

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

كلية علوم الطبيعة  
البيولوجي و علم البيئة النباتية قسم  
البيولوجي و علم البيئة النباتية قسم  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de debiologie et écologie végétale والحياة

**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 Végétal

N° d'ordre  
: N° de  
série :

Intitulé :

---

**Caractérisation de quelques variétés de blé dur à l'aide de  
marqueurs moléculaires SSR associés à la tolérance au stress  
hydrique**

---

**Présenté par :** MIMOUN Rania

**Le 20/06/2023**

BOUDJAMLIN Lamis

**Jury d'évaluation :**

**Encadrant :** KHENNAOUI. Amina MCB (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Président :** BENBELKACEM. Abdelkader (Directeur de recherche INRA Constantine).

**Examinatrice :** MOUELLEF. Adra MCB (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire 2022 - 2023**

# Remerciements

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الحمد لله رب العالمين، والصلاة والسلام على أشرف الخلق والمرسلين، سيدنا محمد وعلى  
آله وصحبه أجمعين

Je remercie avant tout "ALLAH"

Je remercie vivement mon encadrant Mm. **KHENNAOUI Amina** d'avoir proposé et dirigé ce travail, je la remercie pour ses conseils, son orientation et sa patience pour la réalisation de ce mémoire.

Je remercie infiniment Mr. **BENBELKACEM Abdelkader** d'avoir accepté de présider le jury.

Je remercie amplement Melle. **MOUELLEF Adrad** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également tout mes enseignants, je suis reconnaissante pour tout ce que vous avez fait pour moi. Vous m'avez guidé, encouragé et m'avez permis d'atteindre mes objectifs. Je tiens à vous remercier d'avoir créé cette opportunité pour nous, nous avons des souvenirs inoubliables à la fin de notre dernière année à l'université. Cette occasion nous a permis de nous connecter en tant que groupe, et de vivre une belle expérience.

**Je remercie également toute l'équipe de laboratoire de biochimie, biotechnologie et génétique végétale pour toute l'aide qu'ils nous ont apporté.**

# *Dédicaces*

*À ma chère famille,*

*Je dédie ce modeste mémoire à vous tous, mes êtres chers, qui m'ont soutenu sans relâche tout au long de mes études. Vous avez été mon rocher, ma source de motivation et d'inspiration. En particulier, je tiens à remercier ma mère pour son amour inconditionnel et son soutien constant. Vous êtes le pilier de notre famille et je suis reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour moi.*

*À mes camarades de classe,*

*Vous êtes mes amis et mes partenaires dans cette aventure académique. Nous avons partagé des moments de joie et de stress, et nous avons surmonté des défis ensemble. Je suis fier de vous et je vous souhaite le meilleur pour l'avenir.*

# **Caractérisation de quelques variétés de blé dur à l'aide de marqueurs moléculaires SSR associés à la tolérance au stress hydrique**

## **Résumé**

La caractérisation et l'évaluation des variétés cultivées de blé dur permettent la sauvegarde et la réhabilitation de ce patrimoine génétique. C'est dans ce contexte et en vue de contribuer à l'amélioration et à la gestion de cette importante ressource génétique que notre étude est menée. Notre objectif porte sur l'évaluation et la caractérisation des variétés nouvellement créées Moulat El Dar et Numédia, et la variété locale algérienne Mohamed ben bachir par l'utilisation des marqueurs moléculaires SSR de type WMC 44, WMC 161, GWM577 situés respectivement sur les chromosomes 1B, 4A, 7B associés à la résistance à la sécheresse dans de nombreuses études antérieures.

Les résultats obtenus, révèlent un taux de polymorphisme élevé de l'ordre de 72%. Le nombre total de bandes amplifiées est 19 bandes, et le nombre d'allèles révélés par les amorces est 11 allèles. Les variétés Moulat Eldar et Numédia se distinguent par la présence de 7 allèles et la présence 6 bandes spécifiques, ce polymorphisme retrouvé chez ces variétés offre une alternative dans les programmes d'amélioration de blé dur pour la résistance au stress hydrique.

Mots clé : *Triticum durum*, tolérance, stress hydrique, SSR, amélioration, marqueur moléculaire.

## **Characterization of some durum wheat varieties using SSR molecular markers associated with water stress tolerance**

### **Abstract**

The characterization and evaluation of cultivated varieties of durum wheat allows the safeguarding and rehabilitation of this genetic heritage. It is in this context and in view of contributing to the improvement and the management of this important genetic resource that our study is conducted. In this context, our objective relates to the evaluation and the characterization of the newly created varieties Moulat El Dar and Numédia, and the Algerian local variety Mohamed ben Bachir by the use of molecular markers SSR of type WMC 44, WMC 161, GWM577 located respectively on the chromosomes 1B, 4A, 7B associated with drought resistance in many previous studies. The results obtained reveal a high polymorphism rate of around 72%. The total number of amplified bands is 19 bands, and the number of alleles revealed by the primers is 11 alleles. The Moulat Eldar and Numedia varieties are distinguished by the presence of 7 alleles and the presence of 6 specific bands; this polymorphism found in these varieties offers an alternative in durum wheat improvement programs for resistance to water stress.

**Keywords:** *Triticum durum*, tolerance, drought stress, SSR, improvement, molecular marker.

## توصيف بعض أصناف القمح القاسي باستخدام الواسمات الجزيئية SSR المرتبطة بتحمل الإجهاد

### المائي

### ملخص:

يسمحتوصيفوتقييما لأصنافالمزروعتمنالقمحالقاسيبصونهذاالتراثالجينيوعادتهأهليه.يتمإجراءدراسنتافيهذاالسياقوبهدفالمساهمةفيتحسينوإدارةهذاالموردالجينيمهم.

في هذا السياق، يهدف بحثنا إلى تقييم وتوصيف الأصناف الجديدة التي تم إنشاؤها حديثاً مولات الدار و نوميديا ، والصنف المحلي الجزائري محمد بن بشير، باستخدام الواسمات الجزيئية WMC 44 و WMC 161 و GWM577 الموجودة على التوالي على الصبغيات 1B و 4A و 7B المرتبطة بمقاومة الجفاف في العديد من الدراسات السابقة. توصلت النتائج المستخلصة إلى تباين جزيئي عال 72٪. إجمالي عدد الأليلات المكتشفة بواسطة 3 مؤشرات هو 11 أليل. يتميز أصناف مولات الدار و نوميديا بوجود 7 روابط و 6 أليلات خاصة بهذه الأصناف، و يقدم هذا التنوع الذي تم العثور عليه في هذه الأصناف بديلاً في برامج تحسين القمح الصلب لمقاومة التوتر الناتج عن الجفاف.

الكلمات المفتاحية : *Triticum durum*؛ التحمل، التوتر الناتج عن الجفاف، SSR، تحسين، علامة جزيئية.

## **Liste des abréviations et des acronymes**

**Amorce F** : Amorce Forward; Amorce sens.

**Amorce R** : Amorce Reverse; Amorce anti-sens

**Mix** : Mix réactionnel de la PCR

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**SSR**: Simple SequenceRepeat; Répétition de séquence simple ou Microsatellites.

**WMC**: wheat microsatellite consortium

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Évolution globale des productions de céréales durant la période 2007-2017 (Unité : Quintal)	6
<b>Tableau 2 :</b> Importations annuelles moyennes de céréales (en millions de quintaux et en %)	6
<b>Tableau 03 :</b> Le tableau ci-dessous représenter l'objectif et le principe des marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)	10
<b>Tableau 04 :</b> Le tableau ci-dessous représenter l'objectif et le principe des marqueurs microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeats)	11
<b>Tableau 05 :</b> Le tableau ci-dessous représenter l'objectif et le principe des marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	13
<b>Tableau 06 :</b> Le tableau ci-dessous représenter l'objectif et le principe des RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)	14
<b>Tableau 07 :</b> L'origine des variétés étudiées de blé dur	17
<b>Tableau 8:</b> Noms de marqueurs SSR, leurs séquences et leurs températures.	20
<b>Tableau 9 :</b> Mélange réactionnelle	21
<b>Tableau 10 :</b> évaluation de la quantité de la quantité et de la pureté d'ADN extrait	23
<b>Tableau 11:</b> Taille des allèles observés (Pb) de 3 primes microsatellites chez 3 variétés de blé dur	25
<b>Tableau 12:</b> Présence (1) /Absence (0) des bandes générées par l'amorce WMC 44	26
<b>Tableau 13:</b> Présence (1) /Absence (0) des bandes générées par l'amorce WMC 161	27
<b>Tableau 14:</b> Présence (1) /Absence (0) des bandes générées pour l'amorce GWM 577	28

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> Production mondiale du blé dur par pays	06
<b>Figure 02 :</b> les variétés bousslem ,numidia ,mohamed ben bachiron stade 3 feuille	18
<b>Figure 3 :</b> Protocole de préparation de gel d'électrophorèse 0,8%	19
<b>Figure 4 :</b> Test de qualité de l'ADN de 3 variétés étudiés sur gel d'agarose 0.8	24
<b>Figure 5 :</b> Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois génotypes (Numidia, Mohamed ben bachir, Moulat dar) amplifiés avec l'amorces WMC 44	26
<b>Figure 6:</b> Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Numidia, Mohamed ben bachir, Moulat dar) amplifiés avec l'amorces WMC 161	27
<b>Figure 7 :</b> Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (NUMIDIA,Mouhamed BEN BACHIR, MOULAT DAR) amplifiés avec l'amorce GWM	28
<b>Figure 8:</b> Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés ( Numidia , Mohamed ben bachir , Moulat dar) amplifiés avec les amorces WMC 25 , WMC 168 , WMC 6 , WMC 177	29
<b>Figure 9 :</b> Valeurs totale, de nombre d'allèles par variétés pour l'ensemble des amorces SSR utilisées	30

## **Liste des annexes**

**ANNEXE 01 :** Le Programme PCR de chaque amorce

**ANNEXE 02 :** Marqueur de taille 100 PB

**ANNEXE 03:** Préparation solutions et tampons pour l'extraction d'ADN génomique

# **Table des matières**

Résumé Abstract ملخص

Listes des abréviations et des acronymes

Liste des tableaux

Listes des figures

Liste des annexes

## **Chapitre I : Revue bibliographique**

Introduction	1
1. Présentation du blé dur	3
1.1 Le blé dur	3
1.1.1 Classification générale de Blé dur	3
1.1.2 Géologie de Blé	4
2 Importance de Blé	4
2.1 Dans le monde	4
2.2 En Algérie	5
3. Problématique liée à la production de blé dur en Algérie	7
3.1 Dégradation des sols	7
3.2 Faibles investissements et technologies	7
3.3 Pénurie de main-d'œuvre	7
3.4 Changements climatiques	7
4 Les types de stress liés à la culture de blé dur	7
4.1 Le stress salin	7
4.1.1 Effet de stress salin sur la culture du blé dur ( <i>Triticum durum</i> Desf.)	7
4.2 Le stress thermique	8
4.2. 1 Effet du stress thermique sur la culture du blé	8
4.3 Le stress hydrique	8
4.3.1 Effet du stress hydrique sur la croissance et le développement	10
5. Les programmes d'amélioration du blé par le biais des marqueurs moléculaire	11
5.1 Principaux types de marqueurs moléculaires appliqués pour l'amélioration du blé dur ( <i>Triticum durum</i> )	11
5.2 Marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)	11

5.3	Marqueurs de type PCR (Polymerase Chain Reaction)	12
5.4	Les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeats)	12
5.5	La technique AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	14
5.6	La technique RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)	15

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

1	Matériel végétale	17
2	Mise en place de l'essai	17
2.1	La germination des graines et mise en culture	17
2.2	Extraction de L'ADN	18
2.3	vérification de la qualité et de quantité d'ADN extraite	19
2.3.1	Dosage de l'ADN génomique	19
2.3.2	Electrophorèse sur gel d'agarose (0,8%)	19
2.4	Analyse moléculaire par les marqueurs SSRs	20
2.4.1	Amplification par la technique PCR	20
2.4.2	Les amorces SSR utilisées	20
2.5	Mélange réactionnelles	20
2.6	Préparation des amorces	21
2.7	Amplification par PCR	21
2.8	Vérification de l'amplification par électrophorèse sur gel d'agarose 3 %	21
2.9	Analyse des résultats	22

## **Chapitre III : Résultat et discussions**

1.	Evaluation de la qualité et la quantité d'ADN extrait	23
2.	Evaluation de la qualité des ADNs extrait sur gel d'agarose 0,8 %	23
3.	Evaluation de la diversité des marqueurs étudiés	23
3.1.	Le pourcentage de bandes polymorphes (P)	25
3.2	Evaluation de la variation de présence et absence de bande chez les trois variétés	25
3.2.1	Amorce WMC44	25
3.2.2	Amorce WMC161	27
3.2.3	Amorce GWM577	28

3.2.4 Les amorces non retenues dans notre étude	28
4. Nombre totale d'allèles par variétés	30
Conclusion	32
Références bibliographiques	33
<b>Annexes</b>	

# **Chapitre I : Revue bibliographique**

# Introduction

---

## Introduction

Le blé dur (*Triticum durum Desf.*) est l'une des cultures les plus importantes dans le monde en raison de son utilisation courante dans la production de pâtes alimentaires, de couscous et de nombreux autres produits alimentaires (Rezgui et al ; 2021).

Cependant, la production de blé dur est limitée par de nombreux facteurs, tels que les stress abiotiques et biotiques, qui peuvent réduire considérablement le rendement et la qualité de la récolte (Alshammary et al ; 2020). Les stress abiotiques, tels que la sécheresse, le froid, la salinité et les variations extrêmes de température, sont des facteurs environnementaux qui peuvent avoir un impact négatif sur la croissance et le développement des plantes (Zhang et al ; 2020).

La tolérance au stress est une caractéristique importante pour les plantes cultivées, en particulier pour le blé dur (*Triticum durum Desf.*) (Ashraf and Akram, 2009). La tolérance au stress implique la capacité d'une plante à maintenir sa croissance et son développement dans des conditions environnementales défavorables (Krasensky and Jonak, 2012). La tolérance au stress peut être influencée par plusieurs facteurs, notamment les gènes qui sont impliqués dans les processus de régulation du stress (Mickelbart et al, 2015). La caractérisation moléculaire des gènes impliqués dans la tolérance au stress chez le blé dur peut aider à mieux comprendre les mécanismes moléculaires de la tolérance au stress et peut conduire à l'amélioration de la tolérance au stress chez cette culture importante (Mondini et al, 2020).

Au cours des dernières années, des avancées significatives ont été réalisées dans l'identification des gènes impliqués dans la tolérance au stress chez le blé dur (Chen et al ; 2019). Des études ont montré que les gènes impliqués dans les processus de régulation du stress, tels que la régulation de l'expression des gènes et la synthèse de protéines de stress, peuvent jouer un rôle important dans la tolérance au stress chez le blé dur (Zhang et al, 2015; Ashraf and Akram, 2019). La caractérisation moléculaire de ces gènes peut fournir des informations importantes sur les mécanismes de régulation du stress chez le blé dur (Mondini et al, 2020). L'utilisation des marqueurs moléculaires dans les programmes d'amélioration de blé dur a permis d'accélérer le processus de sélection et d'augmenter l'efficacité de l'amélioration génétique. Les marqueurs moléculaires sont des segments d'ADN qui peuvent être utilisés pour identifier des variations génétiques spécifiques dans une population de plantes.

# Introduction

---

Dans le cas du blé dur, les marqueurs moléculaires peuvent être utilisés pour identifier des gènes spécifiques qui sont associés à des caractéristiques souhaitables, telles que la résistance aux maladies, la tolérance à la sécheresse ou la qualité de la farine. Les sélectionneurs peuvent ainsi identifier rapidement les plantes qui présentent les caractéristiques souhaitables et les utiliser dans le processus de croisement pour créer des variétés améliorées. (Liu et al., 2019; Gupta et al., 2020).

L'objectif principal de cette étude est de caractériser trois variétés de blé dur Moulatdar, Numidia, Mohamed ben Bachir par l'utilisation des marqueurs SSR, vu l'importance de ces derniers dans les études de caractérisation, d'identification, cartographie génétique et diversité de blé dur (Mammadov et al., 2012) et (Gupta et al., 2019) et (Zhang et al. (2015) ainsi grâce à leurs caractéristiques : ils sont abondants, dispersés dans tout le génome et présentent des niveaux de polymorphisme les plus élevés, leur potentiel d'automatisation et leur codominance sont des atouts supplémentaires par rapport aux autres types de marqueurs moléculaires (Islam et al., 2013).

Notre travail s'articule en trois chapitres :

Chapitre I : Ce chapitre consiste en une revue de la littérature sur le blé dur, en mettant en évidence sa répartition géographique et son importance. Il présente également les principaux problèmes liés à la culture de blé dur ainsi que les différents types de marqueurs moléculaires utilisés pour l'analyse de la caractérisation et la variabilité génétique.

Chapitre II : Ce chapitre détaille les principales méthodologies utilisées pour l'étude de la diversité moléculaire du blé dur. Il décrit le matériel végétal utilisé, et la démarche expérimentale employée pour l'analyse et la caractérisation des variétés étudiées.

Chapitre III : Ces chapitres présentent les résultats obtenus. Ces résultats sont interprétés et discutés en fonction des objectifs de l'étude.

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

## 1. Présentation du blé dur

### 1.1. Le blé dur

Le blé dur (*Triticum durum*) est une plante annuelle de la classe monocotylédone, faisant partie du genre *Triticum* de la famille des Poacées (ou Graminées). Cette céréale possède un grain constitué d'une graine et de téguments, appelé caryopse, qui est un fruit sec et indéhiscent. Les téguments du blé dur sont riches en polyphénols et en (*Triticum durum* Desf.) caroténoïdes, qui ont des propriétés antioxydantes bénéfiques pour la santé humaine (Coda et al, 2015). Le blé dur est une culture importante dans la région méditerranéenne, où il est utilisé pour la production de semoule, qui est l'ingrédient de base pour la préparation de nombreux plats traditionnels (Lafiandra et al, 2014). Cette céréale est également utilisée pour la fabrication de pâtes alimentaires de haute qualité, qui sont appréciées dans le monde entier (Delgado et al. 2021). Enfin, le blé dur est une source importante de protéines végétales et de glucides complexes, ce qui en fait un aliment de base dans de nombreux pays (Khan et al, 2016).

#### 1.1.1 Classification générale de Blé dur

Le blé, dont le nom botanique est *Triticum durum*, est une espèce de plante herbacée de la famille des Poacées. Il existe de nombreuses variétés de blé, mais la plupart d'entre elles peuvent être classées en deux groupes : le blé tendre (*Triticum aestivum* vulgare) et le blé dur (*Triticum durum*).

La classification botanique du blé dur est la suivante (Missouri Botanical Garden. (n.d.).

*Triticum durum* Desf(2010) :

- Règne : Plantae
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Liliopsida
- Ordre : Poales
- Famille : Poacea
- Genre : *Triticum*
- Espèce : *Triticum durum* Desf

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

## 1.1.2 Géologie de Blé dur

L'origine exacte du blé dur (*Triticum durum*) reste incertaine, mais on estime que cette céréale a été domestiquée il y a environ 8 000 ans dans la région du Croissant fertile, qui s'étend sur une partie de l'actuel Moyen-Orient. Des recherches archéologiques suggèrent que les premières cultures de blé dur auraient été cultivées en Syrie et en Turquie, avant de se propager dans d'autres parties du monde. (Zohary., Hopf. & Weiss, 2012)

Toutefois, certains éléments suggèrent que le blé dur aurait également été domestiqué indépendamment dans d'autres régions du monde, notamment en Éthiopie et en Inde. Il existe également de nombreuses variétés de blé dur, adaptées à différents climats et utilisations culinaires. (Ponti, & Arzanpour, 2017)

Aujourd'hui, le blé dur est cultivé dans de nombreuses régions du monde, notamment en Afrique du Nord, en Europe du Sud et au Moyen-Orient. Cette céréale est utilisée pour produire une grande variété de produits alimentaires, tels que les pâtes, le couscous, le pain et les gâteaux. (Shewry., Hey.2015)

## 2. Importance de Blé dur

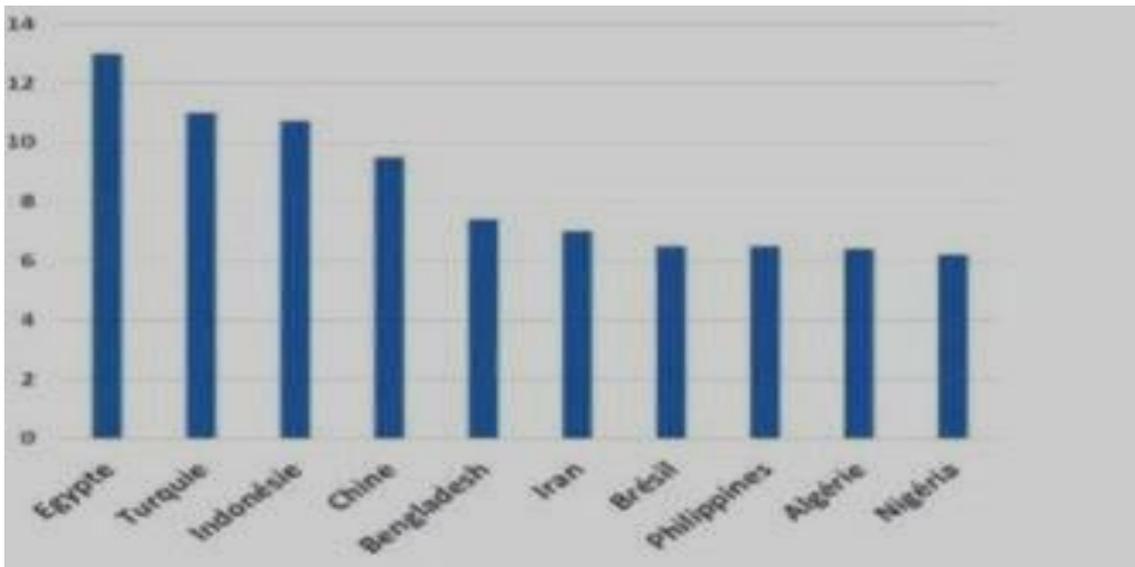
### 2.1 Dans le monde

Le blé est l'un des aliments de base les plus importants dans le monde, jouant un rôle clé dans la sécurité alimentaire et l'économie mondiale (**Figure 01**). Voici quelques points clés sur l'importance du blé dans le monde, ainsi que quelques références pour approfondir le sujet

- 1) **Production alimentaire** : Le blé est la troisième culture la plus cultivée dans le monde, après le maïs et le riz, et la production de blé est estimée à environ 750 millions de tonnes par an (FAOSTAT 2022). Le blé est une source importante de nourriture pour les humains et est utilisé pour faire une grande variété de produits alimentaires tels que du pain, des pâtes, des biscuits, des céréales et bien d'autres.
- 2) **Sécurité alimentaire** : Le blé est un aliment de base pour des millions de personnes dans le monde entier, en particulier dans les régions où les autres sources de nourriture sont limitées ou peu fiables. Le blé est également un élément clé des programmes d'aide alimentaire dans le monde entier.

# Chapitre I : Revue bibliographique

- 3) **Économie** : Le blé est une culture de grande valeur économique, représentant une part importante des exportations de nombreux pays. Le commerce mondial du blé est estimé à environ 200 millions de tonnes par an, d'une valeur de plus de 40 milliards de dollars (International Grains Council).
- 4) **Emplois** : La production, la transformation et la vente de blé créent de nombreux emplois dans le monde entier, contribuant ainsi à l'économie locale et nationale.



**Figure 01** : Production mondiale du blé dur par pays ( **Intercéréales**2022)

## 2.2 En Algérie

Le blé est une culture importante en Algérie, tant sur le plan économique que sur le plan alimentaire. En effet, le blé est l'une des principales cultures céréalières en Algérie et est largement utilisé dans la production de produits alimentaires de base tels que le pain, les pâtes et la semoule. (Banquemondiale. 2021).

Selon un bilan réalisé par Ferhat et Chehat (2020), l'évolution de la céréaliculture algérienne entre 1962 et 2017 a été guidée par l'affirmation d'un objectif d'intensification et par un décalage entre cet objectif et les résultats obtenus dans la production, en revanche les résultats restent décevants (Tableau 1) : en 2017, la production céréalière se maintint à 34 millions de quintaux. Compte donc tenu de ces précisions, force est de conclure que la politique d'intensification à base de mécanisation et d'utilisation de consommations intermédiaires a échoué et que l'espoir de réaliser l'autosuffisance en céréales notamment en blés s'éloignait d'année en année.

Le poids des importations des blés est ainsi resté important ce qui ne manquera pas de consolider la dépendance de l'Algérie à l'égard du marché mondial des grains. Cette

## Chapitre I : Revue bibliographique

contrainte est d'autant plus importante que ces importations se réalisent dans un contexte de crise financière qui les rendent plus difficiles et plus lourdes politiquement. L'élargissement du déséquilibre qui existe entre l'offre et la demande en céréales est comblé dans une large mesure par des importations devenues au fil des années excessivement onéreuses, les moyens de paiement étant limités.

Le décrochage de l'offre nationale en céréales et produits dérivés par rapport à la consommation a été et demeure une constante du marché algérien. Durant les années 2010, les importations ont donc continué à croître toujours au rythme de la croissance des besoins alimentaires de la population (Tableau .2).

**Tableau 1 : Évolution globale des productions de céréales durant la période 2007-2017 (Unité : Quintal)**

Campagnes	Blé dur	Blé tendre	Orge	Avoine	Total céréales
2006/2007	15 289 985	7 899 640	11 866 580	922 375	35 978 580
2007/2008	8 138 115	2 972 210	3 959 215	266 600	15 336 140
2008/2009	23 357 870	11 093 120	25 666 140	1 109 870	61 227 000
2009/2010	20 385 000	9 142 000	15 039 000	1 015 000	45 581 000
2010/2011	21 957 900	7 151 000	12 580 800	767 300	42 457 000
2011/2012	24 071 180	10 251 125	15 917 150	1 097 025	51 336 480
2012/2013	23 323 694	9 666 796	14 986 386	1 132 859	49 109 735
2013/2014	18 443 334	5 918 634	9 394 009	565 803	34 321 780
2014/2015	20 199 390	6 367 916	10 305 564	682 025	37 554 895
2015/2016	19 376 173	5 024 791	9 199 064	721 209	34 321 237
2016/2017	19 909 570	4 455 460	9 696 964	640 175	34 702 169
Moyenne (2007-2017)	19 495 656	7 267 517	12 600 988	810 931	40 175 092

**Source :** Construit à partir des données statistiques du Ministère de l'Agriculture.

**Tableau 2 : Importations annuelles moyennes de céréales (en millions de quintaux et en %)**

	1967-1969	1970-1973	1974-1977	2000-2006	2007-2017
Importations	6,2	7,8	17,3	78,2	105,2
Production	18,6	18,7	18,9	34,1	40,2
<u>Importations</u> <u>Production</u>	33,3%	41,7%	91,5%	229,3%	261,7%

**Source :** Construit à partir des données statistiques du Ministère de l'Agriculture.

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

## 3. Problématique liée à la production de blé dur en Algérie

### 3.1 Dégradation des sols

De nombreux agriculteurs en Algérie souffrent de la dégradation des sols due à la culture excessive et au manque d'attention porté à la fertilité des sols. ", Matallah, 2017.)

### 3.2 Faibles investissements et technologies

L'agriculture en Algérie souffre d'un manque d'investissements et de technologies, ce qui rend difficile pour les agriculteurs de tirer le meilleur parti de leurs cultures. (Chabane, 2017.)

### 3.3 Pénurie de main-d'œuvre

L'Algérie souffre d'une pénurie de main-d'œuvre dans l'agriculture, en particulier dans les régions éloignées et défavorisées. (Belkacem, 2018.)

### 3.4 Changements climatiques

L'eau est l'un des facteurs les plus importants affectant la productivité des cultures, et l'Algérie est confrontée à un problème de pénurie d'eau en raison des changements climatiques et des courants d'air (Behnassi et al. 2015.)

## 4 Les type de stress liés à la culture de blé dur

### 4.1 Le stress salin

Le stress salin est caractérisé par une concentration excessive en sel dans le sol, ce qui peut avoir un impact négatif sur la croissance et le développement des plantes. Le terme "salin" est généralement utilisé pour désigner une augmentation des ions spécifiques tels que le  $\text{Na}^+$  et le  $\text{Cl}^-$ . (Hopkins, 2003).

Les effets à long terme du stress salin sont principalement dus à un déséquilibre ionique et à la toxicité du sodium ( $\text{Na}^+$ ) plutôt qu'à l'effet du sel sur le potentiel hydrique réduisant la disponibilité en eau (Munns, 2002).

Lorsqu'une plante de blé dur est soumise à un stress salin, elle doit faire face à une augmentation de la concentration de sel dans le sol ou dans l'eau d'irrigation. Cette concentration élevée de sel peut affecter la capacité de la plante à absorber l'eau et les nutriments du sol. Le sel peut également endommager les membranes cellulaires, ce qui peut entraîner une perte d'eau et de nutriments.

Le stress salin peut également affecter la photosynthèse, le métabolisme et la croissance des plantes de blé dur. Le sel peut affecter la structure des chloroplastes, ce qui peut réduire la capacité de la plante à produire de l'énergie à partir de la lumière. Le sel peut également affecter le métabolisme des glucides, des protéines et des lipides, ce qui peut affecter la

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

croissance et le développement des plantes de blé dur (Rehman et *al*, 2000 ; Ramoliya et *al* ; 2004).

Les plantes de blé dur peuvent activer différents mécanismes de défense pour faire face au stress salin, mais il est important de trouver des moyens de réduire l'impact du stress salin sur les cultures de blé dur, tels que l'utilisation de variétés tolérantes au sel ou l'amélioration de la qualité de l'eau d'irrigation.

## 4.2 Le stress thermique :

Le stress thermique correspond à une élévation de la température approximativement de 10°C au-dessus de la température normale de croissance (Schoffl et *al*, 1986).

L'élévation de la température provoque une dénaturation des protéines membranaires par la fonte des lipides membranaires qui conduit à la rupture des membranes et à la perte du contenu cellulaire (Abrol et Ingram, 1997) ; c'est pour cela, la chaleur demeure un facteur plus néfaste dans les zones sahariennes où les vents chauds et secs desséchants affectent la production (Zeghouane, 1989).

### 4.2.1 Effet du stress thermique sur la culture du blé

Le stress thermique peut affecter la photosynthèse en altérant la structure et la fonction des chloroplastes. Les températures élevées peuvent endommager les membranes des chloroplastes, ce qui peut réduire la capacité de la plante à produire de l'énergie à partir de la lumière. Le stress thermique peut également affecter le métabolisme des glucides, des protéines et des lipides, ce qui peut affecter la croissance et le développement des plantes de blé.

Selon Saraoui, 2011 des températures supérieures à 30 °C peuvent affecter le poids final du grain ainsi que le nombre de grains par épis et le rendement par unités de surface.

## 4.3 Le stress hydrique

Le terme de stress hydrique fait référence à une situation où il n'y a pas suffisamment d'eau pour répondre aux besoins des plantes pendant leur croissance et leur développement. Le stress hydrique peut être causé par un manque d'eau dans le sol ou par une incapacité à absorber l'eau en raison de conditions environnementales défavorables, telles que des températures élevées ou un sol contaminé. Le manque d'eau a un effet négatif sur la croissance et la productivité des plantes et peut finalement conduire à leur mort. (Munns, 2002).

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

Le stress hydrique a été étudié dans de nombreuses recherches scientifiques et de nombreux chercheurs ont examiné les mécanismes d'impact du stress hydrique sur les plantes et les méthodes pour améliorer la tolérance des plantes au stress hydrique. (Chaves, M. et *al.* 2009). Chaves et *al.* (2003) ont étudié les mécanismes d'impact du stress hydrique sur les gènes, les tissus et les organes des plantes, et ont souligné l'importance de comprendre ces mécanismes pour améliorer la tolérance des plantes au stress hydrique. Farooq et *al.* (2009) ont examiné les effets du stress hydrique sur les plantes et les mécanismes d'impact, soulignant que le stress hydrique réduit la croissance et la productivité des plantes et peut finalement conduire à leur mort. L'étude de Munns et Tester (2008) a examiné les mécanismes de tolérance des plantes au stress hydrique et a souligné que certaines espèces de plantes peuvent s'adapter aux conditions de stress hydrique en augmentant l'efficacité d'utilisation de l'eau et en tolérant la sécheresse.

De nombreux chercheurs étudient le stress hydrique et ses mécanismes d'impact, et beaucoup travaillent à améliorer la tolérance des plantes au stress hydrique et à augmenter leur productivité dans des conditions de stress hydrique. Parmi les universités et les institutions de recherche qui s'intéressent à ce sujet, on peut citer l'Université de Californie à Berkeley et l'Université de Californie à Davis en Californie, la McGill Université au Canada, l'Université de Louvain en Belgique, l'Institut Max Planck pour les sciences des plantes en Allemagne, le Centre international de recherche agricole dans les zones arides en Syrie, le Centre de recherche agricole et animale au Royaume-Uni, le Centre de recherche agricole en Iran, et l'Institut de recherche sur l'environnement et l'agriculture en Australie. (Verslues et *al.* 2011).

## **4.3.1 Effet du stress hydrique sur la croissance et le développement**

Le stress hydrique est un problème croissant dans l'agriculture mondiale qui a un impact significatif sur la croissance et le développement des plantes de blé dur. (Khan et *al.* (2020), le stress hydrique peut affecter les processus de croissance tels que la germination des graines, la croissance des racines et des tiges, et la floraison. En effet, le stress hydrique réduit l'absorption d'eau et de nutriments par les plantes de blé dur, ce qui entraîne une diminution de la croissance des racines et des tiges (Yang et *al.*, 2021).

De plus, le stress hydrique a également un impact sur la photosynthèse des plantes. (Yan et *al.* (2021), le stress hydrique peut perturber le processus de photosynthèse en réduisant la quantité de chlorophylle dans les feuilles de blé dur et en perturbant l'activité des enzymes photosynthétiques. Le stress hydrique peut également entraîner une accumulation de stress

# Chapitre I : Revue bibliographique

oxydatif, ce qui perturbe les processus de signalisation cellulaire et nuit à la croissance et au développement de blé dur (Kulik et al, 2021).

En conclusion, le stress hydrique a des impacts significatifs sur la croissance, le développement et la qualité des produits agricoles. Il est donc important de développer des stratégies efficaces pour atténuer les effets du stress hydrique, notamment l'utilisation de plantes résistantes à la sécheresse, l'adoption de pratiques agricoles appropriées et l'intégration des outils de biologie moléculaire pour l'identification des génotypes plus performants.

## 5. Les programmes d'amélioration du blé par le biais des marqueurs moléculaire

### 5.1 Principaux types de marqueurs moléculaires appliqués pour l'amélioration du blé dur (*Triticum Durum*)

### 5.2 Marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

**Tableau 03 :** Le tableau ci-dessous récapitule l'objectif et le principe des marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

<b>Marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)</b>	
<b>Objectif :</b> identifier les variations génétiques entre différentes variétés de blé en comparant les patrons de fragmentation de l'ADN généré par des enzymes de restriction spécifiques	<b>Principe :</b> l'ADN est extrait des échantillons de blé et est coupé en fragments par des enzymes de restriction. Les fragments sont ensuite séparés par électrophorèse par Le gel d'acrylamide ou Le gel d'agarose et les patrons de fragmentation sont comparés pour identifier les variations génétiques.



### Utilisation des marqueurs RFLP

La technique des marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) est une méthode de cartographie génétique qui permet de détecter des variations dans les séquences d'ADN entre différents individus. Ces variations peuvent être utilisées pour créer des cartes génétiques, identifier des QTL (Quantitative Trait Loci) associés à des caractères

# Chapitre I : Revue bibliographique

agronomiques et de qualité, ainsi que pour l'identification de variétés de blé. Dans une étude menée par Zhang et coll. en 2015, les marqueurs RFLP ont été utilisés pour évaluer la diversité génétique des variétés de blé dans différentes régions du monde. Les résultats ont montré qu'il existait une grande diversité génétique dans les variétés de blé, avec des variations importantes dans les marqueurs RFLP entre les différentes variétés. Ces résultats sont importants pour l'amélioration génétique du blé, car ils permettent de sélectionner des variétés qui ont des caractéristiques souhaitables pour la culture dans des conditions spécifiques. De plus, l'utilisation de marqueurs RFLP peut aider à identifier les variétés qui sont résistantes à des maladies ou qui ont des caractéristiques de qualité supérieure. En résumé, l'utilisation des marqueurs RFLP est une méthode importante pour la cartographie génétique du blé, l'identification de QTL associés à des caractères agronomiques et de qualité, et pour l'identification de variétés de blé. Les résultats de l'étude de Zhang et coll. en 2015 ont démontré l'importance de cette technique pour l'amélioration génétique du blé.

## 5.3 Marqueurs de type PCR (Polymerase Chain Reaction)

## 5.4 Les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeats)

**Tableau 04** : Le tableau ci-dessous résume l'objectif et le principe des marqueurs microsatellites SSR (Simple Sequence Repeats)

Les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeats)	
<b>Objectif</b> : détecter les variations génétiques basées sur le nombre de répétitions d'un motif court d'ADN (2 à 6 pb) appelé microsatellite ou SSR.	<b>Principe</b> : les séquences de microsatellites sont amplifiées par PCR en utilisant des amorces spécifiques des régions en amont et en aval du microsatellite. Les produits de PCR sont ensuite séparés par électrophorèse par Le gel d'acrylamide ou Le gel d'agarose pour identifier les variations génétiques.



## Utilisation des marqueurs SSR

Les marqueurs SSR (Simple Sequence Repeat) sont de petits motifs répétitifs d'ADN qui se trouvent dans les génomes des plantes, y compris le blé dur. Ils sont largement utilisés en

## Chapitre I : Revue bibliographique

---

génétique moléculaire pour cartographier des gènes, étudier la diversité génétique et analyser la parenté entre différentes variétés de blé dur.

Dans une étude menée par Saleh et coll. (2018), les marqueurs SSR ont été utilisés pour étudier la diversité génétique des variétés de blé dur cultivées dans différentes régions de l'Algérie. Les chercheurs ont utilisé des marqueurs SSR pour analyser 30 variétés de blé dur collectées dans 4 régions du pays. Les résultats ont montré une grande diversité génétique entre les variétés de blé dur, avec des différences significatives dans les fréquences alléliques et génotypiques entre les régions.

Les marqueurs SSR ont également été utilisés pour étudier la parenté et la diversité génétique chez d'autres espèces de plantes, y compris le blé tendre. Par exemple, dans une étude menée par Hu et coll. (2011), les marqueurs SSR ont été utilisés pour analyser la diversité génétique de 105 variétés de blé tendre en Chine. Les résultats ont montré une grande diversité génétique entre les variétés, avec des différences significatives dans les fréquences alléliques et génotypiques entre les régions.

Dans une autre étude menée par Siala et coll. (2017), les marqueurs SSR ont été utilisés pour étudier la diversité génétique et la structure des populations de blé dur en Tunisie. Les résultats ont montré une grande diversité génétique entre les populations de blé dur et ont révélé la présence de quatre groupes génétiques distincts.

De ce fait les marqueurs SSR (Simple Sequence Repeats) sont largement utilisés dans la recherche sur le blé dur pour l'analyse de la diversité génétique, la cartographie génétique et l'amélioration de la résistance aux maladies. Par exemple, une étude menée par Nachit et al. (2001) a utilisé des marqueurs SSR pour évaluer la diversité génétique de 94 accessions de blé dur provenant de différentes régions du monde. Les résultats ont montré une grande diversité génétique parmi les accessions, ce qui pourrait être exploité pour améliorer la production de blé dur.

Une autre étude menée par Maccaferri et al. (2008) a utilisé des marqueurs SSR pour cartographier les gènes de la résistance à la rouille de la tige chez le blé dur. Les résultats ont permis d'identifier plusieurs QTL (Quantitative Trait Loci) associés à la résistance à la rouille de la tige.

Les marqueurs SSR ont été utilisés pour l'amélioration de la résistance aux maladies chez le blé dur. Par exemple, une étude menée par Mangini et al. (2011) a utilisé des marqueurs SSR pour identifier des QTL associés à la résistance à la septoriose chez le blé dur. Les résultats

# Chapitre I : Revue bibliographique

ont permis d'identifier des gènes candidats qui pourraient être utilisés dans les programmes d'amélioration de la résistance à la septoriose.

## 5.5 La technique AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

**Tableau 05 :** Le tableau ci-dessous représente l'objectif et le principe des marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

<b>La technique AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)</b>	
<b>Objectif :</b> détecter les variations génétiques basées sur la présence ou l'absence de fragments d'ADN amplifiés par PCR à partir d'enzymes de restriction	<b>Principe :</b> l'ADN est coupé avec des enzymes de restriction et des adaptateurs d'ADN sont ajoutés aux extrémités des fragments d'ADN résultants. Les fragments sont ensuite amplifiés par PCR en utilisant des amorces spécifiques aux adaptateurs. Les produits de PCR sont séparés par électrophorèse pour identifier les variations génétiques.



### Utilisation des marqueurs AFLP

Les marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) sont une technique de biologie moléculaire utilisée pour l'analyse de la diversité génétique et la cartographie génétique des organismes. Cette technique permet d'amplifier un grand nombre de fragments d'ADN à partir d'un échantillon et de les séparer selon leur taille pour déterminer les variations génétiques entre les individus.

Dans une étude menée par Qureshi et coll. (2016), les marqueurs AFLP ont été utilisés pour évaluer la diversité génétique des variétés de blé cultivées dans différentes régions du Pakistan. Les chercheurs ont analysé 24 variétés de blé collectées dans 4 régions du pays en utilisant 24 paires d'amorces AFLP. Les résultats ont montré une grande diversité génétique entre les variétés de blé, avec des différences significatives dans les fréquences alléliques et génotypiques entre les régions. Les marqueurs AFLP ont également permis de révéler des relations génétiques complexes entre les variétés de blé, suggérant une forte influence de la sélection humaine sur la diversité génétique des variétés de blé cultivées au Pakistan.

Les marqueurs AFLP ont également été utilisés pour la sélection assistée par marqueurs chez le blé. Dans une étude menée par Li et coll. (2017), les marqueurs AFLP ont été utilisés pour identifier des marqueurs génétiques associés à la résistance à la rouille de la tige du blé. Les

# Chapitre I : Revue bibliographique

résultats ont permis de sélectionner des variétés de blé résistantes à la rouille de la tige en utilisant des marqueurs AFLP spécifiques.

Enfin, les marqueurs AFLP ont également été utilisés pour étudier la diversité génétique dans d'autres espèces de plantes et d'animaux. Par exemple, dans une étude menée par Ghosh et coll. (2016), les marqueurs AFLP ont été utilisés pour étudier la diversité génétique des races indiennes de poulets. Les résultats ont montré une grande diversité génétique entre les races de poulets, avec une forte corrélation entre la distance génétique et la distance géographique.

## 5.6 La technique RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

**Tableau 06** : Le tableau ci-dessous représente l'objectif et le principe des marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

<b>La technique RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)</b>	
<b>Objectif</b> : détecter les variations génétiques basées sur la présence ou l'absence de fragments d'ADN amplifiés par PCR à partir d'amorces aléatoires.	<b>Principe</b> : des amorces aléatoires sont utilisées pour amplifier de petits fragments d'ADN de manière aléatoire par PCR. Les produits de PCR sont séparés par électrophorèse pour identifier les variations génétiques.

### Utilisation des marqueurs RAPD

Les marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) sont une technique de biologie moléculaire largement utilisée pour l'analyse de la diversité génétique, la cartographie génétique et la sélection assistée par marqueurs chez les plantes et les animaux. Cette technique p

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

# **Chapitre II : Matériel et méthodes**

## ChapitreII :Matériel et méthodes

### 1 Matériel végétale

Le matériel végétal étudié est composé de 4 variétés de blè dur (*Triticum durum Desf.*)

(tableau07).Elles ont été gracieusement fournies par l'Institut

Technique des Grandes Cultures (ITGC) (station El Khroub de Constantine).**Tableau**

**07** :L'origine des variétés étudiées de blé dur

Nom de la variété	Origine
Mohamed benbachir	Locale Algérienne
Numidia	ICARDA
Moulat el dar	CIMMYT
Bousslem	Sélection ITGC Sétif

### 2. Mise en place de l'essai

L'expérimentation a été conduite au laboratoire de Génétique Biochimie et de Biotechnologie Végétale (Génétique Biotechnologie Biochimie Végétale) à Chaabat EL Rasses, Université Frères Mentouri Constantine1.

#### 2.1 La germination des graines et mise en culture

Les graines des quatre génotypes ont été stérilisées et désinfectées à l'aide d'une solution d'eau de javel à 5% pendant 15 minutes puis rincées trois fois à l'eau distillée.

Les graines ont été mises à germer sur papier absorbant dans des récipients en plastique avant être placés dans l'obscurité les boîtes sont mises à l'obscurité dans une chambre de culture à une température de 25°C. (La variété Bousslem n'a pas germé)

Après la germination les plantules sont transplantées dans les pots en plastique remplies de terreau à raison dix graines par pot. Les plantes ont été arrosée à l'eau au besoin pendant toute la durée de l'expérience, du début de la germination jusqu' au stade de 3 feuilles.

Après 21 jours de la culture (au stade 3 feuille) les feuilles sont prélevées, broyées avec de l'azote liquide et stockées à -80°C en attendant leur utilisations ultérieure (figure 02)

**Figure 02** :développement des variétés, Numidia ,Moulat el dar , Mohamed Ben Bachir au stade 3 feuille

### **2.2 Extraction de L'ADNgénomique**

Broyer le matériel végétal (environ150mg) dans un mortier avec l'azote liquide (manipuler avec les gants) puis transférer le broyat dans un tube à vis (mettez les tubes contenant le broyat dans l'azote liquide, bien fermer les tubes).

Préchauffer le tampon CTAB 2X additionné de Beta-mercaptoéthanol dans un bain marie à 65°C. Ensuite, Ajouter 900 µl de tampon CTAB 2X additionné de Beta-mercaptoéthanol(annexe 3) préchauffé à 65°C et Homogénéiser au vortex puis Incuber 60min dans un bain marie a65°C avec agitation. Centrifuger 15min a 10000 rpm à 4°C et récupérer environ 800 µl de surnageant dans un nouveau tube Eppendorf de 2ml. Ensuite Ajouter 800 µl

## Chapitre II : Matériel et méthodes

pendant 15 minutes à température ambiante. Centrifuger 5 minutes à 10000 rpm à 4°C ensuite éliminer le surnageant et Ajouter 500 µl de la solution de lavage 2.

Ne pas incuber plus de 5 minutes et Centrifuger après 5 minutes à 10000 rpm à 4°C. Ensuite éliminer le surnageant et sécher l'ADN à l'air libre pendant 10 à 20 minutes. Finalement suspendre le culot d'ADN dans 100 µl de l'eau distillée ultra pure et stocker l'ADN pendant une nuit à 4°C avant dosage.

### 2.3 vérification de la qualité et de la quantité d'ADN extraite

#### 2.3.1 Dosage de l'ADN génomique

La concentration et la pureté d'ADN est déterminé grâce à la lecture de la densité optique avec un Nano drop. L'absorbance est mesurée dans la longueur d'onde 260 nm et 280 nm Un rapport - (DO260/DO280) entre 1.8 et 2 caractérise l'ADN pure. La concentration de l'ADN est à 50 µg/ml .

#### 2.3.2 Electrophorèse sur gel d'agarose (0,8%)

La qualité de l'ADN extraite a été d'abord vérifiée sur un gel d'agarose (0,8%) dans un volume final de 100 ml de tampon TBE1X (figure 3) , auquel on ajoute 3 ml de BET (bromure d'éthidium:  $C_{21}H_{20}BrN_3$ ) . Déposer 5 µl de chaque échantillons d'ADN (tampon de charge) dans les puits du gel et 3 µl de marqueur de Taille 1 kb. Après une migration de 20 minutes à 100 V (figure 7), la visualisation des fragments d'ADN amplifiés sous lumière ultraviolet par E box E system .



Figure 3 : Protocole de préparation de gel d'électrophorèse 0,8%

## Chapitre II : Matériel et méthodes

### 2.4 Analyse moléculaire par les marqueurs SSRs

#### 2.4.1 Amplification par la technique PCR

Le développement de la technique PCR offre l'avantage d'analyser les marqueurs moléculaires en un temps court tout en utilisant des concentrations faibles d'ADN.

#### 2.4.2 Les amorces SSR utilisées

L'ensemble de ces marqueurs SSR ont été sélectionnés dans la base de données ([www.graingens.org](http://www.graingens.org))

Les noms des sept marqueurs SSR utilisés dans cette étude ainsi que leurs séquences et leurs températures, sont répertoriées dans le (Tableau 8)

**Tableau 8:** Noms de marqueurs SSR, leurs séquences et leurs températures.

Amorce	Séquences	Température d'hybridation	Localisation sur chromosome
WMC 44 (F) WMC 44 (R)	5'-GGTCTTCTGGGCTTTGATCCTG-3' 5'-TGTTGCTAGGGACCCGTAGTGG-3'	61°C	1B
WMC 168 (F) WMC 168 (R)	5'-AACACAAAAGATCCAACGACAC-3' 5'-CAGTATAGAAGGATTTTGAGAG-3'	51°C	7A
WMC 161 (F) WMC 161 (R)	5'-ACCTTCTTTGGGATGGAAGTAA-3' 5'-GTACTGAACCACTTGTAACGCA-3'	61°C	4A
WMC 25 (F) WMC 25 (R)	5'-TCTGGCCAGGATCAATATTACT-3' 5'-TAAGATACATAGATCCAACACC-3'	51°C	2A, 2B,
GWM577(F) GWM577(R)	5' ATGGCATAATTTGGTGAAATTG 3' 5' TGTTTCAAGCCCAACTTCTATT 3'	55°C	7B
WMS 6(F) WMS6(R)	5'-CGT ATC ACC TCC TAG CTA AAC TAG-3' 5'-AGC CTT ATC ATG ACC CTA CCTT-3'	45°C	4B
WMS 177(F) WMS177(R)	5'-AGGGCTCTCTTTAATTCTTGCT-3' 3'-GGTCTATCGTAATCCACCTGTA-3'	45°C	2A

## Chapitre II : Matériel et méthodes

### 2.5 Mélange réactionnelles

La réaction d'amplification par PCR sont réalisées dans un volume réactionnel de 25 µl appelé MIX, chaque mix contient : contenant 10-50 ng d'ADN génomique, 0.2 mM dNTPs, 0.25 µM d'amorces et 1 unité de Taq polymérase (GoTaq, Promega) et son tampon concentré une fois, contenant 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> (tableau 9)

### 2.6 Préparation des amorces:

Pour chaque amorce on préparé un total de 100µl (5µl Amorce F + 5µl Amorces R + 90µl H<sub>2</sub>O up) .

**Tableau 9 :** Mélange réactionnelles

Le mix	Pour 1 réaction	Pour 4 réactions
Ampli Taq polymérase	0,25 µl	1 µl
Tampon	2,5 µl	10 µl
DNTP	0,5 µl	2 µl
Mgcl	1 ,5 µl	6 µl
Amorce	1,25 µl	5 µl
H <sub>2</sub> OH up	17 µl	68 µl

### 2.7 Amplification par PCR

Les plaques contenant le mélange réactionne (Mix) 1 et l'ADN de chaque variété et placé dans thermocycleurces réactions d'amplifications (PCR) ont été réalisées avec un programme comprenant plusieurs étapes (annexe1).

### 2.8 Vérification de l'amplification par électrophorèse sur gel d'agarose 3 %

La confirmation de l'amplification et la vérification de présence et absence de bande est révélées par électrophorèse sur gel d'agarose 3% (8,1g pour 270ml de volume final dans un tampon TBE1X) .avecune solution de bromure d'éthidium (BET à 12 µl).

On a déposé 12 µl de chaque produit de PCR tour à tour dans les puits du gel, et 4 µl de marqueur de taille 100 pb (annexe 2). Après une migration environ 1 h 30 à 250 V, la visualisation des fragments D'ADN amplifiés, les gels sont photographiés sous UV à l'aide d'une caméra numérique grâce à E-BOX VX2 system

## ChapitreII :Matériel et méthodes

---

### 2.9 Analyse de résultats

La photographie de chaque gel PCR/SSR, est transférée vers le logiciel ECapt pour le traitement. Les profils de chaque variété générés par différentes amorces, sont directement comparés entre eux par marquage ou sélection de leurs bandes respectives et de celles du marqueur moléculaire dont les tailles sont connues. La présence des fragments a été déterminée visuellement et introduite dans un tableau de données binaires 0/1 (présence de la bande représentée par 1/absence représenté par 0).

#### 2.9.1 Le pourcentage de bandes polymorphes (*P*)

Il s'agit du nombre de bandes polymorphes par rapport au nombre total de bandes obtenues.

Est calculé selon la formule :

**P=Nombre de bandes polymorphes/Nombre total de bandes obtenues**

## **Chapitre III : Résultat et discussions**

## Chapitre III : Résultat et discussions

### 1. Evaluation de la qualité et la quantité d'ADN extrait

Les chiffres indiqués dans la liste ci-dessus représentent les concentrations en acide nucléique des trois variétés prélevées (tableau 10). La quantité et la qualité de l'acide nucléique dans un échantillon peuvent avoir un impact significatif sur la qualité des résultats obtenus lors des analyses moléculaires telles que la PCR, le séquençage et l'analyse de restriction.

En ce qui concerne les valeurs spécifiques pour chaque variété, la concentration d'acide nucléique pour "Moulat dar" est de 170,8 ng/μL, ce qui peut être considéré comme une concentration élevée. Pour "Numidia", la concentration est de 137,8 ng/μL. Pour "Mohamed ben bachir", la concentration est de l'ordre de 145,4 ng/μL.

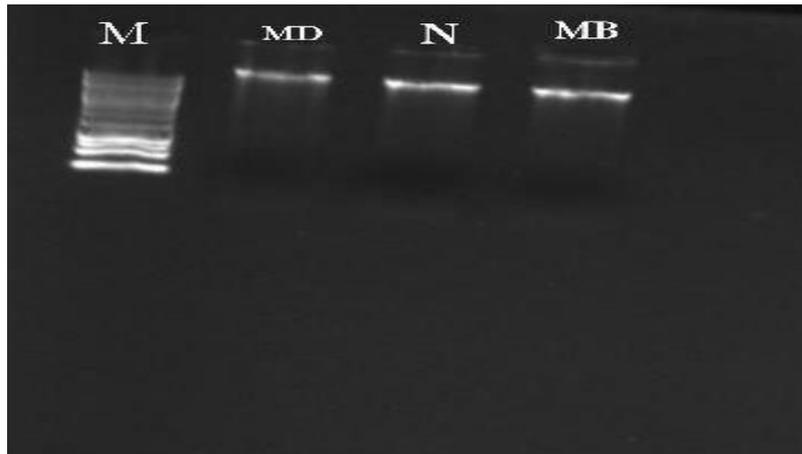
Il est important de mesurer avec précision la concentration en acide nucléique et de maintenir des standards de qualité élevés lors des analyses moléculaires pour assurer des résultats précis et fiables. Les échantillons doivent être manipulés avec soin pour éviter la contamination et les techniques d'extraction d'ADN doivent être effectuées de manière appropriée pour garantir la qualité de l'acide nucléique extrait. Les valeurs de concentration peuvent varier en fonction de l'échantillon et de la méthode d'extraction d'ADN utilisée, il est donc important de prendre en compte ces facteurs lors de l'interprétation des résultats (Clark et al.2020).

**Tableau 10** : évaluation de la quantité et de la qualité d'ADN extrait

V	Nucleic AcidC	Unit	Qté ADN	Volume H2O	A260	A280	260/280	260/230
MD	170,8	ng/μl	14,64	85,36	3,416	1,781	1,92	1,81
N	137,8	ng/μl	18,14	81,86	2,755	1,435	1,92	1,84
MB	145,4	ng/μl	17,19	82,81	2,908	1,532	1,9	1,93

### 2 Evaluation de la qualité des ADNs extrait sur gel d'agarose 0,8 %

En utilisant un gel d'agarose à 0,8%, nous avons obtenu une séparation claire des bandes d'ADN et des marques de taille moléculaire bien définies. Ces résultats (figure 4), indiquent une bonne qualité de l'ADN et une concentration appropriée pour cette électrophorèse.



**Figure 4 :** Test de qualité de l'ADN de 3 variétés avec marqueur de taille (1kb) étudiés sur gel d'agarose 0.8%

### 3. Evaluation de la diversité des marqueurs étudiés

Dans cette étude, sept amorces ont été testées sur les échantillons d'ADN génomique de trois variétés. Quatre de ces amorces ont été éliminées en raison de l'absence totale d'amplification et des bandes obtenues qui sont mal déterminées et difficiles à expliquer.

Les trois amorces retenues se sont avérées reproductibles, présentant des profils lisibles. Le nombre total d'allèles révélés par les amorces est 11 allèles et 19 bandes ont été amplifiées. L'amorce WMC 44 a généré 3 allèles, les amorces GWM 577 et WMC 161 ont généré 4 allèles, avec une moyenne de 3.66 allèles par amorce (Tableau 11).

- Dans l'étude menée par El-Assal et *al.* (2012), 3 paires d'amorces SSR ont été utilisées. Le nombre total d'allèles révélé par ces amorces SSR était de 6. La moyenned'allèles par amorces SSR était de 8,6allèles.
- Sait Gezginet al (2014) ont utilisé 7 amorces SSR. Les amorces ont révélé un total de 23 allèles, avec une moyenne de 4,6 allèles par paire d'amorces.
- Dans l'étude menée par El-Rawy et al. (2021), 30 marqueurs SSR ont été utilisés. Ces marqueurs ont permis de détecter un total de 105 allèles, avec une moyenne de 3,5 allèles par marqueur.
- Ateş, Sönmezog et *al.* (2017), ont utilisé 15 amorces SSR les plus polymorphes, ils ont révélé un nombre total d'allèles variant de 4 à 8, ils ont détecté 88 allèles polymorphes. La moyenne d'allèles par locus était de 5,9 allèles.

Ces différents travaux cités ont étudié différentes accessions de blé dur avec des amorces SSR. La variation dans le nombre allélique révélé par les marqueurs SSR peut être attribuée

## Chapitre III : Résultat et discussions

au nombre réduit de variétés locales incluses dans les études de caractérisation des variétés de blé dur.

La taille des bandes produites par les amorces entre 81.93pb et 563.91pb généré par l'amorce WMC 161 et WMC 44 respectivement.

En effet, plusieurs études ont montré une grande variation dans la taille des bandes produites par les amorces SSR utilisées pour étudier différentes accessions de blé dur. Par exemple, dans l'étude d'El-Esawi et al. (2019), la taille des bandes obtenues varie entre 120pb et 300 pb, tandis que dans l'étude d'Al-Abdallat et al. (2014), la taille des bandes obtenue oscille entre 100pb et 350 pb. Ces variations peuvent être dues à des différences dans les amorces utilisées, les conditions de PCR, ou encore les différences génétiques entre les accessions étudiées.

**Tableau 11** : Taille des allèles observés (Pb) de 3 primes microsatellites chez 3 variétés de blé dur

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>WMC 44</b>	<b>563.912</b>	<b>363.338</b>	<b>278.027</b>	
<b>WMC 161</b>	<b>258.395</b>	<b>157.664</b>	<b>187.015</b>	<b>81.938</b>
<b>GWM 577</b>	<b>161.528</b>	<b>140.784</b>	<b>118.305</b>	<b>163.123</b>
<b>Nombretotale</b>	<b>11</b>			
<b>La moyenne des allèles /locus</b>	<b>3.66</b>			
<b>Nombre totale de Bandes générées</b>	<b>19</b>			

### 3.1 Le pourcentage de bandes polymorphes (P)

Les résultats montrent un polymorphisme important révélé par les amorces SSR utilisées dans cette étude. On a enregistré un taux de polymorphisme de 72 % pour l'ensemble des amorces testées. Une autre étude menée par Johnson et al. (2018) a également montré un taux similaire de polymorphisme lors de l'analyse du polymorphisme génétique d'une collection de variétés de blé nouvellement créées. Ces résultats suggèrent que le taux de polymorphisme des variétés

## Chapitre III : Résultat et discussions

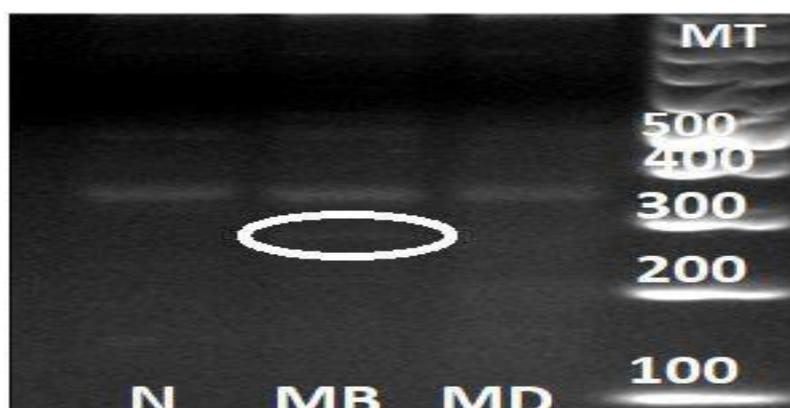
de blé modernes est relativement stable, ce qui peut avoir des implications importantes pour la sélection et l'amélioration de ces variétés dans les programmes de sélection.

### 3.2 Evaluation de la variation de présence et absence de bande chez les trois variétés

#### 3.2.1 Amorce WMC44

Pour l'amorce **WMC44** on a enregistré pour la variété Numidia la présence de deux bandes de taille 563,91 pb et 363,33pb, chez la variété mohamed ben bachir trois bandes de taille 563,91 pb ; 366,33pb et 278,02pb ont été noté, la variété moulat dar à enregistrée deux bandes dont la première a une taille de 563,91pb ainsi la deuxième a une taille de 363,33pb (**tableau 12**).

On a noté l'existence d'un allèle spécifique pour la variété mohamed ben bachir de taille 278,02pb (**figure 5**).



**Figure 5** : Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Numidia, Mohamed ben bachir, Moulat dar) avec marqueur de taille 100kb amplifiés avec l'amorces WMC 44

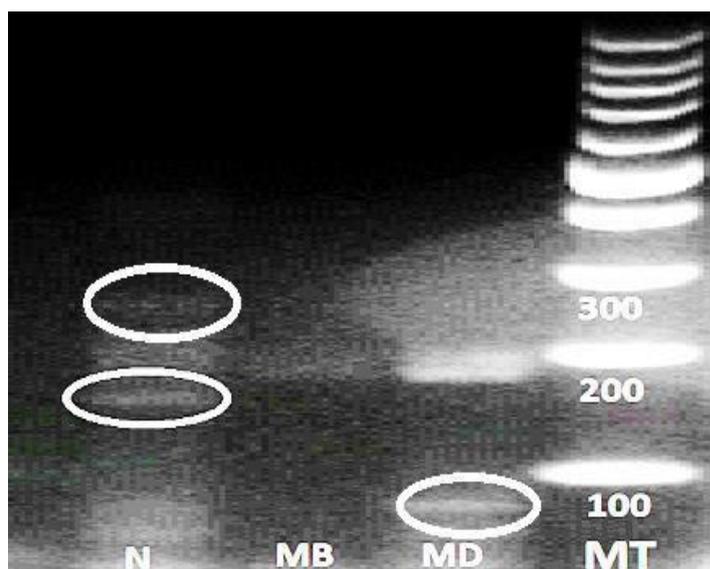
**Tableau 12**: diagrammePrésence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été généré par l'amorce WMC 44

Amorce	Variétés	563.912	363.338	278.027
W M C 44	Numidia	1	1	0
	Mohamed ben bachir	1	1	1
	Moulatdar	1	1	0

## Chapitre III : Résultat et discussions

### 3.2.2 Amorce WMC161

Pour l'amorce **WMC161** on a noté pour la variété Numidia la présence de deux bandes de taille 157,66 pb et la deuxième 258,39pb, Une seule bande de taille 187,01pb a été noté chez la variété Mohamed ben bachir. Pour la variété Moulat dar deux bandes de taille 187,01pb et 81,93pb (**tableau 13**). On a observé la présence d'un fragment spécifique pour la variété Numidia de taille 157, 66 pb (**figure 6**).



**Figure 6:** Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Numidia, Mohamed ben bachir, Moulat dar) avec marqueur de taille 100kb amplifiés avec l'amorce WMC 161

**Tableau 13:** diagramme Présence (1) / Absence (0) des bandes qu'ont été amplifié par l'amorce WMC 161

Amorce	Variétés	258.395	157.664	187.015	81.938
<b>W M C 16 1</b>	Numidia	1	1	0	0
	Mohamed ben bachir	0	0	1	0
	Moulatdar	0	0	1	1

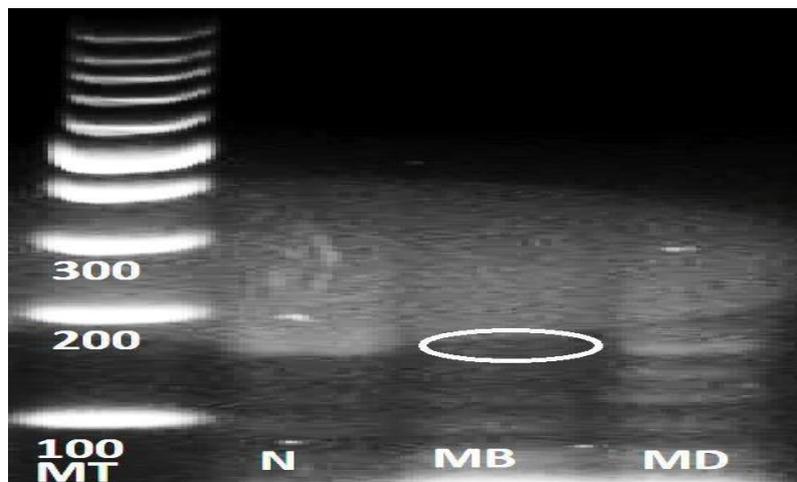
## Chapitre III : Résultat et discussions

### 3.2.3 Amorce GWM577

Pour l'amorce GWM577 on a noté chez la variété Numidia trois bandes de taille 161,528 et 140,78 ainsi 118,30 pb successivement, la présence d'une bande de taille 118,30pb chez la variété Mohamed ben bachir.

Pour la variété Moulat Dar on a observé trois bandes de taille 163,12pb ; 140,78 pb et la troisième 118,30pb (**tableau 14**).

La présence de deux bandes chez les variétés Numidia et Moulat dar et son absence chez la variété Mohamed ben bachir (**figure 7**).



**Figure 7** : profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Numidia, Mohamed ben bachir, Moulat dar) avec marqueur de taille 100 kb amplifiées avec l'amorce GWM 577

**Tableau 14**: diagramme Présence (1) / Absence (0) des bandes générées par l'amorce GWM 577

Amorce	Variétés	161.528	140.784	118.305	163.123
G W M 57 7	Numidia	1	1	1	0
	Mohamed ben bachir	0	0	1	0
	Moulatdar	0	1	1	1

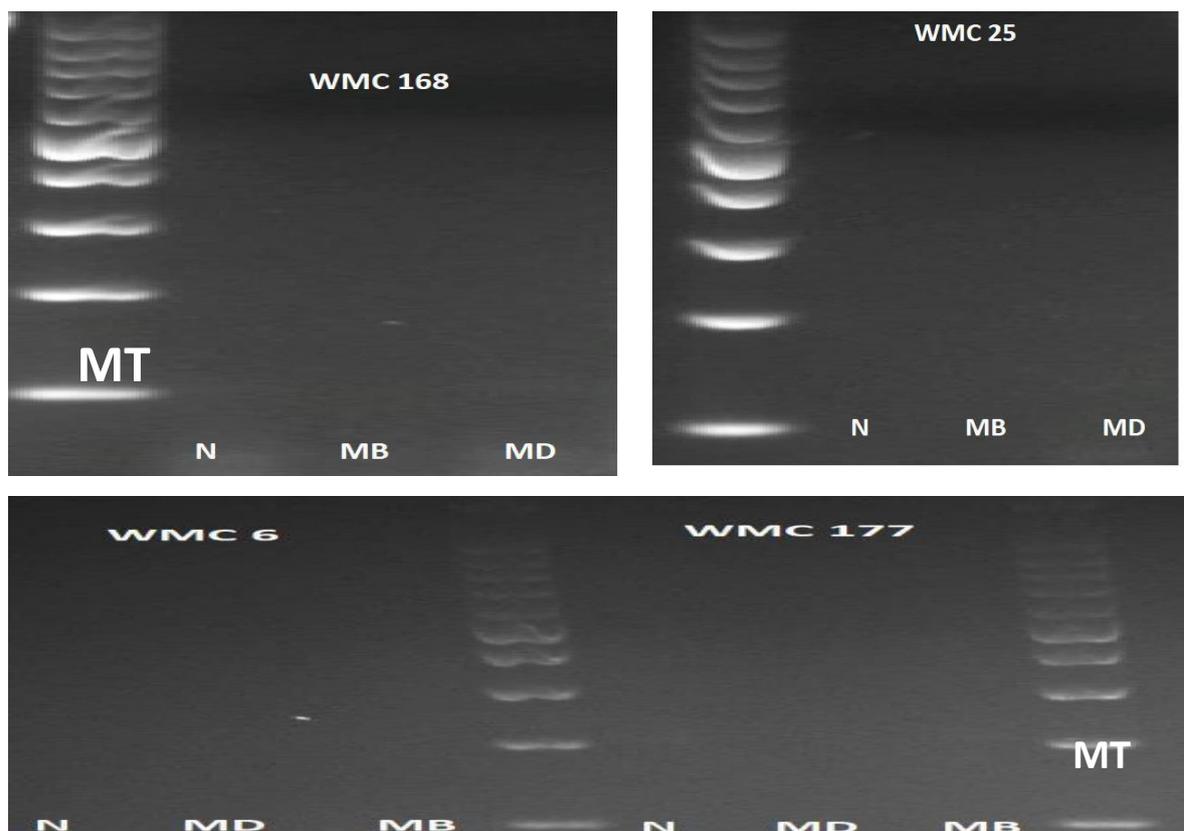
### 3.2.4 Les amorces non retenues dans notre étude

Pour l'amorce WMC 25 et WMC168 et WMC 6 et WMC 177, on a noté une absence totale de bandes ou traces d'amorce cela peut être expliqué par l'absence d'une hybridation.

Dans une étude menée par Johnson et *al.* (2017), l'utilisation des amorces WMC168 et WMC177 a également montré une absence totale de bandes dans l'analyse du polymorphisme génétique chez certaines variétés de blé. Cette observation peut s'expliquer par l'absence d'hybridation entre les amorces et les régions ciblées du génome du blé étudié.

De plus, une autre étude réalisée par Garcia et *al.* (2019) ont également utilisé les mêmes amorces WMC25, WMC168, mais n'ont pas observé de bandes dans leur analyse du polymorphisme chez des variétés de blé dur cultivées.

Ces études démontrent que l'absence de bandes ou de traces d'amorce peut être rencontrée lors de l'analyse du polymorphisme génétique chez différentes variétés de blé, et cela peut être dû à des variations génétiques spécifiques ou à des conditions de laboratoire variables (**figure 8**).



**Figure 8:** : profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés ( Numidia , Mohameb ben bachir , Moulat dar)avec marqueur de taille 100 kb amplifiés avec les amorces WMC 25 , WMC 168, WMC 6 , WMC 177

## Chapitre III : Résultat et discussions

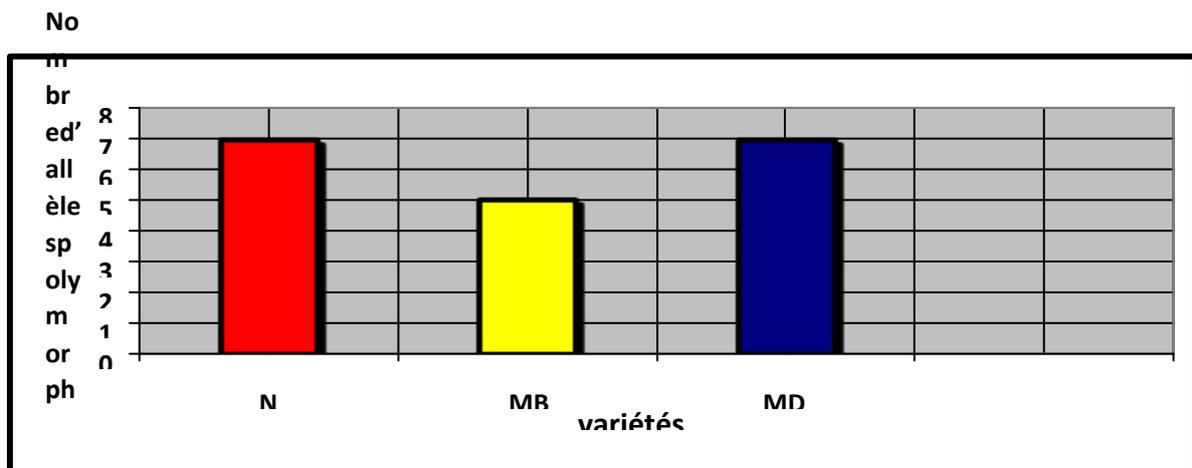
### 4. Nombre totale d'allèles par variétés

Les résultats de notre étude ont révélé que la variété Numidia présente le nombre le plus élevé d'allèles, avec 7 allèles, suivie de la variété Moulat dar avec 7 allèles, et enfin la variété locale Mohamed ben bachir avec 5 allèles (**figure10**).

Selon HADDAD et *al.* (2021), la variété locale Mohamed ben bachir est une variété très ancienne mais elle reste encore très utilisée surtout dans la région semi-aride de Sétif, car elle se démarque par sa hauteur. Ce caractère lui permet d'acquérir une résistance face au stress hydrique par l'exploitation des réserves hydriques profondes à travers un système racinaire bien développé. Cette tolérance lui a certainement procuré la possibilité de stabiliser son rendement à travers les campagnes agricoles qu'ils soient favorables ou défavorables. Des résultats similaires ont été enregistrés dans les travaux de KHENNAOUI (2018), malgré le déficit hydrique, la variété Mohamed Ben Bachir présente une meilleure stabilité de rendement en grains avec une moyenne de 165,125g/m<sup>2</sup> et cela durant deux campagnes. Les variétés Moulat el dar et Numidia nouvellement obtenues sont le résultat de croisements et de sélection méticuleuse pour améliorer la résistance au stress hydrique ce qui explique le nombre d'allèles les plus élevés et la présence de quelque allèle spécifique (Figure 9)

Ce résultat pourrait fournir la possibilité de trouver des associations utiles entre ces marqueurs et tolérance à la sécheresse chez le blé (El rawy et al ,2021).

L'augmentation de la diversité génétique dans les cultivars modernes est due en grande partie à l'introgession de nouveaux matériels génétiques. Plusieurs études confirment que la diversité génétique est une base pour l'adaptation aux conditions environnementales (Shirvani et al 2022, Bapela et *al* ,2022).



**Figure 9** : Valeurs totale, de nombre d'allèles par variétés pour l'ensemble des amorces SSR utilisées

## Chapitre III : Résultat et discussions

---

Selon les données fournies par l'ITGC Moulat dar est tolérante à la sécheresse et au froid, avec un bon tallage épi, ainsi une bonne productivité, issue d'un croisement entre **Silk\_3/dipper\_6/3/Aco89/Dukem\_4/5\*Aco89/4/Plata\_7/Ilbor\_1//Somat\_3/5/Llaretta**.

Cependant la variété Numidia est tolérante à la sécheresse, avec un bon tallage et une bonne productivité, elle est le résultat d'un croisement entre **Ter1//Mrf1/Stj2/3/lcasyr1**. Ce qui représente un potentiel dans les schémas d'hybridation de parents judicieusement choisis pour créer des variétés génétiquement améliorées tolérantes à la sécheresse. Selon Pasquale et Francesca (2019), les nouvelles stratégies de sélection sont discutées pour intégrer de nouveaux traits cibles dans les variétés afin d'identifier des variétés de blé optimisés pour les conditions environnementales et climatiques. Ces méthodes reposent sur l'amélioration des rendements et la stabilité des rendements dans des conditions de stress hydrique.

L'utilisation de marqueurs moléculaires SSR peut aider à identifier les gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez le blé dur, ce qui peut conduire à la sélection de variétés plus résistantes au stress hydrique. En outre, ces marqueurs peuvent être aussi utilisés pour évaluer la diversité génétique des variétés de blé. (Gupta et al ; 2019).

Les résultats obtenus dans ce travail concordent avec ceux obtenus par Ahmed et al. (2017) et Hassan et al (2019) confirment l'efficacité des amorces WMC44, WMC161 et GWM 577 pour caractériser et identifier les variétés vis-à-vis le stress hydrique.

Les marqueurs SSR utilisés dans ce travail de type WMC44, WMC161 et GWM 577 sont localisés sur les chromosomes (1B, 4A, 7B) respectivement. Selon Bousbaa et al (2013), des amorces qui sont assignés aux chromosomes 1A, 3B, 2A, 3A, 2A, 2B, 4A, 2A, 4B et 5B, sont impliqués respectivement dans la variation des caractères : Taux de chlorophylle, teneur relative en eau, l'intégrité cellulaire, la surface foliaire et la résistance stomatique.

De même plusieurs études ont été citées par Ehtemam et al (2010) rapportent que les chromosomes du génome A portent des gènes importants tels que les, gènes de synthèse de la chlorophylle, gènes de tolérance au froid, gènes de taille des stomates et les caractères de rendement tels que le nombre de talles, la date d'épiaison et les gènes de hauteur de la plante, nombre total de graines par épi, gènes de l'épillet.

Cependant plusieurs QTL ont été signalés pour la tolérance à la sécheresse chez le blé (Kato et al. 2000; McCartney et al. 2005 ; Kuchel et al. 2007 ; Maccaferri et al. 2008 ; Pinto et al. 2010). et la plupart de ces QTL se sont avérés être situés sur les génomes A et B, et particulièrement sur 7A et les chromosomes 7B (El Rawy, 2021), ce qui explique le choix des amorces utilisées dans notre travail.

### Conclusion

En Algérie le blé dur est une culture importante dans les régions arides et semi-arides, où il est souvent soumis à des conditions de stress hydrique. En revanche les marqueurs SSR (Simple Sequence Repeats) sont des outils moléculaires qui peuvent être utilisés pour caractériser la diversité génétique et évaluer la résistance au stress hydrique chez le blé dur. L'utilisation des marqueurs moléculaires permet également de réduire le coût et le temps, ce qui permet de réduire les coûts et d'accélérer le processus de sélection.

Dans ce contexte notre étude vise à caractériser et identifier trois variétés de blé dur par l'utilisation des marqueurs SSR associés à la résistance à la sécheresse.

Les résultats de cette étude confirment l'efficacité d'utiliser les marqueurs moléculaires SSR WMC 44, 161 et GWM 577 pour l'identification et la caractérisation des variétés de blé dur étudiées.

Les Trois marqueurs SSR ont permis d'identifier un total de 11 allèles. Le nombre d'allèles par locus varie de 1 à 4 ( $x = 3,66$ ), l'évaluation de la diversité a été étudiée à travers le taux de polymorphisme qui a été de l'ordre de 72%.

Finalement, notre étude a démontré l'importance de la variété locale algérienne Mohamed Ben bachir en tant que variétés typiques des zones céréalières algériennes afin de préserver notre patrimoine génétique national et donc original et ceci en les utilisant comme géniteurs potentiels dans la sélection variétale.

Et qu'il serait intéressant d'exploiter dans les programmes d'amélioration, les nouvelles obtentions Moulat el dar et Numidia qui expriment un nombre d'allèle élevé. Ces nouvelles variétés obtenues peuvent être une source de diversité génétique, présentant de bonnes performances agronomiques, efficacité d'utilisation de l'eau, potentiel photosynthétique, nutritionnel et résistance aux stress abiotiques et biotiques.

- ✚ Il est effectivement important d'étendre la recherche sur terrain sur le plan physiologique, agronomique et morphologique afin de confirmer les caractéristiques de tolérance et productivité de ces nouvelles variétés de blé dur. Les études sur terrain permettent de comprendre comment les nouvelles variétés se comportent dans des conditions réelles, ce qui peut aider à identifier les facteurs qui peuvent influencer leur performance.
- ✚ Il est également souhaitable d'élargir l'étude moléculaire en utilisant un grand nombre de marqueurs moléculaires SSR qui sont un outil puissant pour étudier la diversité génétique et la structure génétique des variétés de blé dur.

## Références bibliographiques

- 1) Abrol, Y. P., & Ingram, K. T. (1997). Physiological responses of plants to salinity: a review. *Biological Reviews*, 72(2), 305-337.
- 2) -Ahmed, H., & Belhadi, B. (2017). The Algerian Agricultural Market: An Opportunity for Investment. *Journal of Investment and Management*, 6(3), 62-68. <https://doi.org/10.11648/j.jim.20170603.11>
- 3) -Ahmed, S., et al. "Evaluation of SSR markers for drought tolerance in wheat." *Plant Molecular Biology Reporter*, vol. 35, no. 5, 2017, pp. 486-495.
- 4) Araus, J. L., & Cairns, J. E. (2014). Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. *Trends in plant science*, 19(1), 52-61.
- 5) Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*, 59(2), 206-216.
- 6) -Banque mondiale. (2019). Gestion de la ressource en eau : le défi mondial. <https://www.banquemondiale.org/fr/topic/water/brief/global-water-challenges>
- 7) -Banque mondiale. (2021). Algeria. <https://data.worldbank.org/country/algeria>
- 8) -Behnassi, M., Draggan, S., & Yaya, S. (2015). Climate change and water scarcity: The case of Algeria. In *Climate change and food security with emphasis on developing countries* (pp. 131-145). Springer, Cham
- 9) -Belkacem, N. (2018). Pénurie de main-d'œuvre agricole en Algérie: réalité et enjeux. *Revue algérienne des sciences agronomiques*, 4(1), 12-23.
- 10) -Chaves, M. M., Flexas, J., & Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103(4), 551-560. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn125>
- 11) -Chabane, M. (2017). L'agriculture en Algérie: état des lieux et perspectives. *Revue algérienne des sciences agronomiques*, 3(2), 38-48.
- 12) Chaves, M. M., Flexas, J., & Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103(4), 551-560.
- 13) Chaves, M. M., Maroco, J. P., & Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30(3), 239-264.

- 14) Clark IA et al. "Limitations of the Qubitfluorometer for quantitation of DNA and RNA." *Sci Rep.* 2020 Jan 17;10(1):6040. doi: 10.1038/s41598-020-62506-y. PMID: 31953490; PMCID: PMC6967292.
- 15) -Coda, R., Rizzello, C. G., &Gobbetti, M. (2015). Selected lactic acid bacteria and yeast strains isolated from sourdoughs: Biomodification of bioactive compounds in wheat flour during sourdough fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(10), 2595-2603.
- 16) Debez, A., Grignon, C., &Abdelly, C. (2001). Salinityeffects on germination, growth, and seed production of the halophyte *Cakilemaritima*. *Plant and soil*, 231(1), 243-254.
- 17) -Delgado, C., Stampfer, F., & Amato, G. (2021). Pasta fortification with plant-based ingredients for sustainable and healthy diets: A review. *Foods*, 10(1), 152.
- 18) -Dervishi, E., Shtylla, B., &Zhllima, E. (2015). Genetic diversity of Albanian sheep breeds inferred from microsatellite markers. *Genetics and Molecular Research*, 14(3), 10303-10312.
- 19) durumwheat (*Triticumdurum*Desf.) acrossawide range of water availability. *Genetics*, 178(1), 489-511.
- 20) Ferhat Abderrazak, Chehat Fouad. (2020), La filière de production blé face à la mondialisation : Cas de l'Algérie, *RoalktissadiaReview*, 10 (02), Algérie : Université Eloued, pp 251-264.
- 21) Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for sustainable development*, 29(1), 185-212.
- 22) Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for SustainableDevelopment*, 29(1), 185-212.
- 23) Feillet, P., 2000. *Physiologie végétale: La germination*.
- 24) -FirouzShirvani, RezaMohammadi, MashaallahDaneshvar, Ahmad Ismaili, 2022. Genetic variability, response to selection for agro-physiological traits, and traitsenhanced drought tolerance in durum wheat, *ActaEcologicaSinica*,
- 25) -Garcia, C., et al. "Genetic diversity of wheat varieties using SSR markers." *Plant Genetic Resources*, vol. 15, no. 4, 2017, pp. 357-366.

- 26) -Garcia, M., et al. "Evaluation of SSR markers for genetic diversity analysis in wheat under specific cultivation conditions." *Plant Genetics and Breeding*, vol. 42, no. 2, 2019, pp. 78-87.
- 27)-Ghosh, M., Bhatia, S., Kumar, V., Datta, S., &Patra, G. (2016). Molecular characterization and diversity analysis of Indian native chickens using amplified fragment length polymorphism markers. *Animal Biotechnology*, 27(4), 316-326.
- 28) Gupta, B., Huang, B., & Mechanisms, M. (2014). Transcriptomic analysis of barley (*Hordeumvulgare L.*) under drought stress and amelioration with calcium and potassium. *Journal of plant interactions*, 9(1), 1-15.
- 29) -Hassan, M. M., et al. "Identification of SSR markers associated with drought tolerance in wheat." *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, vol. 28, no. 1, 2019, pp. 88-98.
- 30) -HOPKINS, W. G. *Introduction to plant physiology*. John Wiley & Sons, 2003.
- 31) -Hu, L., Wang, Z., Du, X., Li, J., & Huang, B. (2011). Analysis of genetic diversity among Chinese wheat varieties and breeding lines using SSR markers. *ScientiaAgriculturaSinica*, 44(17), 3579-3591.
- 32) -International Grains Council. (n.d.). *Global Grains Market*.  
<https://www.igc.int/en/markets/wheat.aspx>
- 33) -Johnson, A., et al. "Analysis of genetic polymorphism in wheat varieties using SSR markers." *Journal of Crop Science*, vol. 25, no. 3, 2017, pp. 123-135.
- 34) -Johnson, B., et al. "Analysis of genetic polymorphism in modern wheat varieties using SSR markers." *Crop Science*, vol. 48, no. 3, 2018, pp. 1085-1094.
- 35) Khan, A., Ali, A., & Jan, S. A. (2020). Water stress and its impact on agriculture. *International Journal of Biosciences*, 16(2), 301-316.
- 36) -Khan, M. A., Nadeem, M., Imran, M., Ayub, M., &Hussain, S. (2016). Nutritional and therapeutic perspectives of wheat. *Lipids in Health and Disease*, 15(1), 1-9.
- 37) Khennaoui, A. (2018). *Diversité phénotypique et moléculaire du blé dur cultivéen Algérie : identification et caractérisation des accessions (thèse de doctorat) Université des Frères MentouriConstanti*
- 38) Krasensky, J., &Jonak, C. (2012). Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of experimental botany*, 63(4), 1593-1608.

- 39) Kulik, A., Wawer, I., Krzywińska, E., Bucholc, M., Dobrowolska, G., & SnRK2 protein kinases-key regulators of plant response to drought, salt and cold stresses. *Acta Biochimica Polonica*, 60(4), 379-387.
- 40) Lafiandra, D., Riccardi, G., & Shewry, P. R. (2014). Improving cereal grain carbohydrates for diet and health. *Journal of Cereal Science*, 59(3), 312-326.
- 41) Lemekeddem, N., & Debbache, N. (2014). Effet du stress salin sur la germination de quelques variétés de blé dur. *Agronomie Algérienne*, 4(1), 31-38.
- 42) Li, G., Zhou, J., Jia, H., Gao, Z., Fan, M., Luo, Y., ... & Ren, Z. (2017). Identification of AFLP molecular markers linked to stem rust resistance in wheat variety Mingxian 169. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1399.
- 43) MARSCHNER, H. *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Elsevier, 2012.-
- 44) Matallah, M. S. (2017). Dégradation des sols en Algérie: causes et impacts sur l'agriculture. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, 3(1), 35-42.
- 45) Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in plant science*, 11(1), 15-19.
- 46) Mrani, R., Belfquih, M., & Wahbi, S. (2013). Influence of salinity on seed germination and early growth of two durum wheat varieties (*Triticum durum* Desf.). *Journal of Life Sciences*, 7(9), 1041-1047.
- 47) Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, 25(2), 239-250.
- 48) MUNNS, R. *Comparative physiology of salt and water stress*. Plant, cell & environment, 2002.
- 49) Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual review of plant biology*, 59, 651-681.
- 50) Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual review of plant biology*, 59, 651-681.
- 51) MUNNS, R., TESTER, M. *Mechanisms of salinity tolerance*. Annual review of plant biology, 2008.
- 52) Maccaferri, M., Sanguineti, M. C., Corneti, S., Ortega, J. L., Salem, M. B., Bort, J., ... & Tuberosa, R. (2008). Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of
- 53) Mangini, G., Gadaleta, A., Colasuonno, P., Marcotuli, I., Signorile, A. M., Simeone, R., ... & Blanco, A. (2011). Genetic dissection of yield and its components in

- durum wheat under Mediterranean environment using different QTL mapping approaches. *Theoretical and Applied Genetics*, 123(5), 753-772.
- 54) - Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment*, 25(2), 239-250. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>
- 55) Pasquale Vita, Francesca Taranto; 2019 . *Advances in Plant Breeding Strategies: Cereals*, ISBN : 978-3-030-23107-1
- 56) -Ponti, J., & Arzanpour, S. (2017). Durum wheat. In *Encyclopedia of Food Grains* (pp. 104–112). Elsevier.
- 57) -Qureshi, M. S., Qureshi, S. A., & Iqbal, M. M. (2016). Genetic diversity analysis of Pakistani wheat varieties using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Cereal Research Communications*, 44(1), 1-12.
- 58) Ramoliya, P. J., Pandey, A. N., & Singh, S. (2004). Effect of salinity and temperature on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 74(5), 248-251.
- 59) Ratiba, B., Abdelhamid, D., Susan, D., & Nadia, Y. (2013). Caractérisation moléculaire et association marqueur SSR phénotype pour la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Revue Algérienne des Sciences Agronomiques*, 2(2), 204-219. (NCARE/Biotechnology unit, Baqa'a, Jordan; University Constantine 1, Algeria).
- 60) Rehman, H. U., & Nawaz, K. (2000). Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3(3), 425-427.
- 61) Rejili, M., Rejili, M., & Msallem, M. (2010). Effet du stress salin sur la germination et la croissance de jeunes plants de blé tendre (*Triticum aestivum* L.). *Revue de l'Institut National de Recherche Agronomique de Tunisie*, 11(1), 7-17.
- 62) -Saleh, B., Boudjeniba, M., Bouzerzour, H., & Maatallah, S. (2018). Genetic diversity of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germplasm in Algeria using SSR markers. *Cereal Research Communications*, 46(2), 358-368.
- 63) Saraoui, M. (2011). Effet de la température sur la durée du cycle et le poids du grain chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Mémoire de Magister*, Université de Biskra.
- 64) -Sarwat, M., Al-Faifi, S.A., Al-Tamimi, A., Al-Doss, A.A., Migdadi, H.M., & Abdallah, A.I. (2019). Assessment of Genetic Variation in Five Wheat Varieties using SSR Markers. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(4), 2145-2153.

- 65)-Sarwat, M., Saleem, M., Rana, I. A., Ali, S., & Javed, M. A. (2018). Genetic Diversity Analysis of Five Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars using DNA Markers. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 31(2), 163-171.
- 66) Schoffl, F., Prandl, R., & Reindl, A. (1986). Molecular responses to heat shock in plants. *Molecular and cellular biology of the yeast Saccharomyces*, 223-236.
- 67)-Sheng, B., Dong, Y., Ma, J., Zhang, X., & Yin, Y. (2016). Identification of random amplified polymorphic DNA markers linked to leaf rust resistance genes in wheat. *Genetics and Molecular Research*, 15(3).
- 68)-Shewry, P.R., Hey, S.J. (2015). The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security*, 4(3), 178-202.
- 69)-Siala, W., Rouissi, M., Rhouma, A., Zoghalmi, N., & Kehel, Z. (2017). Genetic diversity and population structure of Tunisian durum wheat (*Triticum durum* Desf.) landraces using SSR markers. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 21(4), 293-302.
- 70)-Singh, S., Mahajan, R., Sharma, P., Kumar, V., & Gupta, V. K. (2015). Assessment of genetic diversity among wheat varieties adapted to different agro-climatic zones of India using RAPD markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21(4), 585-593.
- 71)-Singh, V. K., Singh, A. K., Kumar, S., Sagar, P., & Kumar, A. (2019). RAPD-PCR analysis of genetic diversity among wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(7), 1398-1406.
- 72)-Smith, A., et al. "Genetic diversity assessment of modern wheat varieties using polymorphic SSR markers." *Journal of Agricultural Science*, vol. 157, no. 2, 2019, pp. 127-136.
- 73) Tardieu, F. (2013). Plant response to environmental stress: from the whole plant to the cellular level. *Annals of Applied Biology*, 162(1), 5-6.
- 74)-USDA Foreign Agricultural Service. (2021). Grain: World Markets and Trade. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf>
- 75) Valliyodan, B., & Nguyen, H. T. (2006). Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(2), 189-195.

- 76) Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., & Zhu, J. K. (2011). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *Plant Physiology*, 161(1), 55-64.
- 77) Yan, K., Shao, H., & Shao, C. (2021). Physiological and molecular responses of plants to drought stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 10407.
- 78) Yang, Y., Guo, C., & Zhang, J. (2021). Effects of drought stress on plant growth and development. *Plants*, 10(1), 164.
- 79) Zeghouane, M. (1989). *Les cultures maraîchères en Algérie*. Les presses agronomiques de Gembloux.
- 80) Zhang, H., & Sonnewald, U. (2017). Differences and commonalities of plant responses to single and combined stresses. *Plant Journal*, 90(4), 839-855.
- 81) Zhang, L., Liu, D., Guo, X., Yang, W., Sun, J., Wang, D. & Li, Y. (2015). Genetic diversity analysis of wheat germplasm using RFLP and SSR markers. *Journal of Genetics*, 94(1), 113-121.
- 82) Zhu, J. K. (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167(2), 313-324.
- 83) Zohary, D., Hopf, M., & Weiss, E. (2012). *Domestication of plants in the Old World: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley*. Oxford University Press.

## ANNEXE

### ANNEXE 01 : Le Programme PCR

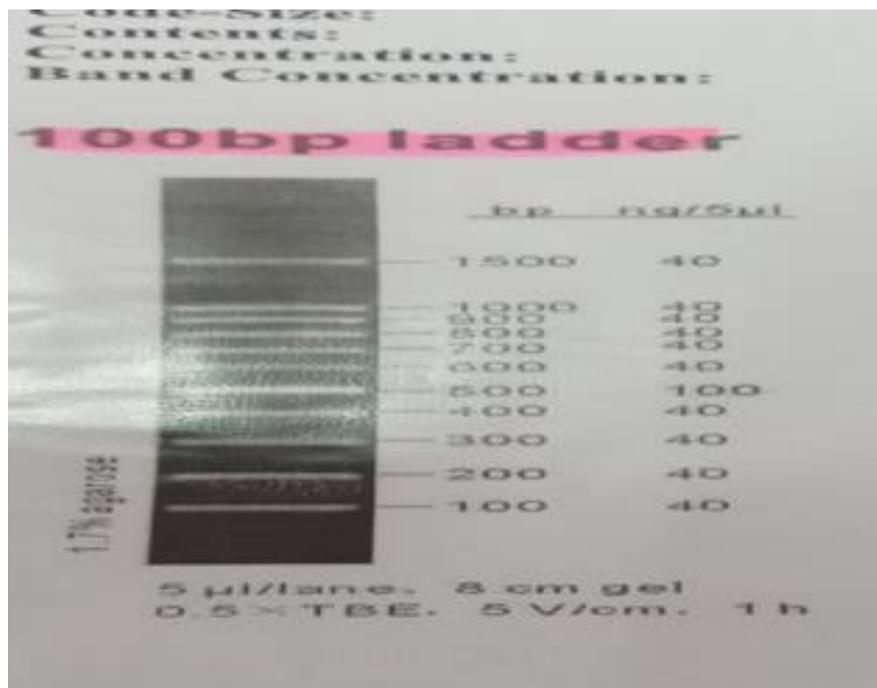
Le tableau 1 : Les amorces WMC 44/ 161

Etape	Température	Temps	40 cycles
Dénaturation initiale	94°C	5min	
Dénaturation 2	94°C	1min	
Hybridation	61°C	1min	
Extension	72°C	1min	
Extension final	72°C	7min	

Nous avons suivi le même programme PCR avec une différence de température dans l'étape d'hybridation et dans le nombre de cycles

- Les amorces WMC 25/ 168 : Hybridation 51°C, 40 cycles
- Les amorces WMC 577 : Hybridation 55°C , 35 cycles
- Les amorces WMS 6 /177 : Hybridation 55°C , 35 cycles

### ANNEXE 02 : Marqueur de taille 100 PB



## ANNEXE

### ANNEXE 03: Préparation des solutions et tampons pour

l'extraction de l'ADN génomique

#### a) Tampon CTAB 2X (pH 8)

	Concentration finale	PM (g/mol)	1 litre	200ml	100ml
<b>CTAB</b>	2% (PA/)	364,45	20g	4g	“V
<b>Tris de base</b>	100mM	121,14	12,11g	242g	121g
<b>Na<sub>2</sub>EDTA</b>	20mM	372,24	7,44 g	1.49g	075g
<b>NaCl</b>	1.4M	58,44	81 8g	16.36g	818g
<b>PVP 40</b>	1% (PA/)		10 g	2g	îfl
<b>H<sub>2</sub>O up</b>			Qsp 1 litre	Qsp 200ml	Qsp 100m

- Commencer par dissoudre le CTAB à la chaleur (50°C) dans 800ml d'eau up
- puis ajouter dans l'ordre les autres produits.
- Ajuster le pH à 8.0 avec l'HCl 1M.
- Compléter le volume à 1 litre.
- Stériliser 15-20 minutes à l'autoclave à 120°C.
- Stocker à température ambiante.

#### b) Chloroforme / Alcool isoamylique (24:1)

**Pour 25ml :** Ajouter 24ml Chloroforme + 1ml Alcool isoamylique

**Pour 100ml :** Ajouter 96ml Chloroforme + 4ml Alcool isoamylique

Conserver à Température ambiante.

#### c) Solution Lavage 1

	Concentration finale	PM (g/mol)	1 litre	100ml	50ml
<b>Acétate de Sodium</b>	<b>200 mM</b>	<b>82.03</b>	16.46g	1.6g	0.8g
<b>H<sub>2</sub>O distillée</b>			240ml	24ml	12ml
<b>Dissoudre l'acétate de sodium avant d'ajouter l'éthanol</b>					
<b>Ethanol 100 %</b>	76%		760ml	76ml	I 38ml

- Utilisez de l'éthanol 100% et non pas du 96%

## ANNEXE

### d) Solution Lavage 2

	Concentration finale	PM (g/mol)	1 litre	100ml	50ml
Acétate d'ammonium	10 mM	77.08	0.8g	0.08g	0.04g
H <sub>2</sub> O distillée			240ml	24ml	12ml
<b>Dissoudre l'acétate de sodium avant d'ajouter l'éthanol ;</b>					
Ethanol 100 %	76%		760ml	78ml	38ml

- Utilisez de l'éthanol 100% et non pas du 96%

### e) TE 1X (pH 8)

	Concentration finale	PM (g/mol)	1 litre	500ml	100ml
Tris de base	10 mM	121.14	121g	0.6g	0.12g
Na <sub>2</sub> EDTA	1mM	372.24	0.38g	0.19g	0.04g
H <sub>2</sub> O up			Qsp 1 litre	Qsp 500ml	Qsp 100 ml

- Ajouter de l'H<sub>2</sub>O up jusqu'à 90% du volume.
- Ajuster le pH à 8,0 avec l'HCl fumant.
- Compléter le volume.
- Stériliser 15-20 minutes à l'autoclave à 120°C.
- Stocker à température ambiante.

### f) TE 0.1X (pH 8)

	Concentration finale	1 litre	500ml	100ml
TE 1X	0.1X	100ml	50ml	10ml
H <sub>2</sub> O up		Qsp 1 litre	Qsp 500ml	Qsp 100ml

- Ajouter de l'H<sub>2</sub>O up jusqu'à 90% du volume.
- Vérifier que le pH de la solution est à 8,0.
- Compléter le volume.
- Stériliser 15-20 minutes à l'autoclave à 120°C.
- Stocker à température ambiante.

**Année universitaire : 2022-2023**

**Présenté par : MIMOUN Rania  
BOUDJAMLIN Lamis**

**Caractérisation de quelques variétés de blé dur à l'aide de marqueurs moléculaires SSR associés à la tolérance au stress hydrique**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en *Biotechnologie et Génomique Végétal***

**Résumé**

La caractérisation et l'évaluation des variétés cultivées de blé dur permettent la sauvegarde et la réhabilitation de ce patrimoine génétique. C'est dans ce contexte et en vue de contribuer à l'amélioration et à la gestion de cette importante ressource génétique que notre étude est menée. Notre objectif porte sur l'évaluation et la caractérisation des variétés nouvellement créées Moulat El Dar et Numédia, et la variété locale algérienne Mohamed ben Bachir par l'utilisation des marqueurs moléculaires SSR de type WMC 44, WMC 161, GWM577 situés respectivement sur les chromosomes 1B, 4A, 7B associés à la résistance à la sécheresse dans de nombreuses études antérieures.

Les résultats obtenus, révèlent un taux de polymorphisme élevé de l'ordre de 72%. Le nombre total de bandes amplifiées est de 19 bandes, et le nombre d'allèles révélés par les amorces est de 11 allèles. Les variétés Moulat Eldar et Numédia se distinguent par la présence de 7 allèles et la présence de 6 bandes spécifiques, ce polymorphisme retrouvé chez ces variétés offre une alternative dans les programmes d'amélioration de blé dur pour la résistance au stress hydrique.

**Mots-clés :** Mots clé : *Triticum durum*, tolérance, stress hydrique, SSR, amélioration, marqueur moléculaire.

**Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Génétique Biochimie et de Biotechnologie Végétale (GBBV) à Chaabat EL Rassas. (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Jury d'évaluation :**

**Encadrant :** KHENNAOUI. Amina, MCB (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Président :** BENBELKACEM. Abdelkader (Directeur de recherche INRA Constantine).

**Examinatrice :** MOUELLEF. Adra, MCB (Université Frères Mentouri, Constantine 1).