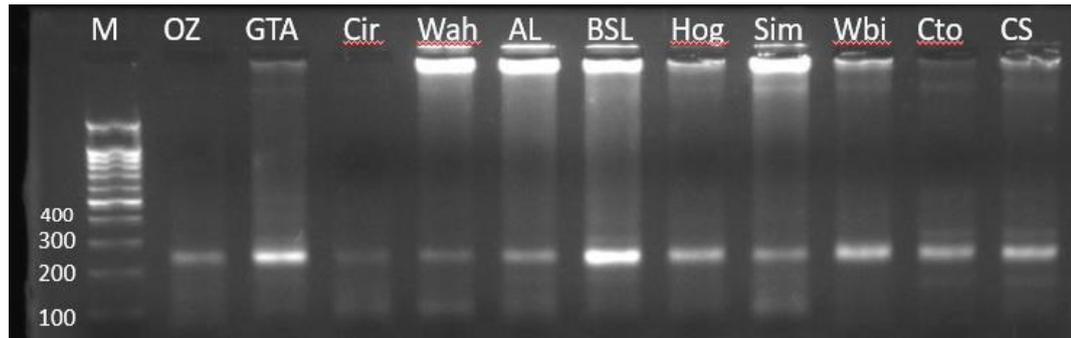


Figure 20 : Vérification de l'amplification du locus Xbarc8 chez neuf géotypes de blé dur et deux de blé tendre sur gel d'agarose 2%

A partir de ce gel, on remarque que certaines variétés présentent une variabilité génétique, mais elles partagent toutes une bande commune de la taille d'environ 250pb. Les 2 variétés témoins Chinese Spring et Courto ont montrées le même profil avec 3 bandes communes.

Ce locus a été cartographié sur le chromosome 1B dont le motif répété est $(TTA) \times 15 + 11$ (Somers et *al.*, 2004).

3.3. Locus Xwmc44

On remarque par le profile électrophorétique de ce marqueur que tous les géotypes amplifiés partagent 3 bandes communes, une bande à 140pb, la 2^{ème} à 240pb et la 3^{ème} aux environs de 430pb.

On note aussi qu'il n'y a pas eu d'amplification chez les 3 variétés Cirta, Courto et Chinese Spring, on a refait une 2^{ème} électrophorèse pour les mêmes produits PCR pour vérification et le résultat est pareil ce qui nous laisse penser qu'il s'agit d'un manque d'ADN dans ces puits (**Figure 21**).

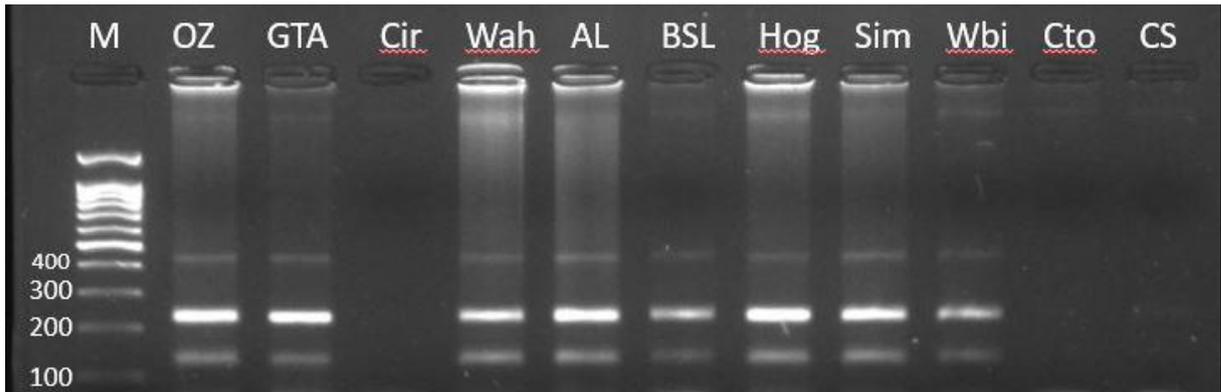


Figure 21 : Vérification de l'amplification du locus Xwmc44 chez neuf génotypes de blé dur et deux de blé tendre sur gel d'agarose 2%

Le marqueur wmc44 est cartographié sur le bras long du chromosome 1BL, il est hautement lié avec le locus gwm140, et qu'ils sont liés à leur tours encore avec le QTL responsable au taux de remplissage du grain (Barakat, 2012) et le locus de résistance aux rouilles *Lr46/Yr29* avec une distance de 13,7 cM du gwm140 et 3,5 cM du wmc44 (Nilsen, 2013).

3.4. Locus Xgwm161

A partir du profil électrophorétique de ce marqueur, on note la présence d'une bande de 180 pb chez les génotypes, BSL, Sim et Wah. Cette même bande est aussi présente chez GTA, Cir, Hog et Cto, mais la visualisation est un peu difficile. Pour les 2 variétés AL et Wbi il y a présence d'une bande d'une taille de 190pb environ. Pour la variété CS on note une absence totale de bandes. La présence d'une bande de moins de 100pb signifie que les amorces se sont soit repliées sur elles-mêmes, soit il y a une absence totale d'hybridation (**Figure 22**).

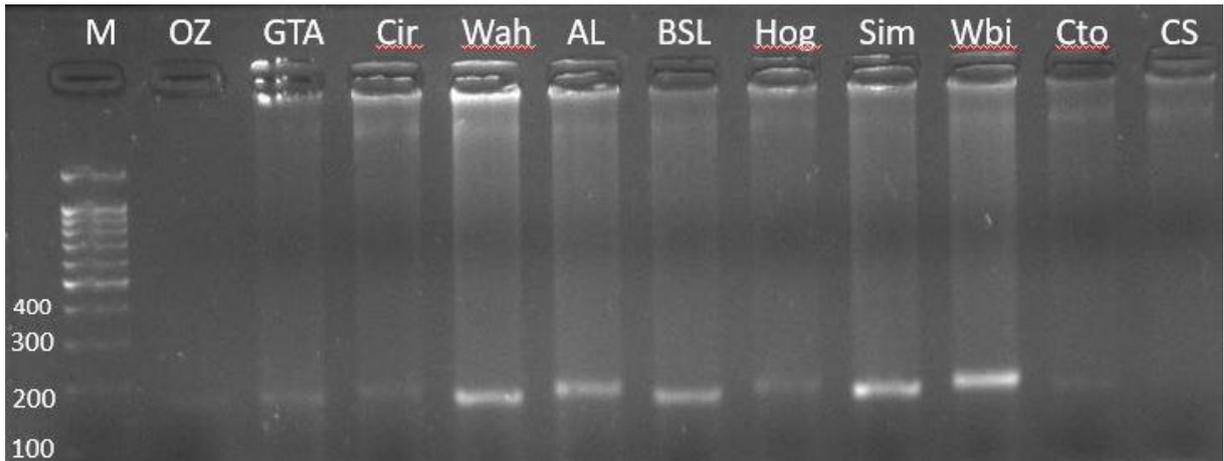


Figure 22 : vérification de l'amplification du locus Xgwm161 chez 09 génotypes de blé dur et 02 de blé tendre sur gel d'agarose 2%

La variété OZ ne présente aucune amplification ou traces d'amorces donc on en a déduit qu'une erreur lors des manipulations a été commise.

Afin de remplacer les mauvais résultats obtenus pour les variétés OZ, on a refait un autre gel avec le reste des amplifiats de ce génotype mais le résultat été le même ce qui peut être traduit certainement par une erreur de manipulation lors de la PCR vu qu'on pas obtenu un amplifiat donc la PCR n'a pas marché.

Kang *et al.*, (2011) suggèrent que le marqueur gwm161 avec gwm181 peuvent être utiles pour identifier rapidement et tracer les fragments transloqués. Ces introgressions, qui présentaient des caractéristiques significatives de résistance à la rouille jaune, pourraient être utilisées comme nouveaux germplasmes pour la sélection du blé.

IV.. Analyse de la diversité génétique

L'étude du polymorphisme de 09 variétés du blé dur comparées avec 02 variétés du blé tendre en utilisant 11 marqueurs de type SSR répartis sur cinq chromosomes des deux génomes A et B en plus d'un marqueur (gwm161) du chromosome 3D a permis de mettre en évidence la variabilité génétique qui existe au sein de cette population. Pour l'ensemble des loci ciblés par les microsatellites analysés séparément chez tous les géotypes on a enregistré l'amplification de 35 allèles différents avec un intervalle de 2 à 4 allèles par locus et une moyenne de 3,18 allèles par locus (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Nombre d'allèles amplifiés, nombre d'allèles polymorphes, polymorphisme et contenu de l'information du polymorphisme (PIC)

Nom du marqueur SSR	Emplacement sur chromosome	Nombre D'allèles amplifiés	Nombre d'allèles polymorphiques	Polymorphisme (%)	PIC
PSP2999	1A	3	2	66.7	0.52
Gwm2	3A	3	2	66.7	0.38
Gwm674	3A	3	2	66.7	0.87
PSP3000	1B	4	3	75	0.51
Barc8	1B	3	2	66.7	0.55
Wmc44	1B	3	0	0	0.17
Gwm140	1B	3	2	66.7	0.85
Gwm493	3B	4	4	100	0.79
Gwm533	3B	4	3	75	0.89
Gwm193	6B	3	2	66.7	0.59
Gwm161	3D	2	2	100	0.65
Total	//	35	24	750,2	6.78
Moyenne	//	3,18	2,18	68.2	0.62

La majorité des microsatellites utilisés dans cette étude ont montré du polymorphisme pour l'ensemble des géotypes du blé dur et blé tendre étudiés, dont 6 du génome B et 3 du génome A. Le marqueur gwm161 qui est cartographié sur le chromosome 3D du blé tendre est apparu 100 % polymorphe pour l'ensemble des 09 géotypes du blé dur. Ceci est à cause de l'existence des formes homologues de ce locus sur les chromosomes 3A et/ou 3B du blé dur.

Le contenu de l'information du polymorphisme (PIC) varie entre 0,17 à 0,89 pour les marqueurs wmc44 et gwm533 respectivement avec une moyenne de 0,62. Pour les trois

microsatellites amplifiés sur les 3 loci du génome A, le maximum du PIC a été enregistré pour le locus Xgwm674 avec 0,87 et le minimum de 0,38 pour le locus Xgwm2, sachant que ces deux allèles sont liés et figurent sur le bras court du chromosome 3A, la moyenne est de 0,59. Alors que le PIC pour les sept marqueurs du génome B (chromosomes 1, 3 et 6) le minimum a été obtenu avec le locus Xwmc44 du chromosome 1B (avec 0,17) et qui n'est pas polymorphe (0 %) et le maximum est enregistré pour le locus Xgwm533 du chromosome 3B. Ce résultat montre que la diversité génétique pour l'ensemble des génotypes étudiés est pratiquement pareille entre le génome A et le génome B.

Nefzaoui et *al.*, (2014), ont enregistré, chez 16 variétés de blé dur tunisiennes étudiées, que le locus Xgwm493 du chromosome 3B est apparu le plus informatif avec un PIC de 0,55 ainsi que le locus le moins informatif est le Xgwm193 du chromosome 6B avec un PIC de 0,11. Roussel et *al.* (2004) cité par Nefzaoui et *al.*, (2014), ont aussi trouvé que le PIC le plus élevé est enregistré pour le génome B des variétés de blé tendre française analysées par les marqueurs moléculaire de type SSR. Henkrar et *al.*, (2016) ont enregistré chez 19 génotypes du blé tendre introduites le PIC le plus élevé avec 0,39 par comparaison avec 20 génotypes du blé tendre marocains (0,34) en utilisant 19 marqueurs.

Botstein et *al.* (1980), rapportent que les valeurs du PIC supérieures à 0,5 correspondent à un marqueur plus informatif, un PIC dont les valeurs sont comprises entre 0,25 et 05 correspondent à un marqueur raisonnablement informatif et pour les valeurs du PIC inférieures ou égales à 0,25 reflète la faible information génétique du marqueur. (In: Henkrar et *al.*, 2016).

En accord avec nos résultats du tableau 4, les marqueurs utilisés dans cette étude, à l'exception de gwm2 et wmc44, sont des marqueurs hautement informatifs.

V. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

La classification CAH permet le regroupement des objets ou autres dans des groupes homogènes, sur la base de leur dissimilarité. Cette méthode statistique permet d'effectuer des typologies empiriques. En effet, la procédure s'effectue en utilisant une mesure de la distance Euclidienne.

Les relations génétiques entre les cultivars ont été développées en utilisant la méthode UPGMA '*Unweighted pair group method with arithmetic mean*' il s'agit d'un algorithme destiné à la construction d'un arbre phylogénétique ou le dendrogramme.

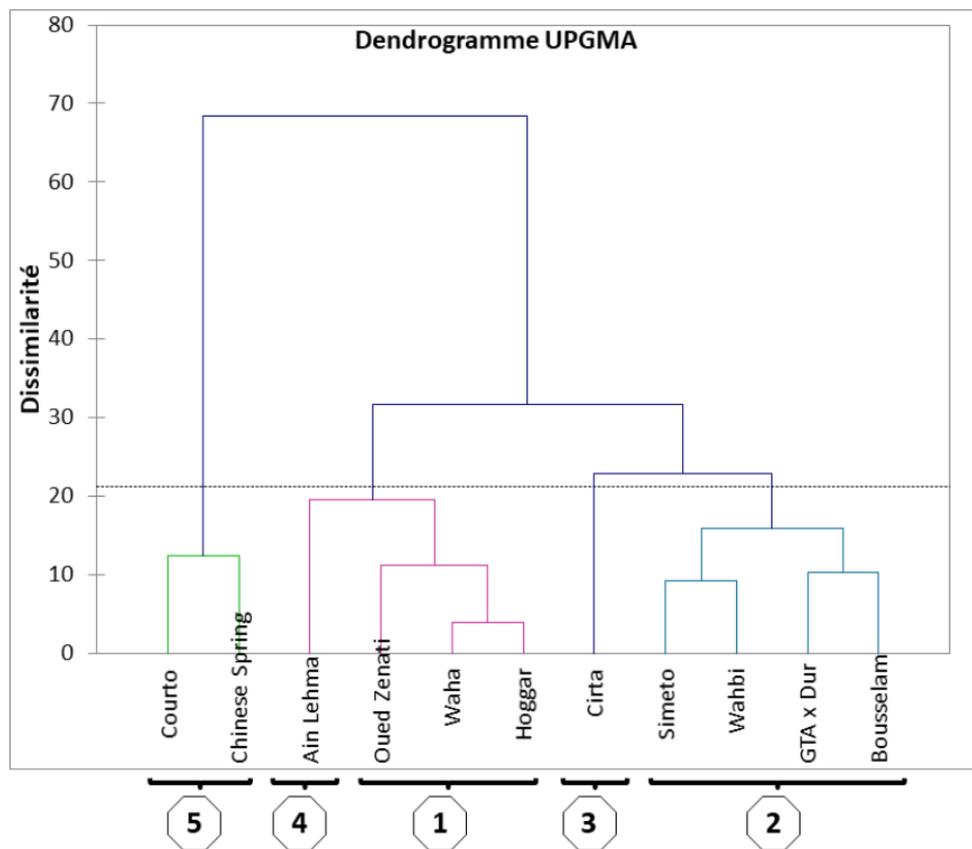


Figure 23 : Dendrogramme montrant les relations entre les 11 géotypes de blé dur et tendre étudiés.

Nos résultats indiquent l'obtention de deux grands groupes de géotypes. Les deux groupes (G1 et G2) se distinguent par les deux espèces étudiées où on note que les deux variétés de blé tendre (Chinese spring et Courto) sont regroupées ensemble en un seul groupe ainsi les 09 variétés de blé dur constituent le deuxième groupe. En incluant tous les

marqueurs SSR amplifiés chez l'ensemble des géotypes étudiés on y trouve 5 clusters. La présentation des groupes en fonction des variables est illustrée en Figure 23.

En effet, le nombre de clusters est défini par une coupure tracée (en pointillés) pour séparer les différents niveaux d'agrégation.

- *Le cluster 1* regroupe les variétés Oued Zenati 368, waha et Hoggar,
- *Le cluster 2* rassemble les géotypes GTA Dur, Bouselam, Wahbi et Simeto,
- *Le cluster 3* est pour la variété Cirta seulement qui a connue l'absence d'amplification pour certains loci,
- *Le cluster 4* aussi avec un seul géotype qui est Aïn Lehma,
- *Le cluster 5* regroupe les deux variétés témoins du blé tendre (Chinese spring et Courto).

Dans cette étude, nous avons remarqué que les variétés du blé tendre Cs et CT se trouvent à l'intérieur d'un seul groupe différent de toutes les variétés du blé dur. La plupart des marqueurs SSR utilisés montrent un profile électrophorétique semblable et spécifique à ces deux variétés.

Il est à signaler que pour l'ensemble des géotypes du blé dur, les marqueurs SSR ciblés sur les chromosomes des deux génomes sont polymorphes, sur un nombre total de 35 amplifiats, 22 allèle sont polymorphes ce qui confirme les résultats obtenus au tableau 4 (valeurs du PIC).

***CONCLUSION ET
PERSPECTIVES***

Cette étude montre l'intérêt de l'utilisation des marqueurs microsatellites pour la sélection au sein d'une population de 09 variétés de blé dur et 02 variétés de blé tendre. Les microsatellites sont utilisés pour quantifier la variabilité génétique qui existe chez les 08 génotypes du blé dur sélectionnés et homologués en comparaison avec une variété locale (OZ) d'ancienne sélection et deux variétés de blé tendre. Les SSR utilisés dans notre étude sont tous séquencés cartographiés sur le génome du blé.

A l'issue de ce travail, on peut conclure que les marqueurs microsatellites choisis sont informatifs et descripteurs de la variabilité génétique au sein des génotypes étudiés et ils peuvent être proposés à des fins d'identification et de caractérisation des génotypes algériens locaux ou d'introductions de blé dur.

La variabilité génétique élevée enregistrée chez les variétés du blé dur homologuées peut être exploitée au future dans les programmes de sélection assistés par marqueurs.

Les données moléculaires de caractérisation et d'identification seraient d'énormes importances pour l'établissement et la défense des génotypes locaux et des droits de l'obtention variétale.

Le contenu de l'information du polymorphisme (PIC) avec les résultats du dendrogramme donne des informations importantes sur la distance génétique qui permettra également de sélectionner la diversité optimisée au sein des parents et aidera à élargir la base de germoplasme des futurs programmes de sélection de blé dur.

Nos résultats indiquent que les cultivars utilisés dans cette étude pouvaient être utilisés pour améliorer la résistance à certaines maladies, la qualité et la diversité génétique.

Les données obtenues avec des microsatellites liés à une résistance aux maladies ne peuvent être fiables que si elles sont accompagnées d'une comparaison des résultats du marqueur avec la réponse au champ à l'infection.

En combinaison avec les données de terrain et l'utilisation des marqueurs moléculaires liés aux traits d'intérêts, il est possible de différencier les génotypes résistants avec des gènes quantitatifs par rapport aux gènes majeurs.

L'identification et l'exploitation du polymorphisme des marqueurs de prédisposition aux gènes d'intérêt agronomique, tel que le *wmc44* (PIC = 0,17) lié avec les deux gènes de résistance aux rouilles *Lr46* et *Yr29* et le *gwm493* (PIC = 0,79) qui est aussi lié avec le gène de résistance à la fusariose ou brûlure de l'épi ''*fusarium head blight*'' (*FHB*), ainsi que les loci *Xpsp2999* (PIC = 0,52), *Xpsp3000* (PIC = 0,51) et *Xgwm674* (PIC = 0,87) liés avec les caractères de qualité (*GluA3* et *GliB1*), permettent de les introduire dans le programme de sélection assistée par marqueurs.

*Références
Bibliographiques*

1. **Amy N. et al., (2012)** Single nucleotide polymorphism in wheat chromosome region harboring Fhb1 for Fusarium head blight resistance
2. **Anonyme a (2018)**. L'origine génétique du blé. <http://qcm.svt.free.fr/QCM/public-affichage.php?niveau=TS&id=248>
3. **Anonyme b (2018)**. Les techniques des marqueurs moléculaires. <https://www.gnis-pedagogie.org/biotechnologie-amelioration-marqueur-moleculaire.html> [consulté le 20-Juin-2018]
4. **Aouali S. et Douici-Khalfi A., (2013)**. Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes, développement et moyens de lutte. ITGC. 8-36
5. **Baaziz M, (2018)**. http://www.takween.com/techniques/13_AFLP.pdf [consulté le 20-juin-2018]
6. **BELAID D. (1996)**. Aspects de la céréaliculture algérienne. INES. D'Agronomie. Batna. 187p.
7. **Bensadoun, 2010**. Application de méthodes bayésiennes pour l'évaluation de l'incertitude d'un modèle de prévision de la septoriose sur blé : SEPTO -LIS. Mémoire d'ingénieur agronome : ENSA, El Harrach. ALGER 49p
8. **Bolton M. D., Kolmer J. A., Garvin D. F. (2008)**. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. *Molecular Plant Pathology* 9: 563–575.
9. **Boulal H., El Mourid M., Rezgui S., Zeghouane O. (2007)**. Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Edition: ITGC, INRA Algérie et ICARDA : 176 p.
10. **Bourihane et Mekkaoui, 2013**. **Analyse des déterminants de la production du blé en Algérie. Cas des wilayas Tiaret, Sétif et Médéa L'échantillon 1990 – 2009**
11. **Crossland , S. , Coates , D. , Grahame , J. et Mill , PJ , (1993)** . Utilisation d'ADN polymorphes amplifiés au hasard (RAPD) pour séparer deux espèces apparentées de *Littorina* . *Série de progrès en écologie marine* , 96 , 301 - 305 .
12. **Desjardins et Conklin, (2010)**. NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3346308/> [consulté le 22-Juin-2018]
13. **Djekoun A., Ykhlef N., Bouzerzour H., Hafsi M., Hamada Y., Kahali L. (2002)**. Production du blé dur en zones semi-arides : identification des paramètres d'amélioration du rendement. Act des 3ème Journées Scientifiques sur le blé dur. Constantine.

14. **Dobrovolskaya et al., (2009).** Microsatellite mapping of *Ae. speltoides* and map-based comparative analysis of the S, G, and B genomes of Triticeae species.
15. **Ducellier L. (1930).** Espèces et variétés de céréales cultivées en Algérie. *Direction de l'agriculture et de la colonisation, 130 pages.*
16. **Eyal., A.L. Scharen, J.M. Prescott and M. van Ginvel. (1987).** The Septoria Diseases Of Wheat: Concepts And Methods Of Disease Management. CIMMYT. Mexico.52.p
17. **Ezzahiri B. (2010).** Maladies fongiques foliaires du blé. Quelle menace pour la campagne en cours? Agriculture du Maghreb, N° 41
18. **Ezzahiri, B., (2001).** Les maladies du blé : Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Bulletin de transfert et technologique en agriculture 77 : 4 p
19. **Feillet P., (2000):** le grain de blé composition et utilisation Inra, paris 2000 : 17 – 18.
20. **Feldman M., 2001.** Origin of Cultivated Wheat . Dans Bonjean A.P. et W.J. Angus (éd.) *The World Wheat Book: a history of wheat breeding.* Intercept Limited, Andover, Angleterre, p 3-58.
21. **Grodzicker T, Williams J, Sharp P, Sambrook J. (1975).** Physical mapping of temperature-sensitive proc Natl Acad Sci U S A. 72(11):4496–4500.
22. **Henkrar, (2017).** L'application des marqueurs moléculaires dans l'amélioration génétique du blé marocain : diversité, caractérisation génétique et sélection assistée par marqueurs des gènes de résistance à la rouille, semi-nanisme et qualité boulangère.
23. **Huang J, Pray C, Rozelle S Nature. 2002** Aug 8; 418(6898):678-84. D Botstein, RL White, M Skolnick, RW Davis American journal of human genetics 32 (3), 314.
24. **Huang, S., Sirikhachornkit, A., Su, X., Faris, J., Gill, B., Haselkorn, R., Gornicki, P., (2002).** Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the Triticum/Aegilops complex and the evolutionary history of polyploidy wheat. Proceedings of the national academy of science of the USA 99: 8133-8138.
25. **ICE.2011.** https://www.theice.com/publicdocs/futures_canada /ICE Durum Wheat white paper.pdf
26. **IPGRI and Cornell University, (2003).** Utilisation des marqueurs moléculaires dans les études de diversité génétique des plantes : module d'enseignement.

27. **Kang et al.**, (2011). Introgression of Chromosome 3Ns from *Psathyrostachys huashanica* into Wheat Specifying Resistance to Stripe Rust
28. **Laffont J. M.** (1985). Les maladies des céréales et du maïs. Ciba Geigy/Agri-Nathan, France, p. 96.
29. **Levy, A.A., and Feldman, M.**, (2002). The impact of polyploidy on grass genome evolution. *Plant physiology* 130: 1587-1593.
30. **Masson E.**, (2012). Diagnostic des accidents du blé tendre. ARVALIS-Institut du végétal. 36-40.
31. **Nasraoui B.**, (2006): Les Champignons Parasites Des Plantes Cultivées, Biologie, Systématique, Pathologie, Maladies. Chapitre 4 : Maladies. 363-427. Centre de Publication Universitaire, Tunis.
32. **Ortiz R.** **Critical role of plant biotechnology for the genetic improvement of food crops: perspectives for the next millennium. Electron. J. Biotechnol.** 1998 ;1(3), [cited 15 August]
33. **Parry D.W., Jenkinson P. & McLeod L.** (1995). Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals-a review. *Plant Pathology*, 44, 207-238.
34. **Pena R.J., WH. Pfeiffer.** 2005. **Breeding methodologies and strategies for durum wheat quality improvement. In Conxita, R., Nachit, M., di Fonzo, N., Araus, J.L., Pfeiffer, W.H., & Slafer, G.A. (eds.). Durum wheat breeding: current approaches and future strategies. Food product press.663-686.**
35. **Powell, W., Machray, G.C. and Provan, J.** (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Sci.* 7: 215-222
36. **Ruel T.**, 2006- Document sur la culture du blé, *Ed: Educagri.18p*
37. **Ruttan VW Proc Natl Acad Sci U S A.** 1999 May 25; 96(11):5960-7
38. **Sahraoui Tahar** (2011). Etude de la variabilité morphologique population f2 blé dur (*Triticum durum* Desf.) utilisation d'un indice de sélection. Mémoire de magister. Université Hadj lakhdar batna, p6-8
39. **Saiki, R. K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A , Arnheim, N.** (1985). Enzymatic amplification of p-globln genomic sequences and restriction site analyses for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230 : 1350-1354
40. **Sanah** (2015). Inventaire des maladies fongiques sur les céréales dans la région de Constantine.

- 41. Sayoud R., Ezzahiri B. et Bouznad Z., (1999)** : Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. Eds I.T.G.C., Alger. 64 p
- 42. Sourdille et al., 2001.** Assessment of wheat variety distinctness using SSR markers.
- 43. Susha Cheriyaedath, GCS (2016).** Technique de Polymorphisme de Longueur d'Éclat (RFLP) de Restriction.
- 44. Sutton J.C. (1982)** Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 4, 195-209.
- 45. Tautz D, Renz M (1984).** Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res* 12:4127–4138.
- 46. Thiel, T., Michalek, R.K., Varshney, R.K. and Graner, A. (2003).** Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 106: 411-422
- 47. Vyhnánek Tomáš – Bednář (2005).** Resultats de la detection d'un polymorphisme d'adn de *tritica* au moyen de marqueurs RAPD et SSR. Nouvelle connaissance de la génétique et de l'élevage des plantes agricoles. Actes du 12ème séminaire, Piešťany: VÚRV, 2005
- 48. Wang, Z et al., (1994).** A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. *Nature Genetics* 8: 365-372.
- 49. Wiśniewska Halina. (2016).** Simultaneous selection for yield-related traits and susceptibility to *Fusarium* head blight in spring wheat RIL population
- 50. Yu, J.K., Dake, T., Singh, S., Benschler, D., Li, W., Gill, B. and Sorrells, M. (2004).** Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for hexaploid wheat. *Genome* 47: 805-818.
- 51. Zhang L., Meakin H., Dickinson M. (2003).** Isolation of genes expressed during compatible interactions between leaf rust (*Puccinia triticina*) and wheat using cDNA-AFLP. *Molecular Plant Pathology* 4: 469–477.
- 52. Zhang, L.Y. (2006).** Study of the transferability of microsatellite markers derived from bread wheat (*T. aestivum*) or rice (*O. sativa*) ESTs (EST-SSRs) to their close and wild relatives and evaluation of their potential for the organization of genetic resources in the grass family. *Doctoral Thesis, pp 45-101*
- 53. Zhang, L.Y., Bernard, M., Leroy, P., Feuillet, C. and Sourdille, P. (2005).** High transferability of bread wheat EST-derived SSRs to other cereals. *Theor. Appl. Genet.* 111: 677-687.

Annexes

Annexe 1 : Le Protocol d'utilisation du Kit Promega A1120

Wizard® Genomic DNA Purification Kit

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS A1120, A1123, A1125 AND A1620.

Quick
PROTOCOL

Isolation of Genomic DNA from Whole Blood

Sample Size	Lysis Solution		Protein Precipitation		DNA Rehydration Solution
	Cell	Nuclei	Solution	Isopropanol	
300µl	900µl	300µl	100µl	300µl	100µl
1ml	3ml	1ml	330µl	1ml	150µl
3ml	9ml	3ml	1ml	3ml	250µl
10ml	30ml	10ml	3.3ml	10ml	800µl

As little as 20µl can be processed with this system. Please see Technical Manual #TM050, Section 3.C.

Red Blood Cell Lysis

- Using volumes from the table above, combine the appropriate volumes of Cell Lysis Solution and blood. Mix by inversion.
- Incubate for 10 minutes at room temperature.
- Centrifuge:
 - ≤300µl sample 13,000–16,000 × g*; 20 seconds
 - 1–10ml sample 2,000 × g; 10 minutes
- Discard supernatant. Vortex pellet.

Nuclei Lysis and Protein Precipitation

- Using volumes from the table above, add Nuclei Lysis Solution and mix by inversion.
- Add Protein Precipitation Solution; vortex for 20 seconds.
- Centrifuge:
 - ≤300µl sample 13,000–16,000 × g*; 3 minutes
 - 1–10ml sample 2,000 × g; 10 minutes

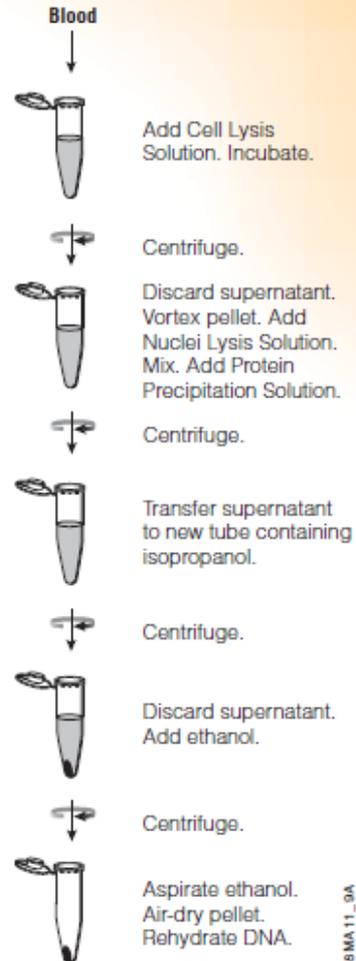
DNA Precipitation and Rehydration

- Transfer supernatant to a new tube containing isopropanol (using volumes from table above). Mix.
- Centrifuge:
 - ≤300µl sample 13,000–16,000 × g*; 1 minute
 - 1–10ml sample 2,000 × g; 1 minute
- Discard supernatant. Add 70% ethanol (same volume as isopropanol).
- Centrifuge as in Step 9.
- Aspirate the ethanol and air-dry the pellet (10–15 minutes).
- Rehydrate the DNA in the appropriate volume of DNA Rehydration Solution for 1 hour at 65°C or overnight at 4°C.

*Maximum speed on a microcentrifuge.

Additional protocol information is available in Technical Manual #TM050, available online at: www.promega.com

ORDERING/TECHNICAL INFORMATION:

www.promega.com • Phone 608-274-4330 or 800-356-9526 • Fax 608-277-26012818MA 11_0A
2/10/04


Promega
Printed in USA. Revised 10/10
Part #9FB022

Annexe 2 : Composition du mélange Mix2X

Réactifs	Volume en μ l
Solution Tampon	2
dNTP	2
MgCl ₂	3.2
Taq Polymérase	0.3
H ₂ O UP	2.5

Annexe 3 : Programmes PCR pour les différentes températures d'amorces

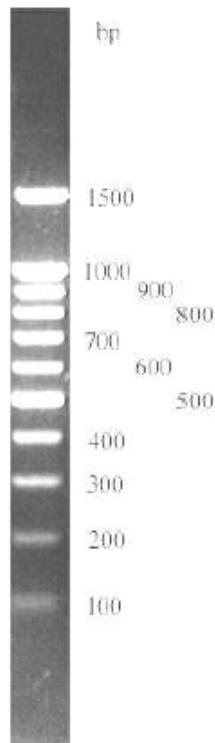
Amorces	Gwm2, gwm140, gwm161, gwm193, gwm493, gwm533, gwm674, wmv44				
Temp°	95	94	61	72	72
Cycles	1	35			1
Temps	5 mins	1 min	1 min	2 min	10 min
Amorces	PSP2999, PSP3000				
Temp°	95	94	55	72	72
Cycles	1	35			1
Temps	5 mins	1 min	1 min	2 min	10 min
Amorce	Barc8				
Temp°	95	94	61	72	72
Cycles	1	35			1
Temps	5 mins	1 min	1 min	2 min	10 min

Annexe 4 : Fiche technique du marqueur de taille utilisé



Datasheet

100 bp Plus Blue DNA ladder

**Features:**

The 100 bp PLUS BLUE DNA Marker is a pre-mixed, ready-to-load molecular weight marker containing a dye which serves as visual aids to monitor the progress of migration during agarose gel electrophoresis.

Description/Preparation:

The DNA marker consists of proprietary plasmids which are digested to completion with appropriate restriction enzymes to yield 11 bands suitable for use as molecular weight standards for agarose gel electrophoresis. The digested DNA includes fragments ranging from 100 - 1500 base pairs. The 500 bp fragment and the 1000 bp fragment are present at increased intensity to allow easy identification. All fragments are blunt-ended. The 100 PLUS BLUE DNA Ladder was designed for precise qualitative and approximately quantification of DNA mass. There are no unspecific bands besides the fragments.

Usage: 0.25 – max. 1.0 µg

Concentration: 0,1 µg/µl

Loading: 0.25 - max. 1.0 µg/ lane in 1.2 - 2.0 % Agarose

Transportation: Shipped on blue ice or room temperature

Storage: at -20°C for 24 months

Storage Buffer/Tracking Dye:

10 mM Tris-HCl (pH 8.0); 50 mM NaCl; 1 mM EDTA, pre-mixed with optimal blue tracking dye

Number of bands: 11 and approx. DNA Mass

base pairs	100	200	300	400	500x3	600	700	800	900	1000x2	1500
DNA mass ng	20	20	30	50	150	80	70	110	120	160	150

Ordering information:

Cat.-no	Description	Amount
304-105	100 bp PLUS DNA Ladder	50 µg/500µl
304-125	100 bp PLUS DNA Ladder	5x50 µg

GeneON .. a good decision ..

.. a good decision ..

**INTITULÉ : CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DE QUELQUES VARIÉTÉS
ALGÉRIENNES DE BLÉ DUR (TRITICUM DURUM DESF.) PAR LES
MICROSATELLITES.**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Génomique
Végétale

Résumé :

La culture du blé est l'une des plus anciennes pratiques agricoles adoptée par l'homme afin de subvenir à ses besoins nutritifs. Avec l'avancement technologique, l'homme est passé de la sélection massale vers les biotechnologies et la sélection assistée par marqueurs. Le blé dur est une céréale cultivée à travers le monde entier, surtout dans les pays méditerranéens où sa culture représente environ 70% des terres cultivées. Les différences climatiques et géographiques entre les régions potentielles en blé avec la domestication pratiquée par l'homme sont les raisons principales de la grande diversité variétale et génétique au sein de cette plante. Les pays qui considèrent le blé comme étant une grande culture exploitent cette grande biodiversité afin de lutter contre les différentes contraintes biotiques et abiotiques qui réduisent le rendement et qui font qu'ils ne soient pas auto-suffisants. Ces pays font des travaux scientifiques dans le but de développer leurs variétés locales ou de créer des nouvelles variétés. Pour cela, ils font appel aux méthodes de croisements et de sélection.

Dans ce travail, nous avons identifié les marqueurs les plus polymorphes des caractères de résistance désirables au sein de huit variétés locales du blé dur qui sont homologuées et cultivées dans la région de Constantine. Et on les a comparés avec deux variétés de blé tendre et une variété d'une ancienne sélection de blé dur. Pour ce faire, nous avons utilisé des marqueurs moléculaires de type SSR. Pour atteindre notre objectif, 11 marqueurs microsatellites ont été choisis avec des amorces qui leur sont spécifiques, et cela pour amplifier les régions d'ADN ciblé afin de pouvoir visualiser le polymorphisme au sein du génome des différentes variétés de blé dur. Nos résultats ont indiqué que les cultivars utilisés dans cette étude pouvaient être utilisés pour améliorer la résistance à certaines maladies, la qualité et la diversité génétique et aussi que la variabilité génétique élevée enregistrée chez les variétés du blé dur homologuées peut être exploitée au futur dans les programmes de sélection assistés par marqueurs.

Mots clés : Blé, Polymorphisme, Microsatellites, SSR, SAM, Caractère.

Laboratoire de recherche : Université Constantine Mentouri 1

Jury d'évaluation :

Président du jury : BOUSBA Ratiba (Docteur - UFM Constantine),
Rapporteur : KELLOU Kamel (Maître Assistant - UFM Constantine),
Examineur : BENBELKACEM Abdelkader (Docteur - UFM Constantine).

Date de soutenance : 28/06/2018