



Université Constantine 1, Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم : بиولوجيا النبات

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude du polymorphisme génétique lié à la résistance aux maladies fongiques chez le blé dur algérien (*Triticum durum* Desf.) par les marqueurs SSR.

Présenté par : M^{lle} **SEGOUAT Ferial**

Le : 23 /06/2025

Jury d'évaluation :

Président : Mr. TEMAGOULT Mahmoud M.A.A. Université Constantine1, Frères Mentouri

Encadrant : Mr. KELLOU Kamel M.A.A. Université Constantine1, Frères Mentouri

Examinateuse : Mlle. MOUELLEF Adra M.C.B. Université Constantine1, Frères Mentouri.



Remerciements



Je tiens à exprimer, avec une profonde sincérité, toute ma gratitude à Monsieur KELLOU K, Maître Assistant à l'Université Mentouri Constantine 1. Plus qu'un encadrant, il a été un guide, un soutien constant, et une véritable source d'inspiration tout au long de ce travail. C'est grâce à lui que ce projet a pu prendre forme : il m'a proposé ce sujet passionnant, m'a accompagné avec une générosité rare, souvent du matin jusqu'au soir, sans jamais compter son temps ni son énergie. À travers ses conseils éclairés, sa patience, sa bienveillance et ses encouragements, j'ai non seulement progressé sur le plan académique, mais j'ai aussi grandi personnellement. Je n'oublierai jamais ces moments de travail, d'échange et de confiance partagés. Du fond du cœur, merci Monsieur KELLOU, pour tout ce que vous m'avez apporté.

Je tiens à remercier chaleureusement les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail. J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur TAMMAGOUT, d'avoir accepté de présider le jury. Pour l'honneur qu'il m'a fait en présidant cette soutenance, ainsi qu'à Madame MOUELLEF Adra, d'avoir accepté d'examiner ce travail, pour le temps qu'elle a consacré à la lecture et à l'analyse de ce mémoire. Leur disponibilité, leur bienveillance et la qualité de leurs remarques témoignent de leur engagement et de leur exigence scientifique. Je suis profondément reconnaissant(e) de leur présence et de leur précieuse contribution.

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



Ferial

Dédicace



À tous ceux qui ont fait partie de ce chemin, à ceux à qui je dois ce que je suis devenue, je dédie humblement ce travail.

À Dieu, mon Créateur et mon soutien, Toi qui m'as donné la force quand j'étais faible, et la lumière quand les chemins s'assombrissaient. Louange à Toi pour Tes innombrables bienfaits et pour les prières exaucées dans le secret et la détresse.

À mon cher père, qui incarne pour moi le véritable sens du mot "pilier", à toi qui m'as élevée avec des valeurs solides, à toi qui voyais en moi une source de fierté bien avant que je réalise quoi que ce soit. Merci d'avoir toujours cru en moi, merci d'avoir été cette épaulement rassurante dans les moments les plus incertains.

À l'âme pure de ma mère...

À toi, maman, qui es partie en silence mais dont la présence habite encore mon cœur, mes pensées, mes prières. Que Dieu t'accorde Sa miséricorde. Je t'entends encore me murmurer : « Tu es forte, continue ». Je continuerai toujours, pour toi, avec toi, en moi.

À mes chers frères : *Oussama, Abdessalam, Aboubaker, Anis*, Vous êtes mes premiers héros, mes repères et mes piliers. Vous êtes cette force tranquille qui m'a portée quand tout semblait s'écrouler. Mon cœur déborde de gratitude et de fierté envers vous.

À ma belle-sœur *Besma*, une femme de cœur et de lumière, Merci d'avoir été bien plus qu'une alliée. Ton amour, ton attention sincère et ton soutien discret mais constant m'ont profondément touchée. Tu as embellie ma route et rendu mes jours plus doux.

À mes amis sincères : *Nessrine, Khadija*... , et tant d'autres qui ont croisé mon chemin avec bienveillance. Vous êtes cette rareté précieuse qu'on garde au fond du cœur.

À toutes les âmes bienveillantes qui m'ont accompagnée, encouragée, soutenue... chaque mot, chaque regard, chaque prière a laissé une trace dans mon cœur.

À tous mes enseignants dans mon carrière sans exception.

Et enfin, je dédie ce travail à moi-même...

Parce que j'ai tenu bon, quand c'était plus simple d'abandonner.

Parce que j'ai cru en mes rêves, malgré les tempêtes.

Parce qu'il est temps de me dire :

Tu y es arrivée... et tu le mérites.



Ferial

Etude du polymorphisme génétique lié à la résistance aux maladies fongiques chez le blé dur algérien (*Triticum durum* Desf.) par les marqueurs SSR.

Résumé :

L'Algérie reste parmi les premiers importateurs mondiaux de blé dur (*Triticum durum* Desf.), en raison de rendements faibles liés aux contraintes climatiques et à la sensibilité aux maladies. L'utilisation des marqueurs moléculaires cartographiés et polymorphes, comme les microsatellites (ou SSR), dans les programmes de sélection du blé dur est particulièrement précieuse lorsqu'on cherche à étudier la variabilité génétique au sein de l'espèce vis-à-vis son adaptation et sa résistance aux stress biotiques et abiotiques. Parmi les maladies fongiques du blé, on trouve les rouilles, la septoriose, la fusariose, et l'oïdium. Ce travail vise à analyser la variabilité génétique de 12 cultivars de blé dur homologués en Algérie à l'aide de 8 marqueurs SSR, afin d'évaluer le potentiel génétique de ces génotypes et d'identifier parmi eux les plus résistants aux maladies fongiques précité. Les résultats obtenus ont révélé un degré élevé de variabilité génétique, ce qui met en évidence le potentiel d'exploitation de ces ressources génétiques dans les programmes de sélection assistée par marqueurs, pour l'amélioration de la résistance aux maladies et la préservation de leur variabilité génétique.

Mots clés : Blé, polymorphisme, microsatellites, maladies, stress et SSR.

Genetic Polymorphism Study Related to Resistance to Fungal Diseases in Algerian Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Using SSR Markers

Abstract:

Algeria remains the world's leading importer of durum wheat (*Triticum durum* Desf.), due to low yields associated with climatic constraints and susceptibility to diseases. The use of mapped and polymorphic molecular markers, such as microsatellites (or SSRs), in durum wheat breeding programs is particularly valuable for studying the genetic variability within the species in relation to its adaptation and resistance to biotic and abiotic stresses. Among the fungal diseases affecting wheat are rusts, septoria leaf blotch, fusarium head blight, and powdery mildew. This study aims to analyse the genetic variability of 12 durum wheat cultivars registered in Algeria using 8 SSR markers, in order to assess the genetic potential of these genotypes and identify those most resistant to the aforementioned fungal diseases. The results revealed a high level of genetic variability, highlighting the potential for utilizing these genetic resources in marker-assisted selection, programs aimed at improving disease resistance and preserving their genetic diversity.

Keywords: Durum wheat, polymorphism, microsatellites, diseases, stress, SSR markers.

دراسة التنوع الوراثي المرتبط بالمقاومة ضد الأمراض الفطرية لدى القمح الصلب الجزائري (*Triticum durum* Desf.) باستخدام المعالم الجزيئية

ملخص

تُعد الجزائر من أوائل المستوردين للقمح الصلب (*Triticum durum* Desf.) على المستوى العالمي، ويعزى ذلك إلى ضعف المردودية الناتج عن القيود المناخية والحساسية تجاه الأمراض. وتعتبر استخدامات المؤشرات الجزيئية المحددة والمتعددة الأشكال، مثل (الميكروساناتلات) أو (SSR)، ذات أهمية كبيرة في برامج الانتقاء الوراثي للقمح الصلب، لاسيما عند دراسة التباين الوراثي داخل النوع من حيث التأقلم والمقاومة للإجهادات الحيوية واللاح giose. ومن بين الأمراض الفطرية التي تصيب القمح: الأصداء، والتبعع السبتيوري، والفيوزاريوم، والبياض الدقيق. يهدف هذا العمل إلى تحليل التباين الوراثي لـ 12 صنفًا من القمح الصلب المعتمدة في الجزائر، باستخدام 8 مؤشرات SSR ، من أجل تقييم الإمكانيات الوراثية لهذه الأنماط الوراثية وتحديد الأصناف الأكثر مقاومةً للأمراض الفطرية المذكورة. وقد كشفت النتائج عن درجة عالية من التباين الوراثي، مما يبرز أهمية استغلال هذه الموارد الوراثية في برامج الانتقاء بمساعدة المؤشرات لتحسين مقاومة الأمراض وضمان المحافظة على التنوع الوراثي.

الكلمات المفتاحية: القمح الصلب، التعدد الوراثي، الميكروساناتلات، الأمراض، الإجهاد، مؤشرات SSR

Liste des abréviations

| | |
|--------|---|
| 3Am | Chromosome 3A de l'espèce <i>Triticum monococcum</i> . |
| ADN | Acide Désoxyribonucléique complémentaire |
| AFLP | Amplified Fragment Length Polymorphisme |
| CIMMYT | Centre international d'amélioration du maïs et du blé |
| EDTA | Ethylenediaminetetraacetic acid. |
| FAO | Food and Agriculture Organization |
| ICARDA | The International Center for Agricultural Research in the Dry Areas |
| ITGC | Centre international d'amélioration du maïs et du blé |
| MAS | Sélection assistée par marqueurs |
| min | Minute |
| PCR | Polymérase Chain réaction |
| QTL | Quantitative Trait Loci |
| RAPD | Amplification aléatoire d'ADN polymorphe |
| RFLP | Polymorphisme de longueur des fragments de restriction |
| SNP | Single nucléotide polymorphisme |
| SSR | Simple Sequence Repeat. |
| tris | (hydroxy- méthyl) aminométhane |
| Ug99 | Race 99 d' <i>Ustilago</i> (rouille noire) |

| Liste des figures | Page |
|---|-------------|
| Figure 01 Carte de la diffusion de la culture du blé..... | 6 |
| Figure 02 Schéma de l'origine des génomes portés par les différents blés..... | 7 |
| Figure 03 Produits à base de blé dur, de gauche à droite : pâtes, couscous et Principaux usages du blé dur stricto sensu (<i>T. turgidum</i> subsp. <i>durum</i> L.)..... | 9 |
| Figure 04 Timeline of application of molecular markers in wheat breeding and research.... | 12 |
| Figure 05 Comparaison des cinq marqueurs ADN largement utilisés chez les plantes..... | 14 |
| Figure 06 La rouille noire..... | 20 |
| Figure 07 Rouille brune sur la feuille de blé..... | 21 |
| Figure 08 Rouille jaune sur feuille de blé..... | 22 |
| Figure 09 Feuille de blé attaqué par l'Oïdium..... | 23 |
| Figure 10 Feuille de blé attaqué par le septoriose..... | 24 |
| Figure 11 Un épillet individuel infecté par <i>Fusarium graminearum</i> | 24 |
| Figure 12 Les récipients des échantillons..... | 25 |
| Figure 13 Les quinze variétés de blé dur sélectionnées pour notre essaie (<i>Triticum durum</i>) sous la chambre de culture..... | 26 |
| Figure 14 Analyse de la qualité d'extraction des ADNs chez douze génotypes de blé dur par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8% (100V, 30min)..... | 32 |
| Figure 15 Vérification de l'amplification du locus Xbarc8 chez 12 variétés de blé dur sur un gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min)..... | 32 |
| Figure 16 Vérification de l'amplification du locus Xbarc133 chez 12 variétés de blé dur sur un gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min)..... | 33 |
| Figure 17 Vérification de l'amplification du locus XWMC169 chez 12 variétés de blé dur sur un gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min)..... | 34 |
| Figure 18 Vérification de l'amplification du locus XCFA2040 chez 12 variétés de blé dur sur un gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min)..... | 36 |
| Figure 19 Vérification de l'amplification du locus Xgwm425 chez 12 variétés de blé dur sur un gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min)..... | 37 |
| Figure 20 Vérification de l'amplification du locus XPSP2999 chez 12 variétés de blé dur sur un gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min)..... | 38 |
| Figure 21 Vérification de l'amplification du locus XPSP3000 chez 12 variétés de blé dur sur un gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min)..... | 39 |
| Figure 22 Vérification de l'amplification du locus XPWMC44 chez 12 variétés de blé dur sur un gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min)..... | 40 |

Liste des tableaux

| | <i>Page</i> |
|---|-------------|
| Tableau 01 Classification taxonomique du blé dur. | 3 |
| Tableau 02 Les variétés de blé dur étudiées avec leur pedigree et leur origine. | 24 |
| Tableau 03 Listes de huit marqueurs SSR sélectionnés pour notre étude. | 28 |
| Tableau 04 Quantification des ADN extraits des 12 génotypes de blé dur étudiés.. | 30 |

Table des matières

Introduction Erreur ! Signet non défini.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

| | |
|--|----|
| I.Généralité sur le blé | 3 |
| I.1.Classification botanique et génétique du blé | 3 |
| I.2.Origine des blés..... | 4 |
| I.3.Origine évolutive des génomes A et B chez le blé dur | 5 |
| I.4.Importance du blé dur | 6 |
| I.5.Qualité technologique | 6 |
| I.6.Utilisation de blé dur <i>Triticum durum</i> | 7 |
| II.Les marqueurs génétiques | 9 |
| II.1.les marqueurs morphologiques | 9 |
| II.2.les marqueurs biochimiques | 9 |
| II.3.les marqueurs ADN (ou marqueurs moléculaires) | 9 |
| II.3.1.Définition d'un marqueur moléculaire | 11 |
| II.3.2.Caractéristiques d'un bon marquer moléculaire | 11 |
| II.3.3.Marqueur de répétitions de séquences simples (SSR)..... | 12 |
| II.3.4.Les avantages des marqueurs moléculaires | 13 |
| II.3.5.Applications générales des microsatellites | 14 |
| II.3.6.Polymorphisme et marqueur moléculaire | 14 |
| III.Les contraintes de la production de blé | 15 |
| III.1. Les contraintes abiotiques | 15 |
| III.1.1.Les maladies de blé | 15 |
| III.1.2.Définition de maladie | 15 |
| III.1.3.La tolérance | 16 |
| III.1.4.La résistance | 16 |
| III.1.5.Le stress hydrique..... | 16 |
| III.1.6.Le stress salin | 16 |
| III.2.Les contraintes biotiques | 16 |
| III.2.1.Les rouilles : | 16 |
| III.2.1.1.Rouille noire (rouille du tige) | 17 |
| III.2.1.2. Rouille brune (rouille des feuilles)..... | 18 |
| III.2.1.3.Rouille jaune (rouille striée)..... | 19 |
| III.2.2.Oïdium..... | 20 |
| III.2.3.Septoriose (<i>Septoria tritici</i>) | 21 |
| III.2.4.La fusariose | 21 |

Chapitre II : Matériel et méthodes

| | |
|--------------------------------------|----|
| 1.Matériel végétal..... | 22 |
| 2.Conduite de l'essai | 22 |
| 2.1.Germination des graines..... | 22 |
| 2.2.Mise en culture | 23 |
| 3.Mise en expérimentations..... | 24 |
| 3.1.Broyage du matériel végétal..... | 24 |

| | |
|---|----|
| 3.2.Extraction de l'ADN | 24 |
| 4.Dosage de l'ADN | 25 |
| 4.1. Quantification de l'ADN..... | 25 |
| 4.2. Contrôle de l'intégrité D'ADN | 25 |
| 5.Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) | 25 |
| 6.SSR utilisés | 26 |
| 7. Vérification de l'amplifiât par électrophorèse | 26 |

Chapitre III : Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| 1. Vérification de la quantité et la qualité des extraits d'ADN | 27 |
| 1.1. Evaluation de la quantité des ADNs extrait | 27 |
| 1.2. Evaluation de la qualité des extraits | 28 |
| 2. Analyse du polymorphisme des variétés du blé dur par SSR | 28 |
| 2.1. Locus Xbarc8 | 28 |
| 2.2.Locus XBarc133 | 29 |
| 2.3.LocusXWMC169 | 30 |
| 2.4.LocusXCFA2040 | 32 |
| 2.5. LocusXgwm425 | 33 |
| 2.6.LocusXPSP2999..... | 33 |
| 2.7. LocusXPSP3000..... | 35 |
| 2.8.LocusXwmc44 | 36 |
| 3.Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) | 37 |
| Conclusion et perspectives | 40 |
| Références bibliographiques | 42 |

Introduction

Introduction

Le blé du genre *Triticum* est la deuxième culture vivrière la plus importante après le riz. Il est cultivé dans le monde entier sur environ 220 millions d'hectares, à diverses latitudes et altitudes, dans des conditions irriguées, de sécheresse sévère ou d'humidité. Ainsi, le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est la principale céréale cultivée en Algérie, occupant environ la moitié des surfaces céréaliers et représentant plus de 50 % de la production. Son importance est liée à son rôle central dans l'alimentation traditionnelle (couscous, galette à la semoule, ...etc.) et à sa valeur économique.

Cependant, malgré les efforts de production, l'Algérie reste le premier importateur mondial de blé dur, en raison d'un rendement national faible et irrégulier. Cette situation s'explique principalement par les conditions climatiques difficiles, notamment les stress hydrique et thermique, fréquents dans les zones semi-arides comme les hautes plaines, principales régions de culture du blé dur.

Quoique la culture du blé soit exposée à une grande variété de stress biotiques et abiotiques, qui affectent son rendement. Le stress abiotique est causé par des fluctuations de l'environnement tels que la sécheresse, la salinité, les inondations, les températures extrêmes, etc... (**Fich et al., 2016**). D'autre part, le stress biotique est provoqué par des organismes vivants tels que les virus, les bactéries, les champignons, les insectes, les nématodes, les herbivores et les mauvaises herbes (**Verma et al., 2013**). Les plantes peuvent mourir en raison de carences nutritionnelles, de maladies et d'infections causées par des agents biotiques, entraînant ainsi d'importantes pertes avant et après la récolte.

Bien que l'impact des maladies puisse varier d'une année à l'autre, elles sont toujours actives et peuvent représenter un défi majeur, en raison de leurs effets sur le rendement et la qualité du grain ou de la paille. Elles peuvent apparaître dans n'importe quel stade de développement, selon les conditions environnementales et la sensibilité des variétés cultivées.

La plupart des maladies importantes à l'échelle mondiale sont causées par des champignons biotrophes ou nécrotrophes tels les rouilles, la septoriose, la fusariose, et l'oïdium. En revanche, d'autres maladies ont nécessité des stratégies multiples et des efforts internationaux pour réduire les pertes majeures de rendement.

Les stratégies de gestion des maladies et des ravageurs du blé comprennent : la résistance variétale, les produits chimiques, les pratiques culturales, la lutte biologique et la gestion intégrée des maladies.

L'utilisation de marqueurs génétiques très polymorphes, comme les microsatellites (ou SSR), est particulièrement précieuse lorsqu'on cherche à étudier la variabilité génétique

Introduction

au sein du blé. Et donc, leur utilisation permet d'obtenir des informations fiables, précises et reproductibles sur la variabilité génétique entre les individus, les populations ou les variétés. Cela en fait un outil fondamental en amélioration du blé, en conservation de ces ressources génétiques ou en phylogénie.

L'objectif de cette étude est de réaliser une analyse moléculaire à l'aide des marqueurs SSR (microsatellites) sur une collection de 12 variétés de blé dur, afin d'évaluer leur potentiel génétique de résistance aux principales maladies fongiques existantes en Algérie (les rouilles, la septoriose, la fusariose, et l'oïdium) en ciblant les loci des gènes cartographiés sur les chromosomes 1A, 2A, 3A, 1B, 6B et 7B.

La présente étude se compose de trois chapitres :

- La Synthèse Bibliographique dans laquelle nous présentons la littérature relative à notre thème.
- Le chapitre Matériel et Méthodes sous lequel est rassemblé la description du matériel végétal ainsi que les techniques utilisées pour la réalisation de notre objectif.
- Vous trouverez enfin dans le dernier chapitre Résultats et Discussions, l'ensemble des résultats obtenus et leur interprétation.

Synthèse Bibliographique

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le blé

Le blé dur, connu scientifiquement sous le nom de *Triticum durum* Desf., est une plante annuelle monocotylédone. Sur le plan taxonomique, il appartient à la famille des Poaceae, à la tribu des Triticées et au genre *Triticum* (Feillet, 2000). En termes d'importance pour l'alimentation humaine et la production commerciale, cette espèce occupe la deuxième place au sein du genre *Triticum*, juste après le blé tendre. La famille des Poaceae est très vaste, regroupant environ 600 genres et plus de 5 000 espèces. (Feillet, 2000).

Tableau 01: Classification taxonomique du blé dur (Feillet, 2000).

| Regne | Plantae |
|---------------------------|----------------------------|
| Embranchement | Spermatophytes |
| Sous embranchement | Angiosperme |
| Classe | Monocotylédones |
| Ordre | Poales |
| Famille | Poaceae |
| Tribu | Triticeae |
| Genre | <i>Triticum</i> |
| Espèce | <i>Triticum durum</i> Desf |

I.1. Classification botanique et génétique du blé

Le blé est une plante monocotylédone appartenant à la famille des Poaceae. Trois groupes de *Triticum* sont connus, classés en fonction du nombre de chromosomes :

- Le groupe **diploïde** (2×7 chromosomes) comprend *Triticum monococcum* L. (l'engrain) et *Triticum urartu*. Ces formes, parmi les plus anciennement cultivées, se caractérisent par des épis grêles dont les grains restent enveloppés par les glumelles.
- Le groupe **tétraploïde** (4×7 chromosomes) inclut *Triticum dicoccoides* (amidonnier sauvage), *Triticum dicoccum* (amidonnier), *Triticum turgidum* et *Triticum durum*. Ces espèces possèdent des épis denses dont les grains, riches en gluten, sont utilisés pour la fabrication des pâtes alimentaires.
- Le groupe **hexaploïde** (6×7 chromosomes) est représenté par *Triticum aestivum* (ou *T. vulgare*, blé tendre) et *Triticum spelta* (épeautre). Il regroupe la majorité des blés, caractérisés par des épis assez larges et des grains riches en amidon, adaptés à la panification (Lesage, 2011).

I.2. Origine des blés

Le blé est l'une des premières espèces végétales domestiquées par l'homme, il y a plus de 10 000 ans, dans la région du Croissant fertile, et plus précisément dans les montagnes du Karacadag, situées en Turquie. Cette domestication a concerné deux espèces principales : le blé engrain (*Triticum monococcum*, diploïde) et le blé amidonnier (*Triticum dicoccum*, tétraploïde), qui sont les ancêtres respectifs du blé dur. Le blé tendre (*Triticum aestivum*, hexaploïde), quant à lui, résulte d'un croisement entre le blé amidonnier domestiqué et une espèce sauvage appelée *Triticum tauschii*. (Charmet, 2011)

Le blé trouve son origine dans la région du Croissant fertile, une zone qui s'étend du sud-est de la Turquie actuelle jusqu'à l'ouest de l'Iran, en passant par le nord de la Syrie et de l'Irak. C'est dans cette région, entre -8000 et -7000 avant J.-C., que les premières formes de blé ont été domestiquées, notamment l'amidonnier et l'engrain, deux espèces de blés anciens (Feldman, 2001 ; Bonjean, 2000). Ces variétés étaient bien adaptées aux conditions climatiques locales et constituaient les premières céréales cultivées par les sociétés néolithiques.

Au fil des siècles, le blé a commencé à se diffuser vers l'Europe, l'Asie et l'Afrique, en empruntant différentes routes migratoires. Cette diffusion s'est accompagnée de l'introduction de nouvelles espèces de blé, comme les blés tétraploïdes et hexaploïdes (par exemple le blé tendre et le blé dur), issus de croisements naturels et d'adaptations locales. Ce processus a conduit à la grande diversité génétique que l'on retrouve aujourd'hui parmi les blés cultivés à travers le monde (Jarrige et Meadow, 1980).

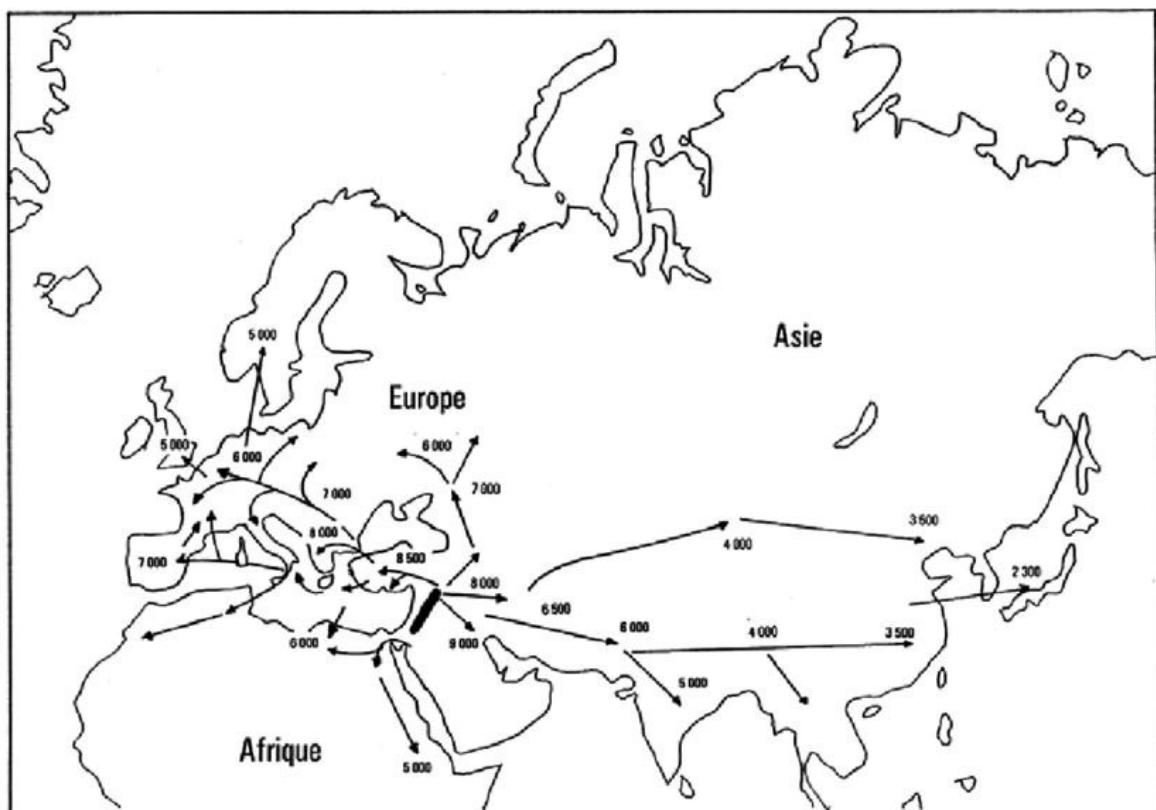


Figure 01. Carte de la diffusion de la culture du blé (Bonjean, 2001).

1.3. Origine évolutive des génomes A et B chez le blé dur

Le blé dur (*Triticum durum* Desf., $2n = 4x = 28$, AABB) est issu d'une hybridation ancienne entre une espèce à génome A (*Triticum urartu*) et une espèce du groupe *Sitopsis* qui a fourni le génome B.

Cette origine tétraploïde a été largement confirmée par des études cytogénétiques. Toutefois, des travaux plus récents ont remis en question l'attribution correcte de certains chromosomes aux génomes A et B. En particulier, **Dvorak (1983)** a montré que le chromosome 4A, classiquement attribué au génome A chez le blé tendre hexaploïde (*T. aestivum*), présente des caractéristiques morphologiques et comportementales proches des chromosomes du génome B, suggérant une possible réallocation génomique. Cette découverte est d'autant plus pertinente que le blé dur partage les mêmes génomes A et B que le blé tendre, ce qui implique que des anomalies similaires pourraient y être présentes. Ces résultats soulignent la complexité de l'évolution génomique du blé et l'importance de bien interpréter les données issues des marqueurs moléculaires, notamment les SSR situés sur le groupe chromosomique 4, dans les études de diversité et de sélection assistée.

Le blé tendre possède les trois génomes AA, BB, et DD constitués chacun de sept paires de chromosomes homologues numérotés de 1 à 7 (A1...A7, B1...B7, D1D7), soit au total

42 chromosomes ; le blé dur ne contient que les deux génomes AA et BB et 2 chromosomes. (Feuillet, 2000).

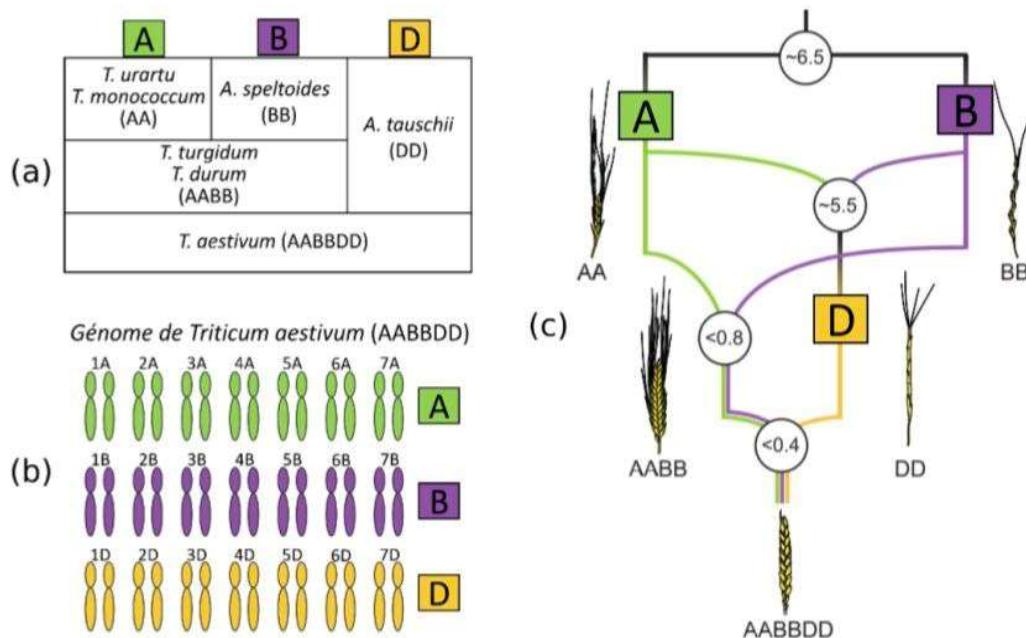


Figure 02 : Schéma de l'origine des génomes portés par les différents blés. (a) Catégorisation de différentes espèces de blés en fonction de leur niveau de ploïdie, portant les génomes A, B et/ou D. (b) Schéma du caryotype du blé tendre (*Triticum aestivum* spp *aestivum*) hexaploïde. (c) Schéma de l'histoire évolutive des blés, les dates estimées des événements étant exprimées en millions d'années (Bonnot, 2016).

I.4. Importance du blé dur

Le blé dur (*Triticum durum*) constitue une source importante de vitamines et de micronutriments, contribuant ainsi à une alimentation équilibrée. Toutefois, leurs concentrations restent insuffisantes, ce qui représente un défi majeur pour les populations dont l'alimentation repose principalement sur cette céréale. En effet, la faible teneur en nutriments des aliments de base, comme le blé, est associée à des carences nutritionnelles. (Cabas-Lühmann et al., 2023). Il fournit environ 20 % des calories alimentaires mondiales et possède une particularité unique : ses protéines permettent la formation du gluten, élément essentiel à la panification (Dimitrios, 2024).

I.5. Qualité technologique

Sur le plan technologique, la dureté du blé dur en fait une matière première idéale pour la production de semoule, qui se distingue de la farine par sa texture plus granuleuse. Cette caractéristique permet d'obtenir des pâtes de meilleure qualité, résistantes à la cuisson et dotées de bonnes propriétés gustatives.

Le blé dur se distingue par sa texture ferme, sa couleur jaune prononcée et son goût subtil de noisette (**Dimitrios, 2024**).

Une teneur élevée en protéines améliore généralement les performances en boulangerie, tout comme une cuisson rapide, mais cela ne permet pas d'obtenir les mêmes propriétés que les farines de blé tendre (**Dexter et al. 1994**). Une farine adaptée à la panification doit contenir un gluten suffisamment fort pour former une matrice viscoélastique étendue lors du pétrissage, tout en présentant une bonne maniabilité, avec une résistance élevée à l'extension et une extensibilité modérée.

Avant 1980, les variétés de blé dur étaient trop faibles pour produire un pain de qualité. L'amélioration variétale menée au Canada et aux États-Unis a permis de renforcer le blé dur, le rendant plus apte à la panification, bien qu'il n'atteigne toujours pas les performances du blé tendre. La pâte de blé dur est généralement décrite comme « molle » ou « ferme », mais non comme « rigide » (**Liu et al. 1996**).

I.6. Utilisation de blé dur *Triticum durum*

Dimitrios, 2024 montre que La majeure partie du blé dur est destinée à la fabrication des pâtes alimentaires, mais il est également employé pour produire du boulgour, du couscous et divers produits traditionnels. En outre, il est utilisé pour la confection de pains traditionnels, notamment dans les pays méditerranéens (**Figure 03**). Dans certaines régions du Moyen-Orient, la majorité de la production de blé dur est orientée vers la panification. En Italie, plus de 10 % du blé dur consommé est utilisé pour la fabrication du pain. Ces dernières années, une tendance émergente a été observée : l'utilisation de la farine de blé dur pour la panification gagne en popularité en dehors du bassin méditerranéen, notamment en Russie, au Canada et aux États-Unis.



Figure 03 : Produits à base de blé dur, de gauche à droite : pâtes, couscous et principaux usages du blé dur stricto sensu (*T. turgidum* subsp. *durum*) (**Dimitrios, 2024**).

Le blé dur (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) est une céréale à haute valeur nutritionnelle et technologique, notamment grâce à sa teneur élevée en protéines et à la dureté de ses grains. Cette particularité structurelle influence fortement ses débouchés alimentaires, qui diffèrent

sensiblement de ceux du blé tendre. Les principaux usages alimentaires du blé dur, en particulier dans les régions méditerranéennes et du Moyen-Orient, sont présentés ci-dessous (Abécassis, Massé et Allaoua, 2021).

❖ **Soupes et bouillies**

Les soupes et les bouillies représentent des formes anciennes de consommation du blé dur. Ces préparations utilisent des grains concassés ou grillés, mélangés à de l'eau. Par exemple, la « chicha », typique du Maroc, est une soupe préparée à base de blé dur grossièrement broyé.

❖ **Semoule**

La mouture du blé dur donne principalement une semoule, et non une farine. La structure vitreuse du grain rend difficile son broyage fin, ce qui oriente son usage vers des produits tels que les gâteaux de semoule, les pains, les pâtes alimentaires et le couscous. On distingue parfois la semoule classique de la semouline, plus fine.

❖ **Panification**

Le blé dur est faiblement panifiable en raison de la faible extensibilité de son gluten. Il est donc majoritairement utilisé pour la fabrication de pains plats, largement consommés dans les pays méditerranéens.

❖ **Produits à base de grains précuits**

Le frik ou frikeh est un produit obtenu à partir de blé récolté à un stade immature, séché puis légèrement brûlé pour éliminer les enveloppes et le précuire. Cette transformation traditionnelle permettait de pallier les périodes de disette avant la récolte principale. Le produit fini est ensuite battu, nettoyé et séché. Ce type de transformation est toujours pratiqué, notamment du Maghreb jusqu'au Levant.

❖ **Boulgour**

Le boulgour est élaboré à partir de grains mûrs, étuvés, séchés, puis concassés. Ce procédé permet de stabiliser le produit, de faciliter sa conservation et d'éliminer les contaminants biologiques. Il peut être utilisé dans des plats chauds ou froids, comme le taboulé, et reste courant dans les cultures culinaires du Proche-Orient.

❖ **Couscous**

Le couscous est fabriqué à partir de semoule agglomérée en petites billes, parfois en y ajoutant de la farine ou de la semouline pour faciliter la cohésion. Il est consommé après cuisson vapeur, ou séché pour une utilisation ultérieure. Aliment emblématique du Maghreb, le couscous présente l'avantage technologique de ne pas coller à la cuisson, contrairement à

la semoule simple. Des variantes à gros grains, telles que le « berkoukes », sont également répandues (Abécassis, Massé et Allaoua, 2021).

II.Les marqueurs génétiques

Un marqueur génétique est tout caractère permettant de représenter les différences génétiques entre des organismes ou des espèces. En général, ils ne représentent pas les gènes cibles eux-mêmes, mais agissent comme des « signaux » ou des « drapeaux ». Les marqueurs génétiques situés à proximité des gènes (c'est-à-dire étroitement liés) peuvent être appelés « étiquettes » de gènes. Ces marqueurs n'affectent pas eux-mêmes le phénotype du caractère d'intérêt car ils ne sont localisés qu'à proximité ou « liés » aux gènes contrôlant le caractère (Sabouri et al., 2022).

Il existe trois principaux types de marqueurs génétiques :

II.1.les marqueurs morphologiques

(Également appelés « classiques » ou « visibles ») qui sont des caractères phénotypiques ;

II.2.les marqueurs biochimiques

Appelés isoenzymes, qui comprennent les variants alléliques des enzymes.

II.3.les marqueurs ADN (ou marqueurs moléculaires)

qui révèlent les sites de variation dans l'ADN (Jones et al., 1997; Winter et Kahl, 1995).

Les marqueurs morphologiques sont généralement identifiés visuellement (par exemple, des caractères tels que la couleur des fleurs, la forme des graines, les habitudes de croissance ou la pigmentation). Les isoenzymes sont des variants alléliques d'enzymes qui sont détectés par électrophorèse et par des colorations spécifiques. Ils permettent de détecter la diversité au niveau des gènes fonctionnels et présentent une hérédité simple.

Les principaux inconvénients des marqueurs morphologiques et biochimiques sont leur nombre limité et leur influence par les facteurs environnementaux ou le stade de développement de la plante (Winter et Kahl, 1995). Toutefois, malgré ces limitations, les marqueurs morphologiques et biochimiques se sont révélés extrêmement utiles pour les sélectionneurs de la plante.

Les progrès réalisés ces dernières années dans le développement des marqueurs moléculaires, notamment les microsatellites ou SSRs (*Simple Sequence Repeats*), ont permis de nouvelles approches pour améliorer les stratégies de sélection variétale. Ces marqueurs sont devenus des outils incontournables dans les programmes de sélection du blé dur (*Triticum durum* Desf.), en particulier pour l'amélioration de la résistance aux maladies et aux insectes. Contrairement aux marqueurs phénotypiques traditionnels, les SSRs offrent une grande précision, une reproductibilité élevée et sont largement utilisés pour leur co-

dominance et leur large distribution dans le génome. En sélection assistée par marqueurs (MAS), les SSRs liés à des gènes de résistance permettent d'identifier précocement les individus porteurs, avant même l'expression phénotypique ou en l'absence du pathogène. De plus, ils sont essentiels dans le pyramidage de plusieurs gènes de résistance dans une seule variété, conférant une résistance plus durable et à large spectre. L'intégration de ces outils moléculaires dans les programmes d'amélioration du blé dur contribuera ainsi à l'augmentation de la productivité et à la stabilité du rendement de cette culture céréalière stratégique.

Les marqueurs moléculaires sont des éléments essentiels dans la sélection du blé. Les marqueurs, en tant que signe ou repère, sont associés à un QTL ou à un gène. Étant donné qu'ils sont utilisés pour la cartographie génétique et la sélection assistée par marqueurs (MAS) avec des degrés d'efficacité variables, diverses technologies de marqueurs ont été développées. Une brève chronologie des types de marqueurs, de quelques gènes clés et des technologies associées, qui jouent un rôle essentiel dans l'amélioration du blé (Song et al., 2023).

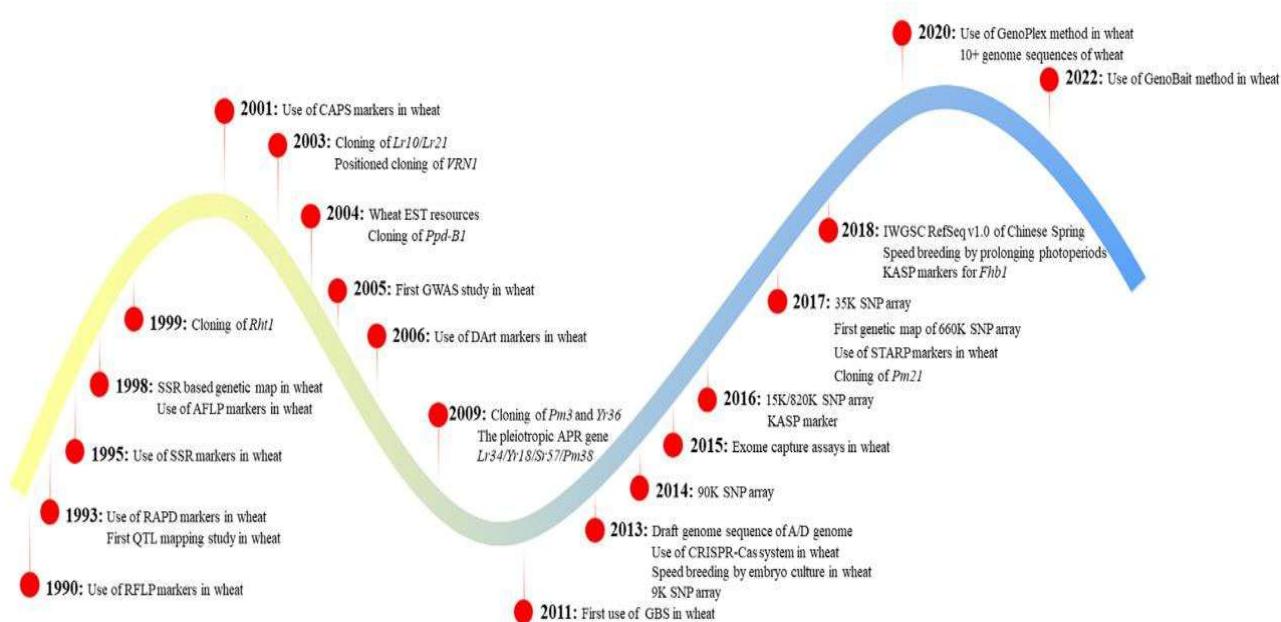


Figure 04 : Timeline of application of molecular markers in wheat breeding and research (Song et al., 2023).

L'application des marqueurs moléculaires remonte au début des années 1990, lorsque les marqueurs RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction) ont été appliqués au blé pour la cartographie génétique, l'identification variétale, la caractérisation des recombinants blé-seigle et l'identification des bras chromosomiques homéologues (Gupta et al. 1999).

Les marqueurs moléculaires renseignent sur le génotype d'un individu et ne sont pas modifiés par l'environnement. Ils peuvent être utilisés tout au long d'une expérimentation et sont observables à n'importe quel stade de développement de la plante et sur n'importe quel organe (l'information génétique de la plante est contenue en totalité dans toutes les cellules). Par les techniques de biologie moléculaire, plusieurs outils ont été développés, permettant d'obtenir directement à partir des marqueurs polymorphes de l'ADN des plantes.

Les plus utilisés sont les marqueurs RFLP, RAPD, AFLP et les microsatellites (**Diallo.2002**).

II.3.1. Définition d'un marqueur moléculaire

« Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. » (**Najimi et al., 2003**).

II.3.2. Caractéristiques d'un bon marqueur moléculaire

- ❖ Hérédité simple
- ❖ Multi-allélique
- ❖ Co-dominant
- ❖ Basé sur le polymorphisme de l'ADN
- ❖ Indépendant des conditions de l'environnement (**Najimi et al., 2003**).

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

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

| | RFLP | RAPD | AFLP | SSR | SNP |
|---|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| Genomic coverage | Low copy coding region | Whole genome | Whole genome | Whole genome | Whole genome |
| Amount of DNA required | 10 µg–50 | 100 ng–1 | 100 ng–1 | 120 ng–50 Medium | ≥ 50 ng |
| Quality of DNA required | High | Low | High | Medium high | High |
| Type of polymorphism | Single base changes, indels | Single base changes, indels | Single base changes, indels | Changes in length of repeats | Single base changes, indels |
| Level of polymorphism | Medium | High | High | High | High |
| Effective multiplex ratio | Low | Medium | High | High | Medium to high |
| Inheritance | Co-dominant | Dominant | Dominant/ co-dominant | Co-dominant | Co-dominant |
| Type of probes/primers | Low copy DNA cDNA clone or | Usually 10 bp random nucleotides | Specific sequence | Specific sequence | Allele-specific PCR primers |
| Technically demanding | High | Low | Medium | Low | High |
| Radioactive detection | Usually yes | No | Usually yes | Usually no | No |
| Reproducibility | High | Low to medium | High | High | High |
| Time demanding | High | Low | Medium | Low | Low |
| Automation | Low | Medium | High | High | High |
| Development/start-up cost | High | Low | Medium | High | High |
| Proprietary rights required | No | Yes and licensed | Yes and licensed | Yes and some licensed | Yes and some licensed |
| Suitable utility in diversity genetics and breeding | Genetics | Diversity | Diversity and genetics | All purposes | All purposes |

Figure 05 : Comparaison des cinq marqueurs ADN largement utilisés chez les plantes (Kordrostami et Rahimi, 2015).

II.3.3. Marqueur de répétitions de séquences simples (SSR)

Les SSR sont des segments d'ADN contenant un nombre variable de répétitions de séquences courtes et simples. Elles sont omniprésentes dans les génomes du blé, généralement codominantes et hautement polymorphes, ce qui permet la détection directe de l'hétérozygotie et en fait le marqueur de choix pour une diversité d'objectifs, tels que la cartographie et le marquage des gènes (Gupta et Varshney, s. d.).

Les microsatellites ou (SSRs) sont abondants et se trouvent fréquemment et de manière aléatoire dans l'ADN nucléaire de tous les eucaryotes (Tautz et Renz, 1984 ; Gupta et al., 1996).

Selon Akagi et al. (1996), les microsatellites sont constitués de répétitions en tandem de di-, tri- et téranucléotides, qui sont hypervariables et répartis de manière ubiquitaire dans les génomes eucaryotes.

Les marqueurs SSR, basés sur la PCR, offrent une grande flexibilité puisqu'ils permettent de sélectionner librement n'importe quel nombre de génotypes à analyser. En revanche, bien que les plateformes modernes de génotypage, notamment celles basées sur les SNPs, soient adaptées au génotypage à haut débit à l'échelle du génome, elles manquent de flexibilité. Cela signifie que ces plateformes imposent des contraintes en termes de nombre d'échantillons et de protocoles, ce qui les rend moins adaptables que les SSR pour certaines études (Rasheed & Xia, 2019).

II.3.4. Les avantages des marqueurs moléculaires

1) Gain de temps : l'ADN génomique peut être isolé à partir de n'importe quel tissu végétal à tout stade de développement. Les informations sur les caractères cibles peuvent être obtenues à partir de marqueurs liés avant la pollinisation, ce qui permet aux sélectionneurs de réaliser des croisements plus éclairés.

2) Stabilité et fiabilité :

L'évaluation phénotypique des caractères génétiques est souvent compliquée par les facteurs environnementaux, alors que les marqueurs d'ADN sont généralement neutres par rapport aux variations environnementales. Le sélectionneur peut donc évaluer son matériel indépendamment des conditions environnementales.

3) Biosécurité : des tests diagnostiques pour la présence ou l'absence de gènes de résistance aux maladies peuvent être réalisés avec des marqueurs d'ADN étroitement liés au gène cible, sans avoir besoin d'inoculer l'agent pathogène sur le terrain ou en serre.

4) Performance : l'évaluation des lignées de sélection dès les premières générations à l'aide de marqueurs d'ADN permet d'éliminer rapidement les descendances indésirables et d'améliorer la qualité génétique des matériaux de sélection.

5) Sélection précise des caractères complexes : les caractères polygéniques sont souvent difficiles à sélectionner par des méthodes conventionnelles. Les marqueurs liés aux QTL (quantitative trait loci) permettent de les traiter comme des caractères mendéliens uniques. En plus d'analyser et de sélectionner les caractères intéressants, les marqueurs moléculaires permettent également d'analyser des espèces sauvages présentant un potentiel pour les programmes de sélection (Kordrostami et Rahimi, 2015).

Bien que les marqueurs génétiques moléculaires présentent de nombreux avantages pour la recherche en phylogénie et en sélection végétale, leur utilisation comporte toutefois certaines limites. D'une part, la mise en œuvre de ces techniques requiert une formation spécifique et approfondie de la part des chercheurs, ce qui représente un investissement en temps et en ressources humaines non négligeable. D'autre part, le coût financier de ces

analyses est relativement élevé par rapport aux approches traditionnelles de la systématique, même si ce coût peut varier en fonction de la méthode choisie (Avise, 2004).

Il est par ailleurs important de noter que, dans la majorité des cas, les études moléculaires ont confirmé les hypothèses phylogénétiques déjà proposées à partir de caractères morphologiques ou phénotypiques, plutôt que de les contredire. Ainsi, il n'est pas nécessaire de réaliser une réanalyse moléculaire exhaustive de l'ensemble du monde biologique à des fins purement phylogénétiques. L'intérêt des marqueurs moléculaires réside principalement dans leur capacité à résoudre des questions controversées ou à aborder des aspects de l'évolution et de l'histoire naturelle qui dépassent le cadre des observations traditionnelles (Avise, 2004).

II.3.5. Applications générales des microsatellites

1. Détermination de la parenté

Les microsatellites permettent de vérifier la parenté avec une grande précision. Ils sont plus fiables que les groupes sanguins ou les marqueurs biochimiques, avec un taux d'exclusion supérieur à 90 %. Ils sont largement utilisés pour tester la parenté chez différentes espèces animales, notamment grâce aux tests PCR.

2. Détermination de la zygosité des jumeaux et du freemartinisme

Les microsatellites permettent de distinguer les jumeaux monozygotes (issus d'un même œuf) des dizygotes, ce qui est important pour les études génétiques et les greffes. Ils sont aussi utilisés pour détecter le freemartinisme, une condition chez les femelles jumelles de mâles où des chimérismes XX/XY peuvent apparaître.

3. Sexage des embryons pré-implantatoires

Grâce aux microsatellites, il est possible d'identifier le sexe des embryons avant leur implantation, ce qui est utile en reproduction assistée.

4. Identification des porteurs de maladies

Les microsatellites aident à identifier les variations génétiques responsables de certaines maladies héréditaires. Ils permettent de détecter les animaux porteurs (hétérozygotes) de gènes défectueux, même s'ils ne présentent aucun symptôme apparent (Najimi et al., 2003).

II.3.6. Polymorphisme et marqueur moléculaire

La séquence nucléotidique d'un segment d'ADN, à un locus donné, dans le génome peut montrer certaines variations. Les différentes formes d'un locus sont appelées allèles. L'existence de différents allèles à un locus définit le polymorphisme génétique. Les

techniques moléculaires qui révèlent le polymorphisme de l'ADN ont connu un développement très important ces dernières décennies. Avec l'augmentation du nombre des marqueurs, il est aujourd'hui possible de décrire ces variations génétiques à l'échelle du génome (Sauvage, 2008).

III. Les contraintes de la production de blé

III.1. Les contraintes abiotiques

En milieux variables la plante est le plus souvent soumise à une série de contraintes de nature abiotique qui réduisent sa capacité de reproduction (Djekoun et Ykhlef, 1996).

III.1.1. Les maladies de blé

Le blé dur (*Triticum turgidum* var. *durum*) est une culture stratégique dans les pays méditerranéens, notamment pour la production de semoule, de pâtes et de couscous. Cependant, cette culture est vulnérable à diverses maladies, en particulier les maladies fongiques, qui compromettent le rendement et la qualité. L'étude des maladies spécifiques au blé dur est essentielle pour orienter la sélection variétale, la recherche agronomique et les pratiques de lutte.

III.1.2. Définition de maladie

Une maladie de plante peut être définie par une succession de réponse invisibles et visibles des cellules et des tissus d'une plante, suite à l'attaque d'un micro-organisme ou à la modification d'un facteur environnemental qui provoquent des bouleversements de forme, de fonction ou d'intégrité de la plante. Ces réponses peuvent induire une altération partielle voire la mort de la plante ou de certains de ses parties (Anonyme, 2005).

D'après Vijayreddy (2024), il existe trois définitions couramment utilisées pour décrire la maladie des plantes :

- La maladie peut être définie comme un dysfonctionnement des cellules et tissus végétaux, provoqué par une irritation prolongée due à un agent pathogène ou à un facteur environnemental, et se manifestant par des symptômes visibles.
- Il s'agit d'un dérèglement biologique causé par une irritation continue, entraînant un malaise chez la plante accompagné de signes caractéristiques.
- La maladie végétale correspond à une altération de certaines fonctions physiologiques ordonnées, perturbant la coordination de l'utilisation de l'énergie, sous l'effet d'une irritation persistante liée à la présence ou l'absence de substances ou d'agents particuliers.

III.1.3.La tolérance

La tolérance au stress est un levier d'action qui permet le maintien d'une production en quantité et/ou en qualité en présence de symptômes de stress. Autrement dit, pour un même niveau de symptômes, une variété tolérante aura un rendement supérieur à une variété intolérante. La tolérance est un concept anthropocentré : elle améliore l'assurance de production face à de multiples aléas biotiques ou abiotiques (**Foulkes et al, 2006**). Néanmoins, elle semble avoir été contre sélectionnée au profit de l'évitement et de la résistance (**Gouache et al., 2014**), ces derniers ayant souvent un déterminisme génétique plus simple à mettre en œuvre en sélection.

III.1.4.La résistance

La résistance permet de réduire les symptômes de la maladie grâce à la présence de gènes de résistance (**Gouache et al., 2014**). Dans le cas d'un gène de résistance majeur, la résistance est dite qualitative et la résistance totale – aucun symptôme visible car l'infection par le pathogène est impossible. Si la résistance ne confère qu'une diminution et non une suppression des symptômes, la résistance est dite partielle ou quantitative ; elle est généralement liée à des QTL de résistance (**Chartrain et al., 2004**).

III.1.5.Le stress hydrique

Le déficit hydrique constitue une contrainte majeure et persistante pour la production agricole dans de nombreux pays à climat méditerranéen (**Kamoshita et al., 2008**).

Chez le blé, ce stress hydrique perturbe plusieurs paramètres physiologiques, ce qui impacte négativement la croissance et le développement de la plante, entraînant ainsi une diminution significative du rendement en grains (**El Mourid, 1988 ; El Falah et al., 1991 ; Samarah, 2005 ; Tambussi et al., 2005**).

III.1.6.Le stress salin

Le stress salin est un stress environnemental majeur qui affecte la croissance et le développement des plantes. Il augmente la pression osmotique intracellulaire et peut entraîner une accumulation toxique de sodium (**Zhao et al., 2021**).

III.2.Les contraintes biotiques

Classification des maladies de blé dur :

III.2.1.Les rouilles :

Helper (2014) montre que les rouilles sont des champignons microscopiques appartenant à l'ordre des Pucciniales (ou *Uredinales*), dans le phylum des Basidiomycota. Elles sont biotrophes obligatoires, c'est-à-dire qu'elles vivent exclusivement aux dépens des

tissus vivants des plantes vasculaires (fougères, gymnospermes, angiospermes), sur lesquelles elles provoquent des maladies, présentes dans tous les écosystèmes terrestres où poussent des plantes, les rouilles causent souvent d'importants dégâts agricoles, notamment sur les cultures céralières et légumineuses.

III.2.1.1. Rouille noire (rouille de la tige)

Définition : Il s'agit d'une maladie fongique causée par *Puccinia graminis f. sp. tritici*, et elle affecte principalement le blé et certaines autres graminées. Elle est historiquement l'une des maladies les plus destructrices des cultures de blé (**Singh et al., 2011**).

Agent pathogène : *Puccinia graminis f. sp. tritici*

Symptômes : Pustules brun rougeâtre sur les tiges, les feuilles et les épis. Fusion possible des pustules, déchirant l'épiderme (**Prescott, Burnett, Saari et al., 1986**).

Elles sont reconnues par la présence de pustules (ou urédospores) de couleur brun-roux alignées sur les feuilles, mais également sur les tiges et les épis. A l'approche de la maturité, les téleutospores qui apparaissent à la place des urédospores, prennent une teinte brune noire à noire (**Anonymous, 2009**).

Selon **Ezzahiri (2001)** ainsi qu'Aouali et Douici-Khalfi (2009), les symptômes causés par *Puccinia graminis* se caractérisent par des pustules plus longues que celles de la rouille brune. Ces dernières, de couleur rouge brique à marron foncé, apparaissent sur les feuilles, les tiges et parfois sur les épis.

Conditions favorables : Températures modérées à chaudes ($\geq 20^{\circ}\text{C}$), humidité libre (rosée/pluie) (**Prescott, Burnett, Saari et al., 1986**).

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**).

La rouille noire est favorisée par des conditions humides et des températures élevées (15 à 35°C) (**Ezzahiri, 2001**).

Importance économique : Maladie très destructrice, peut provoquer des pertes totales si l'infection survient tôt.

Hôtes/distribution : Blé, triticale, orge, graminées. Partout où l'on cultive des céréales tempérées.

Hôtes secondaires : Berberis, Mahonia (**Prescott, Burnett, Saari et al., 1986**).

Elle a historiquement provoqué des pertes agricoles dévastatrices dans presque toutes les régions productrices de blé dans le monde, notamment en Afrique, au Moyen-Orient, en Asie (sauf en Asie centrale), en Australie, en Europe et dans les Amériques. Le blé tendre

(*Triticum aestivum*), le blé dur (*Triticum turgidum* var. *durum*), l'orge, le triticale et les espèces apparentées sont les principaux hôtes de ce champignon. (Singh et al., 2011)



Figure 06 : La rouille noire (Prescott, Burnett, Saari, et al., 1986).

III.2.1.2. Rouille brune (rouille des feuilles)

Agent pathogène : *Puccinia recondita*

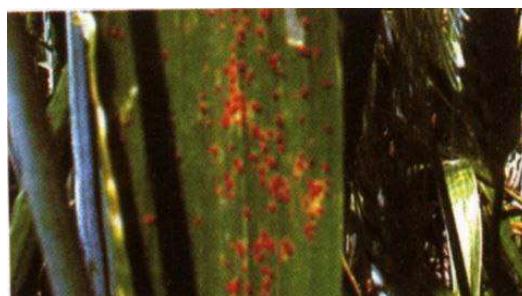


Figure 07 : Rouille brune sur la feuille de blé (Aouali & Douici-Khalfi, 2009).

Symptômes :

La rouille brune se manifeste par de petites pustules rondes à légèrement ovales, de couleur orange à brun orangé. Elles sont plus petites que celles de la rouille noire, ne fusionnent pas entre elles et se forment principalement sur la face supérieure des feuilles et des gaines foliaires, parfois sur le col de l'épi ou les arêtes (Prescott, Burnett, Saari, et al., 1986). Elle s'exprime sous forme de pustules de petite taille circulaires ou ovales, oranges ou brunâtres. Elles apparaissent de préférence sur la face supérieure des feuilles, et peuvent être visibles à partir du stade montaison (Ezzahiri, 2010).

Les urédospores germent en présence de l'eau libre. Elles se développent à des températures de 10 à 30°C (Ezzahiri, 2010).

Cycle de développement

L'infection débute souvent de manière discrète à partir de spores urédospores transportées par le vent sur de longues distances. La maladie progresse rapidement en conditions humides et douces, autour de 20 °C. De nouvelles générations de spores peuvent apparaître tous les 10 à 14 jours si les conditions restent favorables. En fin de cycle ou en conditions défavorables, des spores noires (téléutospores) peuvent se former.

Hôtes et répartition : Cette maladie touche principalement le blé, le triticale et d'autres graminées proches. Elle est présente dans toutes les régions où les céréales tempérées sont cultivées. Des plantes comme *Thalictrum*, *Isopyrum*, *Anemonella* et *Anchusa* peuvent servir d'hôtes alternatifs.

Impact agronomique : Des infections précoces et intenses peuvent causer des pertes de rendement importantes, en diminuant le nombre de grains par épis, le poids spécifique ainsi que la qualité du grain.

Conditions favorables : Températures autour de 20°C, humidité libre.

Importance économique : Des infections précoces et intenses peuvent causer des pertes de rendement importantes, en diminuant le nombre de grains par épis, le poids spécifique ainsi que la qualité du grain.

III.2.1.3. Rouille jaune (rouille striée)



Figure 08 : Rouille jaune sur feuille de blé (Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

Agent pathogène : *Puccinia striiformis*

Symptômes : Pustules jaune vif disposées en stries parallèles sur les feuilles. Elle se manifeste sous forme de pustules jaunâtres, alignées le long des nervures des feuilles, sous forme de stries (figure 13). Les pustules se développent aussi sur la face inférieure des feuilles et sur les épis (Ezzahiri, 2001).

Conditions favorables : Températures fraîches (10–20°C), humidité.

Les conditions favorisant le développement de la rouille jaune sont des températures nocturnes entre 1 et 15°C et des humidités relatives supérieures à 80% pendant 18 heures. (Ezzahiri, 2010).

Importance économique : Dommages graves en climat tempéré et en altitude.

Hôtes/distribution : Blé, orge, triticale. Zones tempérées et d'altitude.

III.2.2. Oïdium

Les oïdiums sont parmi les maladies des plantes les plus communes, infectant plus de 650 espèces de monocotylédones et plus de 9000 espèces de dicotylédones. Ces champignons causent de graves maladies sur une variété de plantes cultivées (Nowara et al., 2010) comme les céréales, les légumes, les arbres fruitiers et les plantes ornementales (Inuma et al., 2007).

L'oïdium, causé par *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*, se manifeste initialement par l'apparition de colonies blanches à gris pâle, poudreuses et duveteuses, constituées de mycélium et de conidies. Ces symptômes apparaissent principalement sur la face supérieure des feuilles, des gaines foliaires – en particulier les feuilles inférieures – et parfois sur les épis. Avec le temps, le tissu fongique devient gris jaunâtre et peut être facilement éliminé en le frottant. Le tissu végétal sous-jacent montre des signes de chlorose ou de nécrose, et dans les cas sévères, les feuilles peuvent se dessécher et mourir. À un stade avancé, des structures de fructification noires et sphériques appelées cléistothèces peuvent apparaître dans le mycélium, visibles à l'œil nu. Le développement de la maladie est favorisé par des conditions climatiques fraîches (15 à 22 °C), humides (humidité relative de 75 à 100 %) et nuageuses (Prescott, Burnett, Saari et al., 1986).

Symptômes : Taches blanches farineuses sur les feuilles, gaines foliaires, parfois les épis.

Conditions favorables : Temps frais, humidité élevée sans pluie directe.

Importance économique : Perte de rendement si infection précoce et sévère.

Hôtes/distribution : Blé exclusivement. Zones humides et semi-arides (Prescott, Burnett, Saari et al., 1986).



Figure 09 : Feuille de blé attaqué par l’Oïdium (Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

III.2.3. *Septoriose (Septoria tritici)*

Agent pathogène : *Mycosphaerella graminicola (Septoria tritici)*.

Symptômes : Taches brunâtres allongées avec pycnides noires visibles.

Conditions favorables : Temps humide et frais, feuilles mouillées.

Importance économique : Réduction importante du poids et de la qualité des grains.

Hôtes/distribution : Blé principalement. Zones tempérées (Prescott, Burnett, Saari, et al., 1986).



Figure10 : Feuille de blé attaqué par le septoriose (Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

III.2.4. *La fusariose*

La fusariose de l'épi du blé (FHB), est causée principalement par le champignon *Fusarium graminearum* (aussi connu sous le nom de *Gibberella zae*). Cette maladie provoque périodiquement des pertes de rendement importantes ainsi qu'une baisse de la qualité des grains. *F. graminearum* produit également des mycotoxines, des substances chimiques toxiques pour l'être humain et les animaux d'élevage (Wise, Woloshuk et Freije, 2015).



Figure 11. Un épillet individuel infecté par *Fusarium graminearum* (Wise, Woloshuk et Freije, 2015).

Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de douze (12) génotypes entre variétés locales anciennes et variétés introduites de blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum* Desf.).

Les variétés sélectionnées proviennent principalement de la station de l'INRA de Khroub Constantine et se distinguent par leur diversité génétique. Il s'agit des cultivars illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 02 : Pédigrées et origines des 12 variétés du blé dur étudiées.

| NOM | Pédigrée | Origine |
|--------------------------|--|---------------------|
| Ain Lahma (AL) | Bcr/Gro1//Mgnl1ICD97-0396-T-1AP-0AP-5AP-0AP-16AP-0AP | INRAA- ICARDA |
| Bousselam (BS) | Heider/Martes/Huevos de Oro. ICD-414 | CIMMYT-ICARDA |
| Hedba (HAD) | Sélection locale | INRA Algérie |
| Bidi17 (BD17) | Sélection locale | INRA Algérie |
| Wahbi (WB) | Bidi 17/Waha//Bidi 17 | INRA Algérie |
| GTA/ DUR (GTA) | Crane/4/PolonicumPI185309//T.glutinen/2*Tc60/3/Gll | CIMMYT-ICARDA |
| Waha (WH) | Plc/Ruff//Gta's/3/Rolette CM 17904 | ICARDA-ITGC Algérie |
| Oued Zenati 368 (OZ) | Sélection locale | Constantine Algérie |
| Mohamed Ben Bachir (MBB) | Sélection locale | INRA Sétif Algérie |
| Simeto (SM) | Capeiti8/Valvona Italie | Italie |
| Hoggar (Ex-Vitron) (VTR) | Turkey77/3/Jori/Anhinga//Flamingo | ITGC Khroub |
| Djenah-khetifa (DJ) | Sélection locale | Algérie |

2. Conduite de l'essai

L'expérimentation a été réalisée au sein du Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale, situé à Chaâb Ersas, de l'Université Constantine 1, Frères Mentouri.

2.1. Germination des graines

Les graines des 12 génotypes ont été désinfectées à l'aide d'une solution d'eau de Javel à 5 % pendant 10 à 15 minutes, puis rincées soigneusement à trois reprises avec de l'eau distillée stérile.

Elles ont ensuite été placées à germer sur du papier absorbant humidifié (**Figure01**), disposé dans des boîtes de Pétri en plastique. Ces derniers ont été installés dans une chambre de culture maintenue à une température constante de 25 °C, dans l'obscurité (**Figure01**).



Figure 12 : Préparation des boîtes de Pétri (**Segouat, 2025**).

2.2. *Mise en culture*

Après la germination, les plantules ont été exposées à la lumière et arrosées à l'eau distillée deux à trois fois par semaine pendant toute la durée de l'expérimentation, jusqu'au stade de trois feuilles.

Après douze jours de mise en culture, les feuilles ont été récoltées, broyées à l'aide d'azote liquide (-196 °C), puis conservées à -80 °C en vue d'analyses ultérieures.



Figure 13 : Germination des douze variétés de blé dur sélectionnées pour notre essai (**Segouat, 2025**).

3. Mise en expérimentations***3.1. Broyage du matériel végétal***

1. Prélever environ 100mg de tissu végétal frais (feuilles) à l'aide d'une pince stérile.
2. Placer le matériel végétal dans un mortier préalablement refroidi à l'azote liquide pour éviter toute dégradation enzymatique.
3. Ajouter une quantité suffisante d'azote liquide dans le mortier pour immerger complètement l'échantillon. Manipuler avec les gants isolants et précaution pour éviter les brûlures par le froid.
4. Broyer rapidement le matériel à l'aide d'un pilon jusqu'à obtention d'une poudre fine, homogène et congelée.
5. Transférer immédiatement le broyat dans deux tubes à vis stérile.
6. Refermer hermétiquement le tube et le plonger sans délai dans de l'azote liquide pour maintenir l'échantillon à très basse température.
7. Conserver les tubes dans l'azote liquide ou à -80°C jusqu'à l'étape d'extraction d'ADN.

3.2. Extraction de l'ADN

Les génotypes du blé dur après avoir broyés jusqu'à obtention d'une poudre. L'extraction de l'ADN a été réalisée avec. Cette méthode consiste à rajouter 1000 µl de solution de lyse (Méthode rapide par SDS) au broyat.

Après avoir vortexé les tubes Eppendorf, ces derniers ont été incubés à 65°C pendant 10 min. Après avoir laissé les tubes à température ambiante pendant 5min, ces derniers ont été centrifugés à 13000rpm/2min/4°C. Le surnageant est prélevé et transvasé dans la deuxième série de tubes (attention à ne pas perturber l'interface) contenant 500 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 10 min à 4°C . L'ADN se précipite. Le surnageant est éliminé et le culot est remis en suspension dans 500 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 5min.

Le culot d'ADN est suspendu dans 100 µl de solution de réhydratation (H₂O Ultra Pure) avant l'incubation des échantillons une nuit à 4°C.

4. Dosage de l'ADN

4.1. Quantification de l'ADN

La concentration et la pureté de l'ADN extrait est évaluées à l'aide d'un spectrophotomètre Nanodrop 2000. Tous d'abord on a commencé par la calibration de l'appareil avec L'H₂O up puis on a déposé 1,5 µL de chaque échantillon sur la micro cellule du Nanodrop, puis la lecture des absorbances se fait automatiquement et le calcule et les résultats finaux sont afficher après calcul par le logiciel intégré. La concentration d'ADN a été automatiquement calculée par l'appareil. Le rapport A260/A280 a également été enregistré afin d'évaluer la pureté des échantillons.

4.2. Contrôle de l'intégrité D'ADN

L'intégrité de l'ADN est évaluée par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8 %, auquel sont ajoutés 4 µL de bromure d'éthidium (BET), un agent intercalant des acides nucléiques fluorescéant sous lumière UV.

Un volume de 5 µL de la solution d'ADN, préalablement mélangé à 1 µL de tampon de charge, est déposé dans les puits du gel. Par ailleurs, 1 µL de Ladder "marqueur de poids moléculaire" (GeneRuler 1 kb DNA Ladder) est chargée à chaque extrémité du gel afin de permettre l'estimation de la taille des fragments d'ADN.

La migration est effectuée pendant 30 minutes à une tension de 100 V. La visualisation des fragments est ensuite réalisée sous lumière UV à l'aide du système UV E-BOX VX2.

5. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Pour réaliser une réaction de PCR de 10 µL, on a préparé un mélange contenant les composants essentiels au déroulement de la PCR : 2,5 µL d'ADN, 5 µL de master mix (contenant la Taq polymérase, le tampon, les dNTPs et le MgCl₂), 1 µL d'eau ultra pure, ainsi que 1,5 µL de chaque paire d'amorces. Ce mélange sera ensuite utilisé pour amplifier la séquence d'ADN cible à l'aide de marqueurs moléculaires utilisés lors de la PCR.

Le programme utilisé suit le déroulement suivant (Annexe 06) :

Une première étape de dénaturation pendant 5 min à 94°C, puis 35 cycles comprenant : 30s à 95°C, 30s à 55°C ou 51°C ou à 61°C selon les SSR utilisés (**Tableau 03**), 30s à 72°C, et enfin, une dernière réaction d'elongation à 72°C pendant 10 min. Cette dernière étape permet de compléter la synthèse des molécules en cours d'elongation. 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.

6. SSR utilisés

Le tableau ci-dessous présente 08 marqueurs microsatellites (SSR) utilisés pour l'analyse génétique. Chaque marqueur est identifié par son nom, son locus sur le chromosome approprié, ainsi que les gènes de résistance (G/R) co-ségrégés à chaque marqueur (**tableau 03**). Les amores ainsi que les températures d'hybridation correspondantes utilisées dans notre analyse sont présentés en (**annexe 05**).

Tableau 03 : Listes de huit marqueurs SSR sélectionnés pour notre étude.

| Marqueur SSR | Chromosome | Gènes de résistance |
|--------------|------------|---|
| WMC44 | 1BL | Yr29, Lr46 (Rouille jaune et Rouille noire) |
| Barc8 | 1BS | Yr15 (Rouille jaune) |
| PSP2999 | 1A | Pm3g (Powdery mildew) Oïdium |
| PSP3000 | 1B | Yr10 (Rouille jaune) |
| CFA2040 | 7BL | Yr67, Yr52 (Rouille jaune) |
| Barc133 | 6B | FHB1 (Fusariose de l'épi) |
| WMC169 | 3AL | Sr 35 (Rouille brune) |
| GWM425 | 2AS | FHB (Fusariose de l'épi) |

7. Vérification de l'amplifiât par électrophorèse

Les résultats de PCR sont analysés avec des mini-gels horizontaux d'agarose à 1,5% préparés dans un tampon TBE 0,5X (**voir annexe**) avec une solution de bromure d'éthidium (BET à 4µl.) permettant la visualisation de l'ADN sous lumière ultraviolette (312 nm). 10 µl de produit de PCR sont déposés tour à tour dans les puits du gel avec un volume équivalent de tampon de charge et 5 µl de marqueur de taille moléculaire 100bp ladder (**voire annexe**). 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 VX.

Cependant, l'analyse des gels et le calcul des tailles des amplifias (produits PCR) sont réalisées par le logiciel **Gel analyzer ver. 23.1**.

Ainsi, pour le regroupement hiérarchique des variétés du blé dur homogènes, sur la base de leur similarité. Un dendrogramme est réalisé et obtenu en utilisant le logiciel **Python-3.13.5**.

*Résultats et
discussion*

Chapitre III : Résultat et discussion**1. Vérification de la quantité et la qualité des extraits d'ADN****1.1. Evaluation de la quantité des ADNs extrait**

Après l'extraction de l'ADN de nos variétés, on a fait une quantification des extraits par spectrophotométrie, en utilisant le Nanodrop2000, afin de connaître les concentrations de nos ADNs ainsi que leur pureté. Ensuite on a procédé à une dilution de nos échantillons pour atteindre une concentration finale de 200 ng/μl requise pour réaliser nos PCR. Le tableau suivant montre la concentration de chaque extrait et sa pureté.

Tableau 04 : Quantification des extraits d'ADN des 12 génotypes de blé dur étudiés.

| Variétés | | Conc. ADN (ng/μl) | A260/280 | A260/230 |
|-----------------|--------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|
| AL | Ain Lahma | 528,6 | 1,85 | 1,20 |
| BS | Bousselam | 698,3 | 1,9 | 1,61 |
| HAD | Hedba | 730,5 | 1,8 | 1,24 |
| DJ | Djenah-Khetifa | 577,7 | 1,80 | 1,34 |
| BD17 | Bidi17 | 471,3 | 1,80 | 0,78 |
| WB | Wahbi | 1195,8 | 1,64 | 1,07 |
| GTA | GTA DUR | 643,0 | 1,86 | 1,35 |
| WH | Waha | 1174,8 | 1,94 | 1,52 |
| OZ | Oued Zeneti 368 | 849,5 | 1,96 | 1,83 |
| MBB2 | MBB2 | 618,1 | 1,8 | 1,13 |
| SM | Simeto | 1035,1 | 2,00 | 1,79 |
| VTR | Hoggar (ex vitron) | 1034,1 | 1,95 | 1,67 |

La pureté de l'ADN a été déterminée à partir des rapports A260/A280 et A260/A230. Le rapport A260/A280 permet d'estimer une éventuelle contamination par les protéines ou les ARN.

La pureté des acides nucléiques peut être évaluée par le rapport d'absorbance A260/A280, qui est généralement de 2,0 pour l'ARN et de 1,8 pour l'ADN. Un écart significatif indique la présence probable de contaminants tels que les protéines ou les réactifs d'extraction (**Heptinstall et Rapley, 1997**).

* R : A260nm/A280nm

- ADN pur : $1,8 < R < 2$
- ADN contaminé par les protéines : $R < 1,8$
- ADN contaminé par les ARN : $R > 2$

Dans l'ensemble, tous les extraits présentent un rapport de pureté A260/A280 compris entre 1,8 et 2 excepté la variété Wahbi avec R = 1,64 et une concentration d'ADN élevée de 1195,8 ng/μl, ce qui correspond à un ADN pur.

Le rapport A260/A230 permet d'évaluer la présence de contaminants comme les polysaccharides, le phénol ou les sels. Une bonne pureté correspond à un ratio compris entre 2,0 et 2,2. Tous les échantillons ont un rapport A260/A230 inférieur à cette plage, ce qui indique une contamination par des substances organiques ou des sels qui n'affectent pas la PCR.

1.2. Evaluation de la qualité des extraits

L'analyse des résultats figurant dans le tableau 4, ainsi que l'observation des profils de migration électrophorétique illustrés par la figure 14, confirment que l'ADN a été extrait avec succès. La qualité est acceptable, bien qu'il y ait des dégradations apparentes compensées par la concentration élevée. Ces caractéristiques indiquent que nos extraits d'ADN sont utilisables pour des réactions de PCR à une concentration finale de 10 ng/μl.

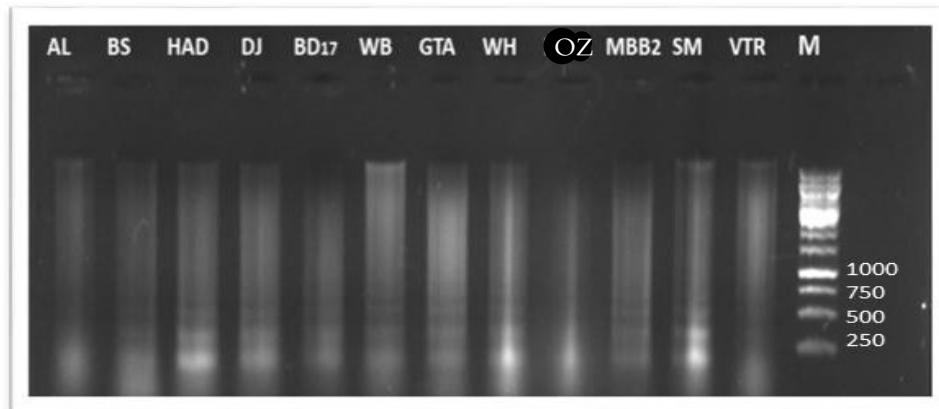


Figure 14 : Analyse de la qualité de 200 ng/μl des extraits d'ADN chez douze génotypes de blé dur par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8%, 100 V /30 min.

2. Analyse du polymorphisme des variétés du blé dur par SSR

2.1. Locus Xbarc8

Nous avons analysé le marqueur microsatellite Barc8 chez les 12 génotypes de blé dur en utilisant l'électrophorèse sur gel d'agarose. L'analyse à l'aide de logiciel gel Analyzer a révélé un total de 2 allèles différents, avec des tailles de 260 pb pour Simeto et Hoggar (Vitron) et 280 pb pour le reste, ce qui montre un faible polymorphisme de ce marqueur (figure 15).

En concordance avec la bibliographie, <https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Yr15> et <https://wheat.pw.usda.gov/cgi-bin/GG3/report.cgi?class=probe;name=BARC8> ce microsatellite présente deux allèles (260 bp and 280 bp) chez l'espèce sauvage *Triticum dicoccoides*.

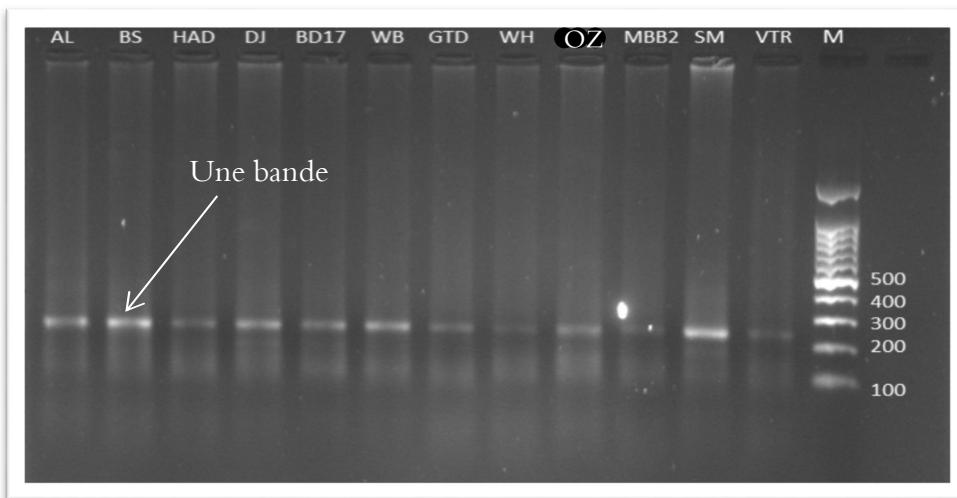


Figure 15 : Vérification de l'amplification du locus Xbarc8 chez 12 variétés de blé dur sur gel d'agarose à 1,5% (100V/45 min).

Dans l'ensemble et pour les 12 profils électrophorétiques analysés, on a enregistré la présence d'une seule bande, traduisant un génotype homozygote pour ce marqueur. Le marqueur microsatellite barc8 cartographié sur le bras court du chromosome 1B (1BS) est lié au gène de résistance Yr15. (**Mukhtar et al., 2015**) montre que Xbarc8 avec 9 cM et Xgwm413 avec 4.4 cM sont complètement liés à Yr15 dans une population de 136 lignées BC₇F₄, probablement en raison de la faible recombinaison autour de cette région génomique, issue pour la première fois de l'espèce sauvage *Triticum dicoccoides*.

La valeur du PIC (0,375) obtenue pour le marqueur barc8 est considérée comme modérée. Cela indique que le marqueur présente une polymorphie génétique moyenne entre les variétés.

2.2. Locus XBarc133

L'amplification du microsatellite Barc133, situé sur le chromosome 6B, et connu pour être étroitement lié au gène FHB1 associé à la résistance à la fusariose de l'épi, nous a permis de détecter deux allèles, un allèle de taille 120 pb et un deuxième allèle de taille 350 pb chez les 12 variétés du blé dur étudiées (figure 16).

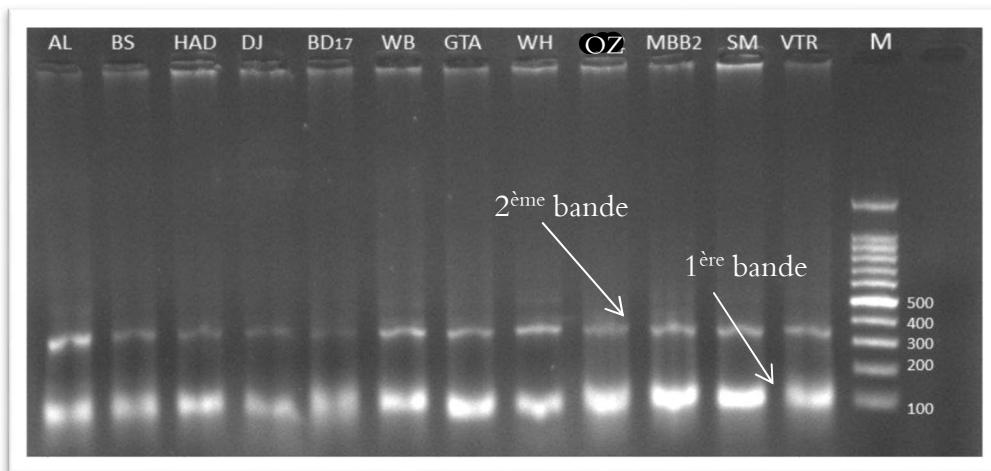


Figure 16 : Vérification de l'amplification du locus Xbarc133 chez 12 variétés de blé dur sur gel d'agarose de 1,5% (100V, 45 min).

Ces observations concordent avec celles de, (Buerstmayr et al., 2012) qui ont identifié le marqueur barc133 comme étant étroitement lié au QTL Fhb1, un locus majeur de résistance au *Fusarium* head blight situé sur le chromosome 3B. Dans leur étude, barc133 a montré une forte association avec la réduction de la sévérité de la maladie chez le blé tendre, ce qui suggère que ce marqueur peut également être utilisé pour le blé dur après validation.

Le Polymorphic Information Content (PIC) du marqueur Barc133 a été calculé en tenant compte des fréquences des allèles identifiés parmi les génotypes étudiés. La fréquence de chaque allèle a permis de déterminer une valeur de $\text{PIC} = 0,75$.

Cette valeur indique un haut niveau de polymorphisme, ce qui signifie que le marqueur possède une forte capacité à distinguer entre les génotypes. Plus la valeur du PIC est proche de 1, plus le marqueur est informatif. Ainsi, avec une valeur de 0,75 Barc133 est considéré comme hautement polymorphe, ce qui renforce son utilité dans les études de diversité génétique et les programmes de sélection assistée par marqueurs.

2.3. Locus XWMC169

Nous avons réalisé l'analyse du profil électrophorétique du microsatellite WMC169 à l'aide du logiciel GelAnalyzer, ce qui nous a permis de révéler la présence de deux à trois bandes pour les génotypes étudiés. Plus précisément, nous avons observé une bande de 90 pb pour toutes les variétés, une bande de 110 pb pour la majorité des génotypes sauf Ain Lahma, Djennah-Khetaifa et Mohamed Ben Bachir, une bande de 140 pb chez les six variétés (AL, BS, HAD, DJ, BD17 et WB), une bande de 150 pb pour les cinq génotypes (GTA, WH, OZ, SM et VTR) et une bande de 180 pb chez le génotype MBB2 (figure 17). Notant que

sur la base de données **MASWheat (UC Davis)** <https://maswheat.ucdavis.edu/>, il est indiqué que l'amplification de ce marqueur engendre deux bandes de tailles 143 ou 153 pb.

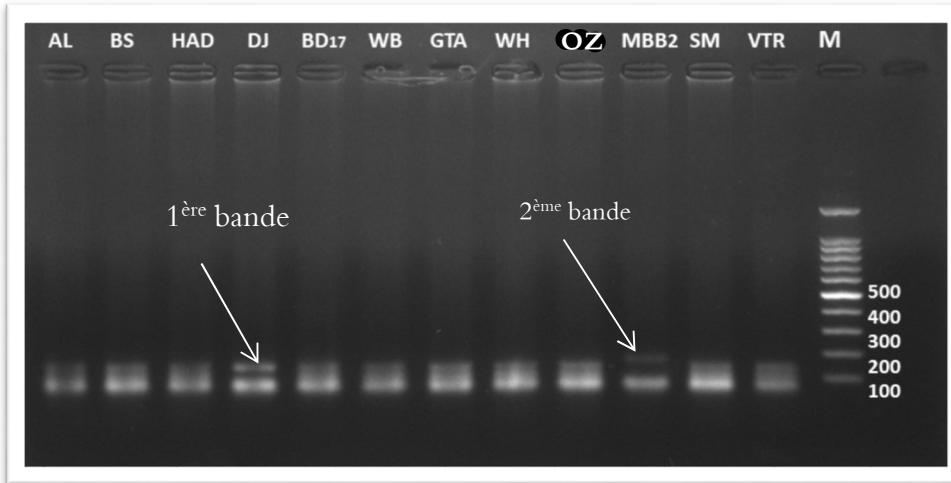


Figure 17 : Vérification de l'amplification du locus XWMC169 chez 12 variétés de blé dur sur gel d'agarose de 1,5% (100V, 45 min).

Néanmoins, tous les génotypes ont présenté deux à trois bandes simultanément pour le marqueur WMC169, ce qui aurait été révélateur d'un génotype hétérozygote. Bien que nous ayons détecté deux allèles distincts (140 pb et 150 pb) indiquant que ce marqueur est moyennement polymorphe, la bande de 180 pb qui caractérise la variété Mohamed Ben Bachir a fait l'exception.

Le PIC a été estimé à 0,5 ce qui signifie que le marqueur présentant un niveau moyen de polymorphisme.

Nous avons choisi d'utiliser le marqueur SSR WMC169, localisé sur le bras long du chromosome 3A, en raison de sa liaison génétique établie avec le gène de résistance à la rouille noire Sr35.

Zhang et al., (2010) ont réalisé la cartographie détaillée du Sr35, localisant ce gène dans un intervalle de 2,2–3,1 cM sur le bras long du chromosome 3A^m et démontré la co-localisation de WMC169 dans cette région chez des populations issues de *T. monococcum* × blé hexaploïde.

Saintenac et al., (2013) ont cloné le gène Sr35 (CNL9) et confirmé sa localisation sur 3AL, validant ainsi l'efficacité de WMC169 comme marqueur en position génétique proche – ce qui renforce sa valeur pour la MAS.

Ainsi, la base de données **MASWheat (UC Davis)** décrit l'origine de Sr35 et sa position sur 3AL, soulignant l'utilisation de marqueurs SSR, dont WMC169, dans ce fragment du génome *A monococcum*.

Nous constatons donc que l'emploi de WMC169 dans notre étude est pertinent pour la sélection assistée par marqueurs (MAS), car il permet d'identifier indirectement la présence du gène Sr35, facilitant ainsi l'introduction de la résistance contre Ug99 dans le matériel génétique étudié.

2.4. Locus XCFA2040

Dans notre analyse, on a amplifié ce marqueur chez les 12 génotypes de blé dur et on a pu identifier 8 allèles de tailles différentes (200, 220, 230, 260, 300, 310, 340 et 370 pb), ce qui reflète une diversité allélique importante. Bien que toutes les variétés ont présenté deux bandes révélant ainsi des génotypes hétérozygotes (figure 18).

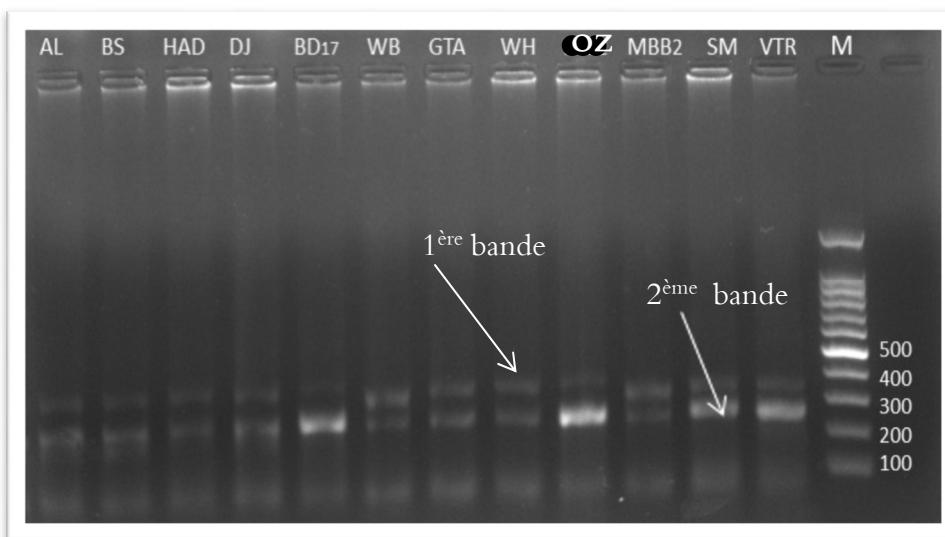


Figure 18 : Vérification de l'amplification du locus XCFA2040 chez 12 variétés de blé dur sur gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min).

Sur la base des fréquences allélique observées, on a calculé une valeur du PIC de 0,84, indiquant que ce marqueur est hautement polymorphe et informatif. Ainsi, on confirme que CFA2040 constitue un outil fiable pour la sélection assistée par marqueurs (MAS) visant l'amélioration de la résistance à la rouille jaune chez le blé.

Cependant, le microsatellite CFA2040 a été précédemment validé comme étant étroitement lié aux gènes de résistance à la rouille jaune Yr67 et Yr52, tous deux cartographiés sur le bras long du chromosome 7A. Des études de cartographie génétique ont démontré que ce marqueur est co-segrégant avec ces allèles de résistance à la rouille jaune, confirmant ainsi son association directe avec ces deux gènes. Cette variabilité génétique garantit l'utilité de ce marqueur dans la détection de la présence potentielle des gènes Yr67 et Yr52.

2.5. Locus Xgwm425

On a utilisé le marqueur microsatellite GWM425, localisé sur le bras court du chromosome 2AS, pour détecter les allèles associés au gène de résistance à la fusariose FHB chez les différentes variétés de blé dur étudiées. Deux allèles ont été identifiés : 120 et 140 pb (figure 19).

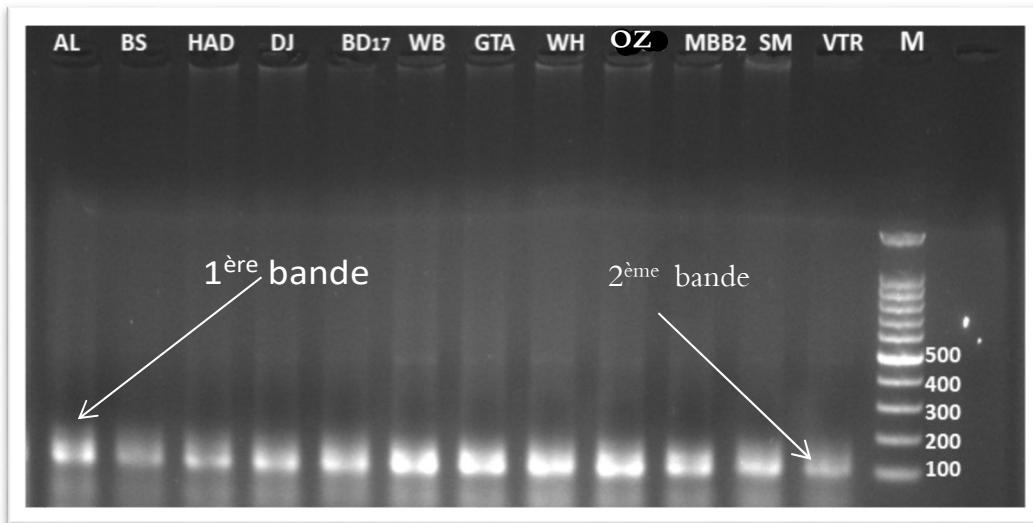


Figure 19 : Vérification de l'amplification du locus Xgwm425 chez 12 variétés de blé dur sur gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min).

Sur la base des profils électrophorétiques, on a observé trois génotypes : des variétés homozygotes à une seule bande de 120 pb (BS, HAD, DJ, BD17, WH, SM et VTR), une variété homozygote à une bande de 140 pb (GTA) et trois variétés hétérozygotes avec deux bandes de 120 et 140 pb (AL, OZ et MBB2). La présence de deux bandes chez les hétérozygotes indique une variabilité génétique et une possible transmission d'un seul allèle lié au gène recherché.

La valeur du PIC obtenue est de 0,49, indique un niveau de polymorphisme modéré, montrant que ce marqueur est suffisamment informatif pour différencier les génotypes.

2.6. Locus XPSP2999

Nous avons analysé le marqueur microsatellite PSP2999, lié au gène de résistance Pm3 (Powdery mildiou) contrôlant la résistance au mildiou et localisé sur le chromosome 1A, bras long (1AL), chez un ensemble de 12 variétés de blé dur. En observant sur la figure du gel d'agarose, la variété Djenah-Khetaifa ne présente aucune amplification visible, or aucune bande n'étant apparente à l'œil nu, soit une quantité d'ADN initiale insuffisante, soit encore une dégradation partielle du produit. L'analyse des 11 génotypes restants a permis d'identifier deux allèles (150 et/ ou 400 pb). La majorité des génotypes se sont révélés

homozygotes pour l'allèle de 150 pb, tandis que deux génotypes (Ain Lahma et Bousselem) présentaient un profil hétérozygote (150 et 400 pb) (figure 20).

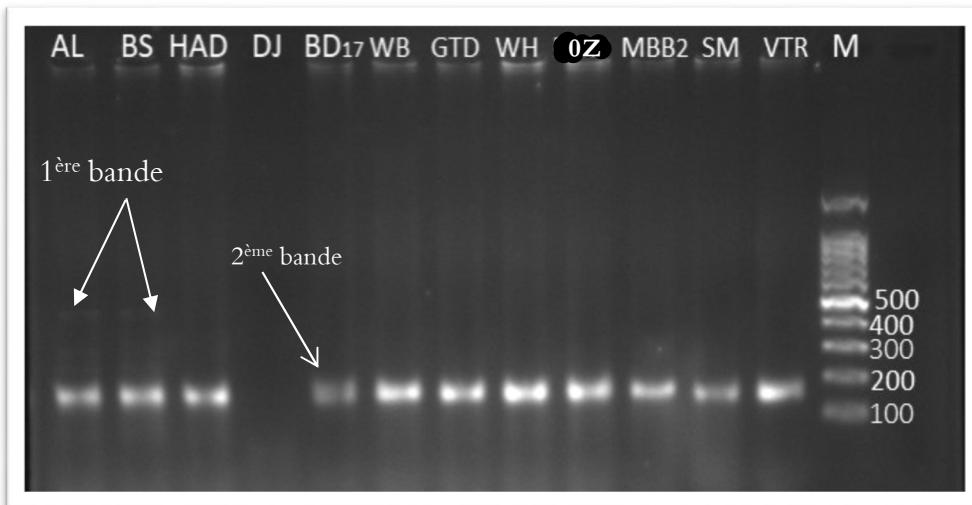


Figure 20 : Vérification de l'amplification du locus XPSP2999 chez 12 variétés de blé dur sur gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min).

L'analyse électrophorétique des produits PCR obtenus avec le marqueur SSR PSP2999 a révélé l'amplification d'un fragment de 150 pb chez la majorité des génotypes étudiés, notamment : AL, BS, HAD, BD17, WH, GTD, OZ, MBB2, SM et VTR.

Cette taille de fragment est en parfaite concordance avec les résultats rapportés par **Ouja et al., (2020)** et **Helguera et al., (2003)**, qui ont associé un fragment de 150 pb à la présence de l'allèle Pm3b, connu pour conférer une résistance efficace à *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (agent causal de l'oïdium chez le blé).

Par conséquent, ces génotypes constituent de potentiels porteurs du gène de résistance Pm3b, et pourraient être exploités dans les programmes d'amélioration génétique ciblant la résistance au mildiou chez le blé dur.

La valeur du PIC, estimée à 0.166, indique un faible polymorphisme pour ce marqueur dans le matériel végétal étudié. Selon (**Hildebrand et al., 1992**), une valeur de PIC supérieure à 0,7 est considérée comme hautement informative, tandis qu'une valeur autour de 0,44 est modérément informative.

2.7. Locus XPSP3000

Nous avons utilisé le marqueur microsatellite PSP3000, lié au gène de résistance Yr10 cartographié sur le chromosome 1B, afin de détecter la présence de ce gène chez nos génotypes de blé dur étudiés. Nous avons observé, à l'aide du logiciel Gel Analyzer, trois bandes de tailles variées 190, 210 et 220 pb (figure 21).

Les variétés présentant une seule bande de 220 pb (BS, HAD, DJ, OZ, MBB2 et SM) ont été identifiées comme homozygotes résistantes, tandis que celles présentant une bande de 190 ou 210 pb (AL, BD17, WH, GTD) ont été considérées comme homozygotes sensibles. Nous avons également détecté un profil hétérozygote chez la variété Hoggar (Vitron) qui montre deux bandes à 190 pb et 220 pb.

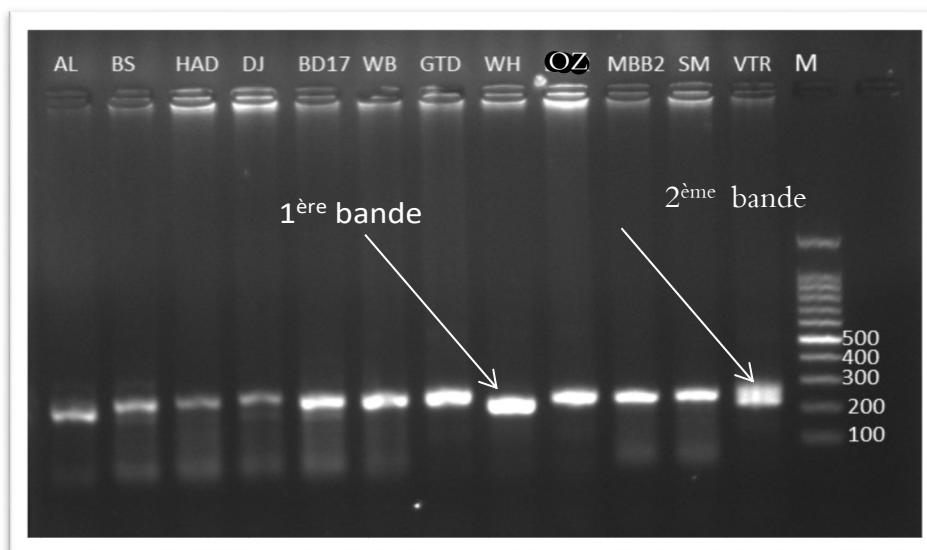


Figure 21 : Vérification de l'amplification du locus XPSP3000 chez 12 variétés de blé dur sur gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min).

Ainsi, nous avons pu distinguer clairement les différents génotypes, ce qui confirme que le marqueur PSP3000 est un outil efficace pour la sélection assistée par marqueurs ciblant le gène Yr10.

De plus, nous avons calculé la valeur du PIC (*Polymorphism Information Content*) pour ce marqueur en tenant compte de la diversité allélique observée. La valeur obtenue est de 0,586, ce qui montre que le marqueur PSP3000 est modérément à hautement polymorphe et donc suffisamment informatif pour notre étude et les études génétiques dans les programmes de sélection variétale.

Temel et al., (2008) confirme que Xpssp3000 est actuellement le seul marqueur disponible pour le gène Yr10, situé à 1,2 cM du gène sur le bras court du chromosome 1BS avec une amplification d'une bande de 260 pb chez le blé tendre.

Abbas et al., (2024) ont évalué une étude réalisée sur 349 génotypes au Pakistan et Chine, le marqueur PSP3000 a été utilisé pour détecter Yr10 parmi d'autres gènes. Cette étude récente montre l'efficacité du marqueur dans la caractérisation des génotypes résistants à la Rouille jaune.

2.8. Locus *Xwmc44*

On a utilisé le marqueur microsatellite WMC44, connu pour être étroitement lié aux gènes de résistance Yr29 (rouille jaune) et Lr46 (rouille brune), afin d'évaluer la présence ou l'absence de ces gènes chez nos variétés de blé dur étudiées.

L'analyse des profils de migration, obtenus après électrophorèse et interprétés à l'aide du logiciel Gel Analyzer, a révélé une diversité allélique intéressante au sein des génotypes étudiés. Parmi les 12 génotypes analysés, deux variétés (AL et WB) ont montré la présence de trois bandes distinctes, respectivement (140, 260 et 300 pb) et (230, 290 et 640 pb) alors que la variété BD17 a présenté deux bandes de 140 et 290 pb ce qui indique que ces génotypes sont hétérozygotes pour le marqueur WMC44. Les autres variétés, en revanche, ont présenté une seule bande variable de (260, 280, 290 ou 300 pb), ce qui témoigne d'un génotype homozygote (figure 22).

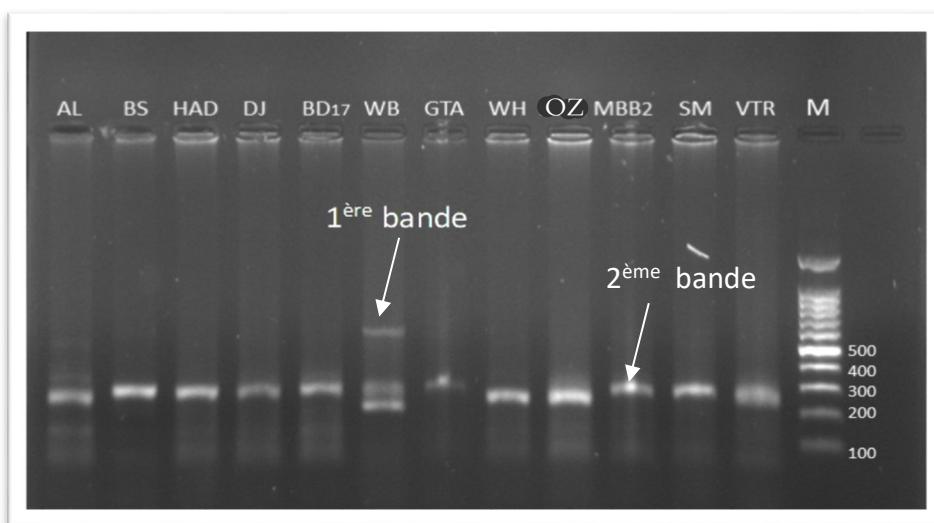


Figure 22 : Vérification de l'amplification du locus XPWMC44 chez 12 variétés de blé dur sur gel d'agarose de 1,5% (100V, 45min).

L'allèle de 260 pb, retrouvé chez AL, WH, OZ et VTR est le plus fréquent (avec 27,27 %), ce qui pourrait indiquer une association étroite avec la forme fonctionnelle du gène de résistance Yr29/Lr46 signalée par plusieurs références que la taille enregistrée pour ce marqueur est de 242 pb. **William et al., 2003 ; Suenaga et al., 2003** rapportent que la taille maximale généralement acceptée pour détecter l'allèle du gène Yr29/Lr46/Lr49 à

l'aide du marqueur WMC44 est de 260 pb. Cela suggère qu'ils pourraient contenir ce gène de résistance.

Les profils de bandes observés chez DJ, SM, BS, HAD et MBB2 (avec 280 ou 290 pb) suggèrent la présence de variants alléliques ou des amplifications non spécifiques.

Cependant, la variété Wahbi issue du croisement Waha/Bidi17 montre trois bandes distinctes dont une bande de 290 pb est commune avec le parent BD17 et les deux autres sont totalement différentes des deux parents. Le génotype GTA, avec une bande à 300 pb, semble totalement divergent, ce qui peut refléter l'absence de l'allèle de résistance ciblé.

En revanche, ces variétés (HAD, BS, DJ, SM, WB, BD17, MBB2 et GTA), dont les bandes sont plus longues (allant de 280 à 300 pb), sont susceptibles de ne pas porter ce gène ou d'en présenter des formes alléliques divergentes non favorables.

Cette variabilité allélique met en évidence la diversité génétique au locus WMC44 parmi les génotypes testés. L'identification de génotypes hétérozygotes est particulièrement utile pour les programmes de sélection assistée par marqueurs (MAS), notamment dans l'objectif d'introduire ou de pyramider les gènes Yr29 et Lr46 dans de nouvelles lignées élites.

Le marqueur microsatellite WMC44 a montré une valeur de PIC élevée de 0,74, ce qui indique un haut niveau de polymorphisme parmi les génotypes étudiés. Cette valeur est considérée comme très informative, selon la classification de **Botstein et al., (1980)** qui considère qu'un marqueur est hautement polymorphe lorsque $\text{PIC} > 0,5$.

3. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

La classification CAH permet le regroupement des sujets ou autres dans des groupes homogènes, sur la base de leur similarité et dissimilarité.

La méthode d'*UPGMA* (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) : est un procédé de classification hiérarchique agglomérative qui construit l'arbre en fusionnant les groupes les plus proches à chaque étape.

La distance de Jaccard : est une mesure adaptée aux données binaires (présence/absence), (**voir les tableaux sur annexe**) des matrices binaires. Elle reflète la proportion d'éléments non partagés entre deux ensembles.

Le dendrogramme obtenu à partir de la méthode *UPGMA* et de la distance de Jaccard permet de visualiser les relations de dissimilarité génétique entre nos variétés de blé dur étudiées. Cette représentation met en évidence trois groupes (Clusters) principaux, chacun correspondant à un niveau de similarité différent (figure 23).

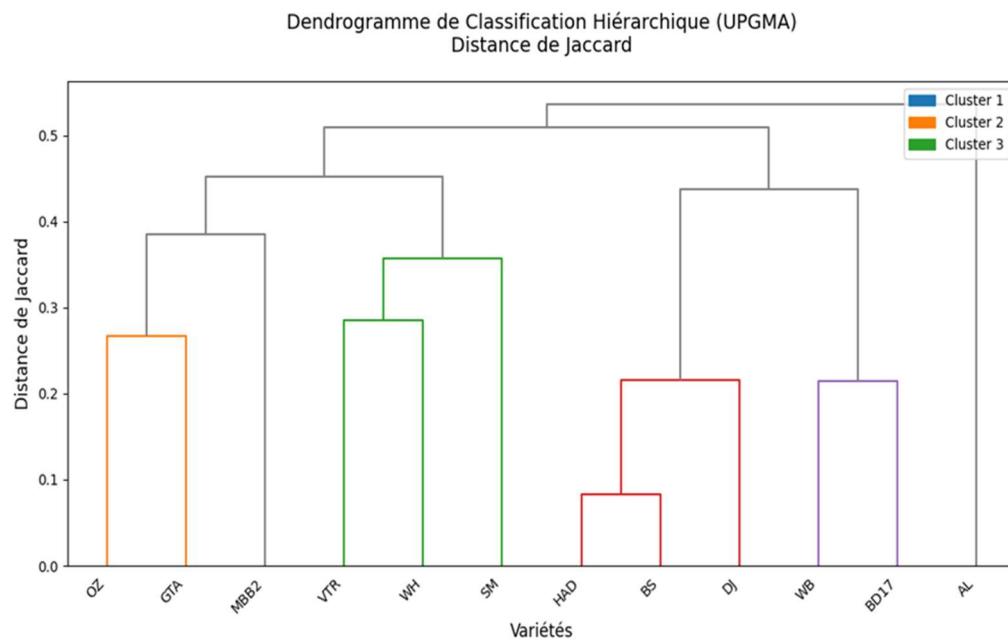


Figure 23 : Dendrogramme de classification UPGMA des 12 variétés de blé dur étudiées.

Ce dendrogramme montre comment les différentes variétés se regroupent en fonction de leur similarité génétique en se basant sur les 8 marqueurs utilisés. Les variétés qui sont regroupées à une faible hauteur sur l'axe y (Distance de Jaccard) sont les plus similaires.

Sur l'axe horizontal (x) on trouve les différentes variétés analysées, alors que l'axe vertical (y) représente la distance de Jaccard, qui mesure la dissimilarité entre les variétés. Plus la distance est grande, plus les variétés sont différentes.

Le dendrogramme est divisé en trois groupes (Clusters), ces 3 clusters distincts permettent de structurer la diversité génétique des variétés.

- **Cluster 1 :** Wahbi, Bidi17 et Ain Lahma.
 - **Cluster 2 :** Oued Zenati368, GTA/DUR, Hedba3, Bousselem et Djenah-Khetifa.
 - **Cluster 3 :** Waha, Hoggar (Vitron), Simeto et Mohamed Ben Bachir.
- **Cluster 1 :** Cluster génétiquement distinct des deux autres, avec une plus grande distance inter-cluster (distance > 0.5 par rapport aux autres groupes).
- ⇒ Wahbi et Bidi17 sont proches (distance $\approx 0.15-0.2$). Si la distance est faible (0.05 - 0.2), les variétés sont très similaires car ce sont des géniteurs proches.
 - ⇒ Ain Lahma est un peu plus éloignée mais reste incluse dans ce cluster (distance ≈ 0.4). Elle peut représenter une variété plus originale et distincte, donc précieuse pour l'introgression de nouveaux traits.

En conséquence, avec des distances moyennes (0.25 - 0.4), les variétés sont considérées apparentées avec quelques différences. Lors que les distances sont élevées (> 0.5), les groupes sont bien distincts et la recombinaison entre eux peut créer de la variabilité.

- **Cluster 2 :**

- ⇒ Hedba3 et Bousselem sont presque identiques (distance ≈ 0.05), probablement très proches génétiquement ou présentant des profils moléculaires très similaires.
- ⇒ Djenah-khetifa se réuni ensuite à Hedba3 et Bousslem, indiquant une proximité forte.
- ⇒ Oued Zenati368 et GTA/DUR forment un autre sous-cluster (distance ≈ 0.25), eux aussi proches mais moins que Hedba3 et Bousselem.

Toutefois, les deux sous-groupes fusionnent à une distance intermédiaire (~ 0.35), suggérant une cohérence génétique globale dans ce cluster. Il contient des variétés locales (Hedba3, Oued Zenati368 et Djenah-Khetifa) issues des anciennes sélections ou ayant des origines communes. Ceux-ci constituent un fort potentiel pour des croisements, si on cherche à conserver une certaine homogénéité.

- **Cluster 3 :** Ce cluster semble modérément homogène.

- ⇒ Simeto et Mohamed Ben Bachir sont très proches (distance ≈ 0.2), ce qui indique un haut degré de similarité pour les profils des marqueurs utilisés.
- ⇒ Waha et Hoggar (Vitron) rejoignent ensuite ce noyau, à une distance légèrement plus grande ($\sim 0.3-0.35$).

Ces variétés peuvent partager certains caractères communs, mais avec un peu plus de diversité interne que dans le cluster 2.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Au cours de cette étude, nous avons analysé le polymorphisme génétique de 8 marqueurs SSR liés à la résistance aux maladies fongiques chez 12 variétés de blé dur.

À l'issue de ce travail, on peut conclure que les marqueurs microsatellites choisis présentent un pouvoir informatif modéré à élevé pour décrire la variabilité génétique de la résistance des génotypes étudiés aux maladies fongique ciblées. Ils peuvent néanmoins être proposés à des fins d'identification et de caractérisation des variétés de blé dur algériennes locales ou d'introductions.

En effet, nous avons pu identifier et exploiter le polymorphisme des huit microsatellites associés à des gènes de résistance aux maladies des rouilles, de l'oïdium et de la fusariose de l'épi des 12 variétés de blé dur étudiées, afin de les recommander dans les programmes nationaux de sélection assistée par marqueurs.

Cependant, nous avons constaté que le marqueur Wmc44 (PIC = 0,50), lié aux gènes de résistance aux rouilles jaune (Yr29) et brune (Lr46), ainsi que les marqueurs Gwm425 (PIC = 0,49) et Barc133 (PIC = 0,75), associés au gène de résistance à la fusariose de l'épi (*Fusarium head blight*, FHB), présentent un fort potentiel de variabilité chez les génotypes étudiés.

De plus, la majorité des variétés de blé dur analysées possèdent les gènes de résistance aux maladies cryptogamiques concernées par cette étude et liés aux ; locus XPsp2999 (PIC = 0,16) pour le gène de résistance à l'oïdium (Pm3g), aux marqueurs Psp3000 (PIC = 0,58) et Barc8 (PIC = 0,37) pour les gènes de résistance à la rouille jaune (Yr10 et Yr15 respectivement) et au locus XWmc169 (PIC = 0,50) pour le gène de résistance à la rouille brune (Sr35).

Nos résultats suggèrent que les cultivars étudiés présentent un potentiel intéressant pour les programmes d'amélioration visant à renforcer la résistance à ces maladies, ainsi qu'à élargir la diversité génétique, afin de développer de nouvelles variétés plus performantes et mieux adaptées aux contraintes biotiques.

La caractérisation moléculaire des génotypes du blé dur, en utilisant les SSR, revêtent une importance capitale pour la préservation et la valorisation des ressources génétiques locales. En effet, elles contribuent non seulement à une meilleure connaissance de la

Conclusion et perspectives

diversité existante, mais aussi à la défense des droits de l'obtenteur et à la protection des variétés. Ainsi, ces informations constituent un outil clé pour garantir la traçabilité, l'authentification et la reconnaissance officielle des génotypes homologués dans le cadre de la création et de la commercialisation de nouvelles variétés.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abécassis, J., Massé, J., & Allaoua, A. (2021). Blé dur : synthèse des connaissances pour une filière durable. Quae.
- Abbas, S., Li, Y., Lu, J., Hu, J., Zhang, X., Lv, X., ... & Fayyaz, M. (2024). Evaluation of stripe rust resistance and analysis of resistance genes in wheat genotypes from Pakistan and Southwest China. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1494566.
- Avise, J. C. (2012). Molecular markers, natural history and evolution. Springer Science & Business Media.
- Bennett, F. G. (1984). Resistance to powdery mildew in wheat: a review of its use in agriculture and breeding programmes. *Plant pathology*, 33(3).
- Bonjean, A. (2001). Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Dossier de l'environnement de l'INRA, 9.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32(3), 314.
- Buerstmayr, M., Huber, K., Heckmann, J., Steiner, B., Nelson, J. C., & Buerstmayr, H. (2012). Mapping of QTL for Fusarium head blight resistance and morphological and developmental traits in three backcross populations derived from *Triticum dicoccum* × *Triticum durum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 125, 1751-1765.
- Cabas-Lühmann, P., Arriagada, O., Matus, I., Marcotuli, I., Gadaleta, A., & Schwember, A. R. (2023). Comparison of durum with ancient tetraploid wheats from an agronomical, chemical, nutritional, and genetic standpoints: a review. *Euphytica*, 219(6), 61.
- Chambre régionale d'agriculture des Pays de la Loire / Arvalis-Institut du végétal, (2009). Maladies des céréales Les reconnaître et décider.
- Charmet, G. (2011). Wheat domestication: lessons for the future. *Comptes rendus biologies*, 334(3), 212-220.
- Chartrain, L., Brading, P. A., Widdowson, J. P., & Brown, J. K. M. (2004). Partial resistance to *Septoria tritici* blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in wheat cultivars Arina and Riband. *Phytopathology*, 94(5), 497-504.
- Daoui, M. (2021). Etude de l'effet du travail du sol sur la mycorhization du blé dur *Triticum durum* Desf (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Diallo, I. (2002). Etude de la biologie de la reproduction et de la variabilité génétique chez le jujubier (*Zizyphus mauritiana* Lam.) (Doctoral dissertation, Thèse doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar).
- Dimitrios, A. (2023). Durum wheat: uses, quality characteristics, and applied tests.

Références bibliographiques

- Djekoun, A., & Ykhlef, N. (1996). Déficit hydrique, effets stomatiques et non-stomatiques et activité photosynthétique chez quelques génotypes de blé Tétraploïdes. 3ème Réunion du réseau SEWANA, de blé dur IAV HASSAN II.
- Dvořák, J. (1983). The origin of wheat chromosomes 4A and 4B and their genome reallocation. Canadian Journal of Genetics and Cytology, 25(3), 210-214.
- Elfalalah, M., Chalbi, N., & El Guazzah, M. (1991). Analyse de l'adaptation a l'aridité de quelques ressources génétiques locales d'orge (*Hordeum vulgare L.*) comparativement a des variétés améliorées.
- ElMourid, M. (1988). Performance of wheat and barley cultivars under different soil moisture regimes in a semi-arid region.
- Ezzahiri, B. (2001). Les maladies du blé: identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Bulletin de transfert de technologie en agriculture, 77, 1-4.
- Ezzahiri, B. (2010). Maladies fongiques foliaires du blé. Agriculture du Maghreb, (41), 66-74.
- Fich, E. A., Segerson, N. A., & Rose, J. K. (2016). The plant polyester cutin: biosynthesis, structure, and biological roles. Annual review of plant biology, 67(1), 207-233.
- Foulkes, M. J., Paveley, N. D., Worland, A., Welham, S. J., Thomas, J., & Snape, J. W. (2006). Major genetic changes in wheat with potential to affect disease tolerance. Phytopathology, 96(7), 680-688.
- Gouache, D., Bancal, M. O., Bancal, P., De Solan, B., & Gate, P. (2014). Tolérance du blé tendre aux stress biotiques et abiotiques. Innovations Agronomiques, 35, 75-87.
- Gupta, P. K., & Varshney, R. K. (2000). The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. Euphytica, 113(3), 163-185.
- Helfer, S. (2014). Rust fungi and global change. New phytologist, 201(3), 770-780.
- 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.
- Hildebrand, C. E., Torney, D. C., & Wagner, R. P. (1992). Informativeness of polymorphic DNA markers. Los Alamos Science, 20(20), 100-102.
- Inuma, T., Khodaparast, S. A., & Takamatsu, S. (2007). Multilocus phylogenetic analyses within *Blumeria graminis*, a powdery mildew fungus of cereals. Molecular phylogenetics and evolution, 44(2), 741-751.

Références bibliographiques

- Inuma, T., Khodaparast, S. A., & Takamatsu, S. (2007). Multilocus phylogenetic analyses within *Blumeria graminis*, a powdery mildew fungus of cereals. *Molecular phylogenetics and evolution*, 44(2), 741-751.
- Jarrige, J. F., & Meadow, R. H. (1980). The antecedents of civilization in the Indus Valley. *Scientific American*, 243(2), 122-137.
- Jones, N., Ougham, H., & Thomas, H. (1997). Markers and mapping: we are all geneticists now. *The New Phytologist*, 137(1), 165-177.
- Kamoshita, A., Babu, R. C., Boopathi, N. M., & Fukai, S. (2008). Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. *Field crops research*, 109(1-3), 1-23.
- Kordrostami, M., & Rahimi, M. (2015). Molecular markers in plants: concepts and applications. *Genet. 3rd Millenn.*, 13, 4024-4031.
- Lesage, V. (2011). Contribution à la validation fonctionnelle du gène majeur contrôlant la dureté/tendreté de l'albumen du grain de blé par l'étude de lignées quasi-isogéniques (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- Nehali Sarra, D. H. (2016). Contribution à l'évaluation du comportement de quelques lignées de blé tendre aux maladies cryptogamiques de champs.
- Prescott, J. M., Burnett, P. A., Saari, E. E., Ransom, J., Bowman, J., Milliano, W. S. R., & Bekele, G. (1986). Wheat diseases and pests. A guide to field identification CIMMYT Mexico, 135.
- Rasheed, A., & Xia, X. (2019). From markers to genome-based breeding in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 132, 767-784.
- Rasool, F., Kaundal, C., Kaur, A., Dar, J. A., & Shiva, B. Bridging Science And Agricultural Resilience.
- Sabouri, H., Alegh, S. M., Sahranavard, N., & Sanchouli, S. (2022). SSR linkage maps and identification of QTL controlling morpho-phenological traits in two Iranian wheat RIL populations. *BioTech*, 11(3), 32.
- Samarah, N. H. (2005). Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agronomy for sustainable development*, 25(1), 145-149.
- Sauvage, C. (2008). Développement de marqueurs moléculaires liés à la résistance à la mortalité estivale chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*-approche QTL (Doctoral dissertation, Université de La Rochelle).
- Shazia Mukhtar, S. M., Khan, M. A., Paddar, B. A., Azra Anjum, A. A., Gul Zaffar, G. Z., Mir, S. A., ... & Kamaluddin, K. (2015). Molecular characterization of wheat germplasm for

Références bibliographiques

stripe rust resistance genes (Yr5, Yr10, Yr15 & Yr18) and identification of candidate lines for stripe rust breeding in Kashmir.

Singh, R. P., Hodson, D. P., Huerta-Espino, J., Jin, Y., Bhavani, S., Njau, P., ... & Govindan, V. (2011). The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production. *Annual review of phytopathology*, 49(1), 465-481.

Singh, R. P., Singh, P. K., Rutkoski, J., Hodson, D. P., He, X., Jørgensen, L. N., ... & Huerta-Espino, J. (2016). Disease impact on wheat yield potential and prospects of genetic control. *Annual review of phytopathology*, 54(1), 303-322.

Singh, R. P., William, H. M., Huerta-Espino, J., & Rosewarne, G. (2004, September). Wheat rust in Asia: meeting the challenges with old and new technologies. In *Proceedings of the 4th international crop science congress* (Vol. 26, pp. 1-13). Brisbane, Australia: Published in CDROM.

Song, L., Wang, R., Yang, X., Zhang, A., & Liu, D. (2023). Molecular markers and their applications in marker-assisted selection (MAS) in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agriculture*, 13(3), 642.

Temel, A., Sentürk-Akfirat, F., Ertugrul, F., Yumurtaci, A., Aydýn, Y., Talas-Ogras, T., ... & Uncuoglu, A. A. (2008). Yr10 gene polymorphism in bread wheat varieties. *African Journal of Biotechnology*, 7(14).

Verma, S., Nizam, S., & Verma, P. K. (2013). Biotic and abiotic stress signaling in plants. *Stress signaling in plants: genomics and proteomics perspective*, volume 1, 25-49.

Winter, P., & Kahl, G. (1995). Molecular marker technologies for plant improvement. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11, 438-448.

Wise, K., Woloshuk, C., & Freije, A. (2015). Fusarium Head Blight (Head Scab). *Diseases of Wheat*. C. Woloshunk. West Layfayette, Indiana, Purdue Extension.

Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., & Wang, P. (2021). Regulation of plant responses to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4609.

Annexes

Listes des annexes

Annexe 01. Méthode d'extraction d'ADN

Annexe 02. Composition du gel d'agarose à 0,8%.

Annexe 03. Composition de mélange Mix2X

Annexe 04. Composition de Tampon d'extractions 50ml

Annexe 05. Le programme PCR

Annexe 06. Préparation du gel d agarose 1,5% une plaque

Annexe 07. Préparation du tampon de charge 10X

Annexe 08. Les Différentes étapes d'analyse des 12 Variétés de blé dur par les SSR.

Annexe 09. Liste des huit marqueurs SSR

Annexe 10. Tableau de marqueur Barc8 obtenu par Gel Analyser

Annexe 11. Tableau de marqueur PSP2999 obtenu par Gel Analyser

Annexe 12. Tableau de marqueur PSP3000 obtenu par Gel Analyser

Annexe 13. Tableau de marqueur WMC44 obtenu par Gel Analyser.

Annexe 14. Tableau de marqueur Barc133 obtenu par Gel Analyser

Annexe 15. Tableau de marqueur CFA2040 obtenu par Gel Analyser

Annexe 16. Tableau de marqueur GWM425 obtenu par Gel Analyser

Annexe 17. Tableau de marqueur WMC169 obtenu par Gel Analyser

Annexe 18. Fiche technique du marqueur 100 Pb

Annexe 19. Fiche technique du marqueur de taille utilisé de 1Kb

Annexe 20. Tableaux Présence (1)/Absence (0) des bandes obtenues pour les 08 amores

Annexe 01 : Méthode d'extraction selon (Edwards et al., 1991) *modifiée*

- Ajouter 1ml de tampon d'extraction 50ml au broyat dans un tube Eppendorf.
- Vortexer les tubes pour bien homogénéiser.
- Incuber les tubes à 65°C pendant 10 à 15 min.
- Laisser les tubes à température ambiante pendant 5 minutes.
- Centrifuger à 13 000 rpm pendant 2 min.
- Prélever 800ul de surnageant et le transférer dans un nouveau tube contenant 500 µl d'isopropanol.
- Mélanger par inversion douce pour précipiter l'ADN (il apparaît sous forme de filaments visibles).
- Centrifuger à 13 000 rpm pendant 10 min à 4°C.
- Décanter le surnageant et conserver le culot d'ADN.
- Remettre en suspension le culot d'ADN dans 500 µl d'éthanol à 70%.
- Centrifuger à 13 000 rpm pendant 5 minutes à 4°C.
- Jeter le surnageant.
- Sécher le culot d'ADN à l'air libre pendant 5 minutes.
- Ajouter 100 µl d'(H₂O Ultra Pure) au culot.

Annexe 02 : Composition du gel d'agarose pour la vérification de la quantité d'ADN à 0,8% (migration pendant 30min).

| | |
|---|--------------|
| Agarose | 0,8g |
| TBE | 100ml |
| BET pour favoriser la révélation | 4ul |

Annexe 03 : Fiche technique Mix 2X.



Biomatik
Tel: (519) 489-7195, (800) 836-8089
Fax: (519) 231-0140, (877) 221-3515
Email: info@biomatik.com
<http://www.biomatik.com>

Product Information

Version 1.1(ds), Revision 2012-12-07

Product: Taq PCR Master Mix, 2X, 25 µl/RXN

Catalog number: A4145

Grade: Molecular Biology

Description

Taq PCR Master Mix is a premixed, ready-to-use solution containing Taq DNA Polymerase, dNTPs, Mg²⁺ and Reaction Buffer at optimal concentrations for efficient amplification of DNA templates by PCR. To prepare the final PCR, only primers and template DNA are added. This pre-mixed formulation saves time and reduces contamination due to the fewer pipetting steps required for PCR set up. The mix retains all features of Taq DNA Polymerase.

Taq DNA Polymerase is a thermostable recombinant DNA polymerase derived from thermophilic bacterium *Thermus aquaticus*. Its molecular weight is 94 kDa. Taq DNA Polymerase can amplify DNA target up to 5 kb simple (template). The elongation velocity is 0.9~1.2kb/min (70~75 °C). It has 5' to 3' polymerase activity but lacks of 3' to 5' exonuclease activity that results in a 3'-dA overhangs PCR product.

Composition of the 2XTaq Master Mix

0.25U/µl Taq DNA polymerase, 2X PCR buffer, 0.4mM dNTPs, 3.2 mM MgCl₂, 0.02% bromophenol blue.

Taq mix buffer is a proprietary formulation optimized for robust performance in PCR.

Features and Benefits

- Convenient : only primers and template DNA are added when prepare final PCR
- High yields of PCR products with minimal optimization.
- High efficiency: saving your time by simplifying the process
- Reproducible -lower contamination and pipetting error risk.

Applications

- High throughput PCR.
- Routine PCR with high reproducibility
- Generation of PCR products for TA cloning

Quality Control

The absence of endodeoxyribonucleases, exodeoxyribonucleases and ribonucleases is confirmed by appropriate quality tests. Functionally tested in amplification of a single-copy gene from human genomic DNA.

Endodeoxyribonuclease Assay

No detectable conversion of covalently closed circular DNA to a nicked DNA was observed after incubation of 25µl Taq PCR Master Mix (2X) with 1µg pBR322 DNA in 50µl for 4 hours at 37°C and 70°C.

Exodeoxyribonuclease Assay

No detectable degradation of lambda DNA-HindIII fragments was observed after incubation of 25µl Taq PCR Master Mix (2X) with 1µg digested DNA in 50µl for 4 hours at 37°C and 70°C.

Ribonuclease Assay

0% of the total radioactivity was released into trichloroacetic acid-soluble fraction after incubation of 25µl Taq PCR Master Mix (2X) with 1µg E.coli [3H]-RNA (40000cpm/µg) in 50µl for 4 hours at 37°C and 70 °C.

Storage Conditions

Keep at -20 °C for long term storage. Taq 2X Master Mix is stable at 4 °C for three months or for fifteen freeze-thaw cycles. For daily use, we recommend keeping an aliquot at 4 °C.

Annexe 04 : Composition de Tampon d'extractions **50ml.**

| | |
|--------------------------|----------------|
| Tris | 10ml |
| Na Cl | 2,5ml |
| EDTA | 2,5 ml |
| SDS | 2,5 ml |
| H₂O up | 32,5 ml |

Annexe 05 : Le programme PCR

| Étape | Température (°C) | Durée | |
|---------------------|------------------|-------|----------|
| Dénaturation totale | 94°C | 5min | |
| Hybridation | 94°C | 30S | 35Cycles |
| | 55°C | 30S | |
| | 72°C | 30S | |
| Elongation finale | 72°C | 10min | |

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

- L'amorce **Barc8** : Hybridation 51°C, 35cycles
- L'amorce **WMC 44** : Hybridation 61°C, 35 cycles
- Les amores **PSP2999/ PSP3000/ Barc133/ CFA2040/ GWM425/ et WMC169** : Hybridation 55°C ,35 cycles.

Annexe 06 : Préparation du gel d agarose 1,5% (une plaque) (migration pendant 45min)

| | |
|----------------|--------------|
| Agarose | 1,5g |
| TBE | 100ml |
| B ET | 4ul |

Annexe 07: Préparation du tampon de charge 10X.

Pour un 1L de TBE :

| Composant | Quantité |
|----------------|----------|
| Tampon TBE 10X | 50ml |
| Eau distillée | 950ml |
| Volume final | 1000ml |

Annexe 08 : Les Différentes étapes d'analyse des 12 Variétés de blé dur par les SSR.



Annexe 09 : Liste des huit marqueurs SSR

| Marqueurs SSR | Primers | Ta |
|---------------|---|------|
| WMC44 F | 5'GGT-CTT-CTG-GGC-TTT-GAT-CCT-G3' | 61°C |
| WMC44 R | 5'TGT-TGC-TAG-GGA-CCC-GTA-GTG-G3' | |
| Barc8 F | 5'GCG-GGA-ATC-ATG-CAT-AGG-AAA-ACA-GAA3' | 51°C |
| Barc8 R | 5'GCG-GGG-GCG-AAA-CAT-ACA-CAT-AAA-AAC3' | |
| PSP2999 F | 5'TCC-CGC-CAT-GAG-TCA-ATC3' | 55°C |
| PSP2999 R | 5'TTG-GGA-GAC-ACA-TTG-GCC3' | |
| PSP3000 F | 5'GCA-GAC-CTG-TGT-CAT-TGG-TC3' | 55°C |
| PSP3000 R | 5'GAT-ATA-GTG-GCA-GCA-GGA-T3' | |
| CFA2040 F | 5'TCAAATGATTCAGGTAAACCACTA3' | 55°C |
| CFA2040 R | 5'TTCCTGATCCCACCAAACAT3' | |
| Barc133 F | 5'TGGAGGTTGGGAGTTAGGAA3 | 55°C |
| Barc133 R | 5'GGCGTAGGCTTGGTGAGTT3' | |
| WMC169 F | 5'TACCCGAATCTGGAAAATCAAT3' | 55°C |
| WMC169 R | 5'TGGAAGCTTGCTAACTTGGAG3' | |
| GWM425 F | 5'GAGAGAGAGAGAGAGAGAG3' | 55°C |
| GWM425 R | 5'CTCTCTCTCTCTCTCTCTC3' | |

Annexe 10 : Tableau de marqueur Barc8 obtenu par Gel Analyser

| Valeur PM(Pb) | AL | BS | HAD | DJ | BD17 | WB | GTD | WH | BTL2 | MBB2 | SM | VTR |
|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Bandé1 | 280 | 250 | 250 |

Annexe 11 : Tableau de marqueur PSP2999 obtenu par Gel Analyser

| Valeur PM(Pb) | AL | BS | HAD | DJ | BD17 | WB | GTD | WH | BTL2 | MBB2 | SM | VTR |
|---------------|------------|------------|------------|----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Bandé1 | 150 | 150 | 150 | | 150 |
| Bandé2 | 400 | 400 | | | | | | | | | | |

Annexe 12 : Tableau de marqueur PSP3000 obtenu par Gel Analyser

| Valeur PM(Pb) | AL | BS | HAD | DJ | BD17 | WB | GTD | WH | BTL2 | MBB2 | SM | VTR |
|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Bandé1 | 190 | 220 | 220 | 220 | 210 | 210 | 210 | 190 | 220 | 220 | 220 | 190 |
| Bandé2 | | | | | | | | | | | | 220 |

Annexe 13 : Tableau de marqueur WMC44 obtenu par Gel Analyser.

| Valeur PM(Pb) | AL | BS | HAD | DJ | BD17 | WB | GTD | WH | BTL2 | MBB2 | SM | VTR |
|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Bandé1 | 300 | 280 | 280 | 280 | 290 | 640 | 300 | 260 | 260 | 290 | 290 | 260 |
| Bandé2 | 260 | | | | 140 | 290 | | | | | | |
| Bandé 3 | 140 | | | | | 230 | | | | | | |

Annexe 14 : Tableau de marqueur Barc133 obtenu par Gel Analyser

| Valeur PM(Pb) | AL | BS | HAD | DJ | BD17 | WB | GTD | WH | OZ | MBB2 | SM | VTR |
|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Bandé1 | 350 |
| Bandé2 | 120 |

Annexe 15 : Tableau de marqueur CFA2040 obtenu par Gel Analyser

| Valeur PM(Pb) | AL | BS | HAD | DJ | BD17 | WB | GTD | WH | OZ | MBB2 | SM | VTR |
|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Bandé1 | 310 | 310 | 310 | 310 | 370 | 300 | 340 | 340 | 370 | 300 | 310 | 310 |
| Bandé2 | 200 | 200 | 200 | 200 | 230 | 230 | 230 | 220 | 230 | 220 | 260 | 260 |

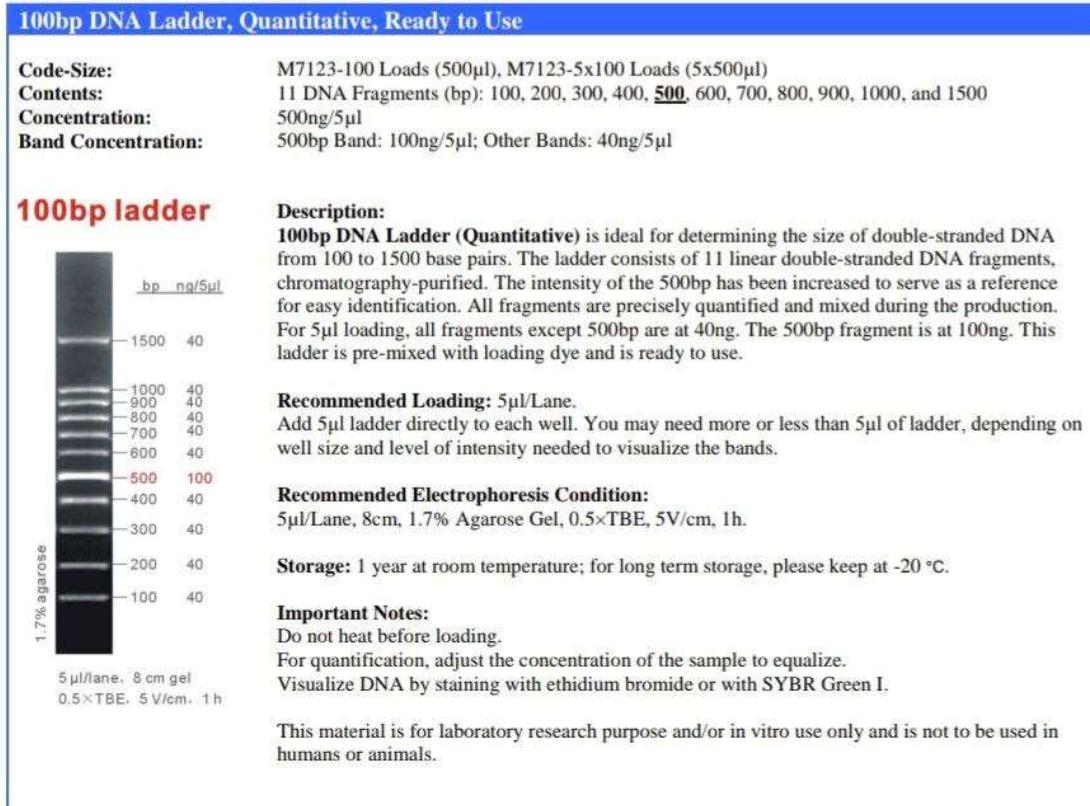
Annexe 16 : Tableau de marqueur GWM425 obtenu par Gel Analyser

| Valeur PM(Pb) | AL | BS | HAD | DJ | BD17 | WB | GTD | WH | OZ | MBB2 | SM | VTR |
|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Bandé1 | 140 | 120 | 120 | 120 | 120 | 120 | 140 | 120 | 140 | 140 | 120 | 120 |
| Bandé2 | 120 | | | | | | 120 | | 120 | 120 | | |

Annexe 17 : Tableau de marqueur WMC169 obtenu par Gel Analyser

| Valeur PM(Pb) | AL | BS | HAD | DJ | BD17 | WB | GTD | WH | OZ | MBB2 | SM | VTR |
|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Bandé1 | 140 | 140 | 140 | 140 | 140 | 140 | 150 | 150 | 150 | 180 | 150 | 150 |
| Bandé2 | 90 | 110 | 110 | 90 | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 90 | 110 | 110 |
| Bandé 3 | | 90 | 90 | | 90 | 90 | 90 | 90 | 90 | | 90 | 90 |

Annexe 18 : Fiche technique du marqueur 100 Pb



Annexe 19 : Fiche technique du marqueur de taille 1 Kb

Recommendations

- Do not heat before loading.
- Dilute your DNA sample with the 6X TriTrack DNA Loading Dye (#R1161, supplied with the ladder): mix 1 volume of the dye solution with 5 volumes of the DNA sample;
- Load the same volumes of the DNA sample and the DNA ladder;
- For quantification, adjust the concentration of the sample to equalize it approximately with the amount of DNA in the nearest band of the ladder.
- For DNA band visualization with SYBR™ Green and other intercalating dyes, do not add the dyes into the sample, use gel staining after electrophoresis or include dyes into agarose gel to avoid aberrant DNA migration.
- **Important note:** For DNA bands visualization with GelRed™ use gel staining after electrophoresis to avoid aberrant DNA migration.

GeneRuler 1 kb DNA Ladder, ready-to-use

| bp | ng/0.5µg | % |
|-------------|-----------|-----------|
| 10000 | 30 | 6 |
| 8000 | 30 | 6 |
| 6000 | 70 | 14 |
| 5000 | 30 | 6 |
| 4000 | 30 | 6 |
| 3500 | 30 | 6 |
| 3000 | 70 | 14 |
| 2500 | 25 | 5 |
| 2000 | 25 | 5 |
| 1500 | 25 | 5 |
| 1000 | 60 | 12 |
| 750 | 25 | 5 |
| 500 | 25 | 5 |
| 250 | 25 | 5 |

0.5 µg/lane, 8 cm length gel,
1X TAE, 7 V/cm, 45 min

Revision history: Pub. No. MAN0013007

| Revision | Date | Description |
|----------|------------|---|
| E00 | 2025-04-08 | Extended storage at room temperature to 24 months |

Limited product warranty

Life Technologies Corporation and/or its affiliate(s) warrant their products as set forth in the Life Technologies' General Terms and Conditions of Sale at www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions.html. If you have any questions, please contact Life Technologies at www.thermofisher.com/support.



Thermo Fisher Scientific Baltics UAB | V.A. Gracuono 8, LT-02241 Vilnius, Lithuania

For descriptions of symbols on product labels or product documents, go to thermofisher.com/symbols-definition.

The information in this guide is subject to change without notice.

DISCLAIMER: TO THE EXTENT ALLOWED BY LAW, THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. AND/OR ITS AFFILIATE(S) WILL NOT BE LIABLE FOR SPECIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, PUNITIVE, MULTIPLE, OR CONSEQUENTIAL DAMAGES IN CONNECTION WITH OR ARISING FROM THIS DOCUMENT, INCLUDING YOUR USE OF IT.

Important Licensing Information: These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses. By use of this product, you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

©2025 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. GelRed is a registered trademark of Biotium Inc.

thermofisher.com/support | thermofisher.com/askaproquestion

thermofisher.com

08 April 2025

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Annexe 20 : Tableaux Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été obtenues pour les 08 amorces utilisé dans notre étude.

| WMC44 | | | | | | | |
|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Variétés | Bande 300 Pb | Bande 280 Pb | Bande 290 Pb | Bande 640 Pb | Bande 260 Pb | Bande 230 Pb | Bande 140 Pb |
| AL | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| BS | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| HAD | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| DJ | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BD17 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| WB | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| GTA | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| WH | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| BTL2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| MBB2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| SM | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VTR | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |

X

| WMC169 | | | | | |
|---------------|--------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| Variétés | Bandé 140 Pb | Bandé 150 Pb | Bandé 110Pb | Bandé 90 Pb | Bandé 180 Pb |
| AL | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| BS | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| HAD | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| DJ | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| BD17 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| WB | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| GTA | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| WH | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| BTL2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| MBB2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| SM | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| VTR | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |

| GWM425 | | |
|---------------|--------------|--------------|
| Variétés | Bandé 140 Pb | Bandé 120 Pb |
| AL | 1 | 1 |
| BS | 0 | 1 |
| HAD | 0 | 1 |
| DJ | 0 | 1 |
| BD17 | 0 | 1 |
| WB | 0 | 1 |
| GTA | 1 | 1 |
| WH | 0 | 1 |
| BTL2 | 1 | 1 |
| MBB2 | 1 | 1 |
| SM | 0 | 1 |
| VTR | 0 | 1 |

| Barc8 | | |
|--------------|--------------|--------------|
| Variétés | Bandé 280 Pb | Bandé 250 Pb |
| AL | 1 | 0 |
| BS | 1 | 0 |
| HAD | 1 | 0 |
| DJ | 1 | 0 |
| BD17 | 1 | 0 |
| WB | 1 | 0 |
| GTA | 1 | 0 |
| WH | 1 | 0 |
| BTL2 | 1 | 0 |
| MBB2 | 1 | 0 |
| SM | 0 | 1 |
| VTR | 0 | 1 |

| PSP2999 | | |
|----------------|--------------|--------------|
| Variétés | Bande 150 Pb | Bande 400 Pb |
| AL | 1 | 1 |
| BS | 1 | 1 |
| HAD | 1 | 0 |
| DJ | 0 | 0 |
| BD17 | 1 | 0 |
| WB | 1 | 0 |
| GTA | 1 | 0 |
| WH | 1 | 0 |
| BTL2 | 1 | 0 |
| MBB2 | 1 | 0 |
| SM | 1 | 0 |
| VTR | 1 | 0 |

| PSP3000 | | | |
|----------------|--------------|--------------|--------------|
| Variétés | Bande 220 Pb | Bande 190 Pb | Bande 210 Pb |
| AL | 0 | 1 | 0 |
| BS | 1 | 0 | 0 |
| HAD | 1 | 0 | 0 |
| DJ | 1 | 0 | 0 |
| BD17 | 0 | 0 | 1 |
| WB | 0 | 0 | 1 |
| GTA | 0 | 0 | 1 |
| WH | 0 | 1 | 0 |
| BTL2 | 1 | 0 | 0 |
| MBB2 | 1 | 0 | 0 |
| SM | 1 | 0 | 0 |
| VTR | 1 | 1 | 0 |

| Barc133 | | |
|----------------|--------------|--------------|
| Variétés | Bande 120 Pb | Bande 350 Pb |
| AL | 1 | 1 |
| BS | 1 | 1 |
| HAD | 1 | 1 |
| DJ | 1 | 1 |
| BD17 | 1 | 1 |
| WB | 1 | 1 |
| GTA | 1 | 1 |
| WH | 1 | 1 |
| BTL2 | 1 | 1 |
| MBB2 | 1 | 1 |
| SM | 1 | 1 |
| VTR | 1 | 1 |

| Variétés | CFA2040 | | | | | | | |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Bandé 200 pb | Bandé 220 pb | Bandé 230 pb | Bandé 260 pb | Bandé 300 pb | Bandé 310 pb | Bandé 340 pb | Bandé 370 pb |
| AL | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| BS | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| HAD | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| DJ | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| BD17 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| WB | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| GTA | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| WH | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| BTL2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| MBB2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| SM | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| VTR | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |

Intitulé : Etude du polymorphisme génétique lié à la résistance aux maladies fongiques chez le blé dur algérien (*Triticum durum* Desf.) par les marqueurs SSR.

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

Résumé :

L'Algérie reste parmi les premiers importateurs mondiaux de blé dur (*Triticum durum* Desf.), en raison de rendements faibles liés aux contraintes climatiques et à la sensibilité aux maladies. L'utilisation des marqueurs moléculaires cartographiés et polymorphes, comme les microsatellites (ou SSR), dans les programmes de sélection du blé dur est particulièrement précieuse lorsqu'on cherche à étudier la variabilité génétique au sein de l'espèce vis-à-vis son adaptation et sa résistance aux stress biotiques et abiotiques. Parmi les maladies fongiques du blé, on trouve les rouilles, la septoriose, la fusariose, et l'oïdium. Ce travail vise à analyser la variabilité génétique de 12 cultivars de blé dur homologués en Algérie à l'aide de 8 marqueurs SSR, afin d'évaluer le potentiel génétique de ces génotypes et d'identifier parmi eux les plus résistants aux maladies fongiques précité. Les résultats obtenus ont révélé un degré élevé de variabilité génétique, ce qui met en évidence le potentiel d'exploitation de ces ressources génétiques dans les programmes de sélection assistée par marqueurs, pour l'amélioration de la résistance aux maladies et la préservation de leur variabilité génétique.

Mots clés : Blé, polymorphisme, microsatellites, maladies, stress et SSR.

Laboratoire de recherche : Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale Université Constantine 1, Frères Mentouri.

Jury d'évaluation :

- Président : Mr. TEMAGOULT Mahmoud M.A.A. Université Constantine1, F.M.
- Encadrant : Mr. KELLOU Kamel M.A.A Université Constantine1, F.M.
- Examinatrice : Mlle. MOUELLEF Adra M.C.B Université Constantine 1, F.M.