



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



التعليم
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

قسنطينة
كلية الطبيعة الحياة

Département : Biologie et écologie Végétale

: بيولوجيا و علم البيئة النباتية.

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et génomique végétale.

Intitulé :

Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé dur pour la tolérance au stress biotique et abiotique

Présenté et soutenu par : BOUMANA Meriem

Le : 18/06/2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : Ms. KELLOU Kamel (MA-UFM-Constantine).

Rapporteur : Mme. KACEM N. Sandra (MC-UFM-Constantine).

Examinatrice : Mme. GHIOUA-BOUCHTAB Karima (MA-UFM-Constantine).

*Année universitaire
2016 - 2017*

Je dédie ce travail à ...

Mes parents Kheireddine et Ghania,

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

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

Mon frère Youcef

Mes Adorables soeurs Chaima et Zaineb,

Mes grands-parents, Djedou Ammar et Toma,

Mes Oncles, Mes Tantes et leurs Enfants,

Mon fiancé Tayeb,

Je tiens particulièrement à te remercier de m'avoir soutenu et accompagné

Mes cousines Ichraf et Amira

Mes Amies Nerdjess Amira Aicha Dallel Assia, Mes amies d'études, Tous mes enseignants de la spécialité BTGV.

Meriem

Remerciements

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

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

Mon respect et ma gratitude envers :

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

Je remercie également,

*Ms **KELLOU. Kamel**, Maitre assistant -à l'Université des Frères Mentouri*

Constantine pour avoir bien voulu présider le jury.

*Mme **GHIOUA-BOUCHTAB Karima**, Maitre assistante à l'université des frères Mentouri*

Constantine, membre du jury Examineur pour le temps consacré pour examiner ce modeste travail.

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

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

Résumé

Le blé est une céréale importante en termes de consommation humaine dans de nombreux pays du monde. Les stress biotiques et abiotiques sont les principales contraintes qui menacent considérablement la culture et la production de cette céréale. L'amélioration de cette céréale est un défi continu pour les sélectionneurs, en raison des contraintes biotique et abiotiques qui limite sa production.

L'utilisation des marqueurs moléculaires s'impose comme une nécessité première pour l'étude de la tolérance du blé dur à ces contraintes.

Cette étude est basée sur l'utilisation de certain nombre de techniques de marquage moléculaire (SSR, RFLP, AFLP, RAPD) qui ont été utilisées dans le domaine de la sélection végétale dans l'objectif est de connaître le génome grâce à la réalisation des cartes génétique de développer des plantes plus performantes, plus productives, tolérantes à des stress biotique et abiotiques ou capables de croitre dans des conditions difficiles.

Mots clé : Blé dur, stress biotique, stress abiotique, amélioration, marqueur moléculaire.

Abstract

Wheat is an important cereal in terms of human consumption in many countries of the world. Biotic and abiotic stresses are the main constraints which considerably threaten the cultivation and production of this cereal. The improvement of this cereal is a continuing challenge for breeders, due to the biotic and abiotic constraints that limit its production.

The use of molecular markers is a primary necessity for studying the tolerance of durum wheat to these stresses.

This study is based on the use of a number of molecular marking techniques (SSR, RFLP, AFLP, RAPD, SAM) that have been used in the field of plant breeding with the aim of knowing the genome through Realization of genetic maps to develop plants that are more efficient, more productive, tolerant to biotic and abiotic stresses or capable of growing under difficult conditions.

Key words: Durum wheat, Biotic and abiotic stress, improvement, SAM, molecular marker, tolerance, resistance.

هو المهم حيث استهلاك العديد . الحيوية و غير الحيوية هي الرئيسية التي تهدد بشكل كبير على زراعة وإنتاج هذه الحبوب. تحسين هذه الحبوب هو التحدي المستمر للمربي بسبب الاجهاد الحيوي و الاحيوي المفروض و الذي يحد من الانتا .

الجزئية لهذه

الجينوم	تربية	التقنيات الجزئية	هذه
الحيوية و غير الحيوية	هدف	الوراثة تطوير	تحقيق
	الحيوية و غير الحيوية	إنتاجية	

المفتاحية : الحيوية تحسين اللاأحيائي الجزئية

Liste des abréviations

<i>Abréviation</i>	<i>Désignation</i>
ADE	Aide à la décision économique.
ADN	Acide Désoxyribonucléique complémentaire.
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphisme.
EST	Expressed Sequence Repeat amplification.
FAO	Food and Agriculture Organization.
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique.
PCR	Polymerase Chain Reaction
QTL	Quantitative trait locus.
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA.
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphisme
SNP	Single Nucleotide Polymorphism.
SSR	Simple Sequence Repeat.
SAM	Sélection Assistée par Marqueur moléculaire.

Liste des figures

N	Titre	Page
01	Représentation schématique de l'histoire évolutive des espèces de <i>Triticum</i> et <i>Aegilops</i> d'après	05
02	Histologie du grain de blé	06
03	polymorphisme de longueur des fragments d'amplification(RFLP)	20
04	ADN Polymorphe au hasard (RAPD)	22
05	Polymorphisme de nombre d'unités de répétition(SSR)	23
06	Polymorphisme de longueur des fragments d'amplification (AFLP)	25

Liste des tableaux

N °	Titre	Page
01	Classification de blé dur	07
02	récoltes de blé dans le monde par grandes zones et principaux pays	09
03	Principales utilisations du blé dur dans le monde	10
04	comparaison entre différents types des marqueurs RFLP, AFLP et SSR	26

Introduction	01
---------------------	----

Chapitre I: Généralité sur le blé dur

I-Historique et répartition éco géographique	03
II-Origine du blé dur	04
II-1-Géographique	04
II-2-Génétique	04
III-Structure et composition du grain de blé dur	06
IV-Position systématique du blé dur	07
V- La culture du blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf)	07
V-1-Dans le monde	07
V-2-En Algérie	08
V-3- Utilisation du blé	10

Chapitre II : Les stresses biotiques et abiotiques

I-Notion du stress	11
II-Les principales contraintes liées à la production du blé en Algérie	11
II-1- Contrainte abiotique	11
II-1-1-Stress Hydrique	12
II-1-1-1-Effet du stress hydrique	12
II-1-2-Stress thermique	12
II-1-2-1-Effet du stress thermique sur la culture du blé	12
II-1-3-Stress salin	13
II-1-3-1 Effet du stress salin	13
II-2-Contrainte biotique	13
II-2-1- Les Rouilles	14
II-2-1-1-La Rouille jaune	14
II-2-1-1-1-Symptômes	15
II-2-2-1- La Rouille brune des feuilles	15
II-2-2-1-1- Symptômes	15
II-2-3-1-La Rouille noire des tiges	16
II-2-3-1-1- Symptômes	16
II-3-1- La Septoriose	16
II-3-1-1- La tache Septorienne	16
II-3-1-1-1-Symptômes	17

II-3-1-2-Septoriose des glumes	17
II-3-1-2-1-Symptômes	17
II-4-1-Tache auréolée (helminthosporiose de blé)	17
II-4-1-1- Symptômes	18
II-4-2- La Fusariose	18
II-5-4-1 Symptômes	18

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé dur

I-L'amélioration du blé dur	20
II-Apport des marqueurs moléculaires à l'amélioration du blé	20
III-Principaux types de marqueurs moléculaires appliqués pour l'amélioration du blé	21
III-1-Qu'est ce qu'un marqueur moléculaire	21
III-2- Présentation d'un bon marqueur	22
III-3-Types de marqueurs moléculaires	23
III-3-1- Marqueur de type RFLP	23
III-3-2- Marqueur de type PCR	24
III-3-2-1- Marqueur de type RAPD	25
III-3-2-2-Marqueur de type SSRs	26
III- 3-2-3-Marqueur de type AFLP	27
III-3-2-4-Marqueur de type SNP	30
IV-Sélection assisté par marqueur SAM en amélioration du blé	31
<i>Conclusion</i>	34
<i>Références bibliographiques</i>	35

Introduction

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins. En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (Djermoun 2009).

Parmi ces céréales, le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième, après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines (Bajji 1999).

Les principales variétés de blé sont le blé tendre et le blé dur, le blé dur constitue un élément essentiel dans la structure de la consommation des céréales il occupe 8 à 10% du total des terres réservées aux blés dans le monde. Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) occupe une importante place parmi les céréales dans le monde (Sahraoui 2011).

Les habitudes alimentaires de l'Algérien (couscous, pâtes, pain et fric) font de lui un grand consommateur de cette denrée.

L'amélioration du rendement et de la qualité du blé dur passe donc par la création variétale et le choix de critères fiables pour l'identification de mécanismes d'adaptations aux contraintes environnementales. Parmi ces critères, la stabilité du rendement, la tolérance aux stress abiotiques, la résistance aux maladies en plus d'une bonne qualité technologique. Cependant les exigences en termes de qualité technologique du grain de blé sont parfois difficiles à concilier avec les contraintes des producteurs.

Face à cette situation, les outils de la génomique permettent aujourd'hui d'analyser la plante en tant que système, dans son intégralité et, en conséquence, contribuent à mieux comprendre la fonction biologique et les interactions des gènes exprimés dans certaines conditions.

Le développement des marqueurs moléculaires durant les dernières années offre la possibilité d'établir de nouvelles approches pour améliorer les stratégies de sélection. Ces dernières années, l'utilisation de marqueurs moléculaires en identification variétale a connu un développement spectaculaire. Les marqueurs moléculaires offrent en effet l'opportunité de contourner les difficultés liées aux observations morphologiques en identifiant des Variétés directement à partir de leur ADN (empreintes génétiques).

Dans ce document, nous avons abordé les différentes connaissances bibliographiques sur l'origine, l'importance et la culture du blé. Le deuxième chapitre sera consacré aux contraintes biotique et abiotique et leurs effets sur la culture de blé. Le dernier chapitre de ce mémoire sera consacré à l'utilisation des marqueurs dans l'amélioration du blé.

Chapitre I :

Généralités sur le blé dur

I-Historique et répartition éco géographique

Le blé est l'espèce avec laquelle l'homme a commencé à manipuler la nature et gérer le milieu (Benbelkacem 2000). Il fait partie des trois céréales dont les grains sont utilisés pour la nourriture humaine ou animale; de la monocotylédone qui constitue la base alimentaire des populations du globe: blé, riz, maïs. L'origine du blé (*Triticum*), du maïs (*Zea*) et du riz (*Oryza*) semble être commune: étant donné les nombreux gènes communs deux à deux ou dans les trois genres, on pense que ces genres se sont diversifiés, il y a quelques 60 à 70 millions d'années (à la fin du secondaire) à partir d'une espèce ancestrale qui aurait contenu tous les gènes dispersés chez les trois espèces actuelles.

Le terme de blé vient probablement du gaulois *Blato* (à l'origine du vieux français *blaie, blee, blaier, blaver*, d'où le verbe *emblaver*, qui signifie ensemer en blé) et désigne les grains qui, broyés, fournissent de la farine, pour des bouillies (polenta), des crêpes ou du pain.

Les premiers indices d'une agriculture apparaissent vers 9.000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile. On trouve dans les villages du début du Néolithique l'engrain (*Triticum monococcum*), l'amidonnier (*Triticum dicoccum*), l'orge, la lentille, le pois, la vesce, le pois chiche et le lin.

Les formes sauvages identifiées de ces diverses espèces (amidonnier sauvage, pois chiche sauvage, vesce sauvage) seraient originaires du Proche-Orient et du Moyen-Orient. La céréaliculture se répand ensuite vers l'Europe, l'Asie et la vallée du Nil. Le froment est présent en Grèce il y a 6.000 ans avant Jésus Christ et se propage par la méditerranée et le Danube. Ainsi, en Bretagne, on a trouvé des grains datant d'environ 5.000 avant Jésus-Christ (Henry et al. 2000).

Par la suite, les techniques de panification s'améliorent grâce aux Hébreux, Grecs, et enfin Romains qui en répandent l'usage à travers l'Europe. À la fin du XVIII^e siècle, le blé est exporté en Amérique du Nord par les Anglais et est rapidement adopté par les civilisations présentes comme matière première de base pour la fabrication du pain, en raison de sa composition en gluten supérieure aux autres céréales. À travers les siècles et les

générations, le grain de blé a conservé toutes ses valeurs et reste un élément essentiel à notre alimentation. Aujourd'hui le blé fait partie de notre quotidien, présent dans de nombreuses compositions.

II-Origine du blé dur

II-1-Géographique

Les blés sauvages tétraploïdes sont largement répandus au Proche-Orient, où les humains ont commencé à les récolter dans la nature (Bozzini 1988). Comparativement aux blés diploïdes, leurs grands épis et leurs gros grains les rendaient beaucoup plus intéressants pour la domestication. On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (Feldman 2001).

II-2-Génétique

Le blé appartient à la famille des graminées (*Gramineae = Poaceae*), qui comprend plus de 10000 espèces différentes. Plusieurs espèces de ploïdie différentes sont regroupées dans le genre *Triticum* qui est un exemple classique d'allo polyploïdie, dont les génomes homéologues dérivent de l'hybridation inter espèces appartenant à la même famille (Levy et Feldman 2002).

Le blé dur (*T. turgidum ssp. Durum* Desf.) est une espèce allo tétraploïde ($2n = 28$, AABB) qui a pour origine l'hybridation suivie par un doublement chromosomique entre *Triticum Urartu* (génome AA) et une espèce voisine d'*Aegilops speltoides* (génome BB) (Huang et al. 2002).

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

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

Feldman (1976), affirme que le blé tire son origine d'une forme sauvage de l'espèce diploïde (*Triticum monococcum*) *sensu lato* dans une région délimité par l'Iran, la Syrie et la Turquie.

La première espèce tétraploïde, le *Triticum turgidum* est le résultat d'une hybridation entre le *Triticum monococcum* et une herbe apparenté au blé nommée *Aegilops speltoides*. La première espèce a fourni le génome A et la seconde, le génome B, la domestication de ce blé tétraploïde(AABB) a donné l'amidonnier, qui est à l'origine des cultivars de blé dur. Chaque génome A, B et D provient d'une espèce diploïde ancestrale différente .Ces trois espèces seraient elles-mêmes issues d'un ancêtre diploïde commun.

Cette origine lui a sans doute conféré cette souplesse d'adaptation d'où sa culture dans de très nombreuses régions dans le monde (Huang et al. 2002).Les génomes A et B contrôlent de manière générale l'architecture, la résistance et la fertilité de l'espèce, aussi le génome D confère au blé tendre son aptitude à la technologie du pain (**Figure 01**).

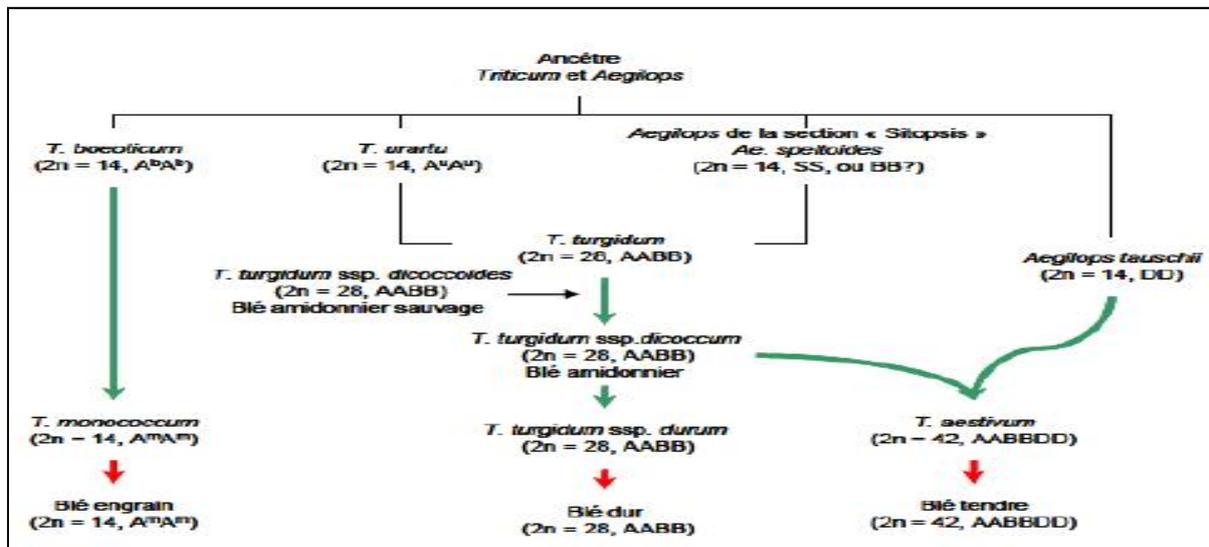


Figure 01: Représentation schématique de l'histoire évolutive des espèces de *Triticum* et *Aegilops* d'après (Feuillet et al. 2008).

III-Structure et composition du grain de blé dur

Le grain de blé est constitué de 3 grandes parties : le germe, l'albumen et les enveloppes (Figure 02).

- J les enveloppes, composées de cinq tissus différents: le péricarpe externe, le péricarpe interne formé par la couche de cellules tubulaires et la couche de cellules croisées, la testa ou tégument séminal et la bande hyaline ou épiderme du nucelle.
- J L'albumen, constitué de la couche à aleurone et de l'albumen amylicé. La couche à aleurone est le seul tissu restant vivant lorsque le grain a atteint sa maturité. Lors du broyage, ce tissu reste accroché au péricarpe et ne se retrouve donc pas dans la farine. L'albumen amylicé est constitué de cellules riches en granules d'amidon, englobés dans une matrice protéique.
- J Le germe, composé de l'embryon et du scutellum ou cotylédon (Lesage 2011).

Le grain est constitué majoritairement d'amidon qui représente environ 70% de la matière sèche du grain et qui est situé dans l'albumen. Les protéines représentent entre 10 et 15% de la matière sèche et se retrouvent dans tous les tissus du grain de blé avec une concentration plus importante dans le germe et la couche à aleurone (Pomeranz 1988). Les pentosanes (polysaccharides non amylicés) représentent quant à eux entre 2 et 3% de la matière sèche et sont les principaux constituants des parois cellulaires de l'albumen (70 à 80%) (Debiton 2010). **A apprendre**

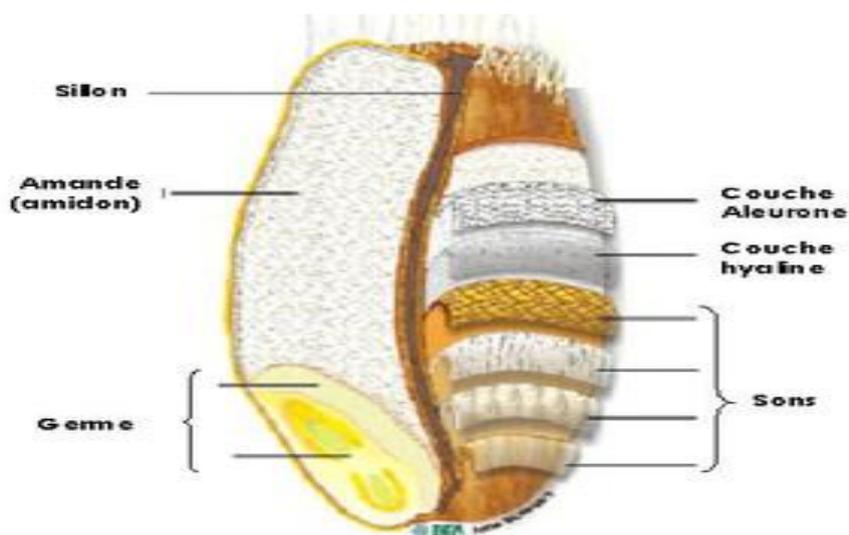


Figure 02 : Histologie du grain de blé (Surget et Barron 2005).

IV-Position systématique du blé dur :

Le blé dur est une plante herbacée, monocotylédone appelé aussi céréale à paille appartient à la famille des Graminées, genre *Triticum*. Cette famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces. Une classification détaillée est donnée ci- dessous (**Tableau 01**) (Feillet 2000).

Tableau 01 : Classification de blé dur (Feillet 2000).

Embranchement	Angiospermes
Sous embranchement	Spermaphytes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Glumiflorales
Super ordre	Comméliniflorales
Famille	<i>Poaceae</i>
Tribu	<i>Triticeae</i>
Sous tribu	<i>Triticinae</i>
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf

V -La culture du blé dur (*Triticum durum* Desf.)

V-1-Dans le monde

Selon, Kantety et al. (2005), le blé dur est cultivé sur 10% des superficies réservées aux céréales (blé dur, tendre, riz et maïs). La culture de cette espèce est surtout localisée dans les pays du pourtour méditerranéen (Algérie, Maroc, Espagne, France, Italie, Grèce, Syrie), le Kazakhstan, l'Ethiopie, l'Argentine, le Chili, la Russie, le Mexique, le Canada (Ammar et al. 2006).

La production mondiale de blé dur est de 29.3 millions de tonnes moyennes annuelles pour la période 1988/1997 (ADE 2000). Les plus grands producteurs de blé dur dans le monde sont l'Union Européenne avec une moyenne de production de 7,9 millions de tonnes (1987/1997). Cette production le fait de quatre pays membre : l'Italie, la Grèce, la France et l'Espagne, avec une production moyenne annuelle respectivement égale à : 4,1 ; 1,5 ; 1,4 et 0,9 millions de tonnes. En dehors, de la Communauté Européenne les autres pays gros producteurs sont la Turquie, le Canada, les Etats-Unis d'Amérique dont la production est respectivement 4,3 ; 4,0 ; et 2,5 millions de tonnes (Mazouzi 2006).

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

V-2-En Algérie

En Algérie, la superficie consacrée traditionnellement aux céréales varie de 3 à 3,5 millions d'hectares. Le blé dur occupe une place privilégiée suite à son utilisation dans l'alimentation quotidienne de la population sous diverses formes. La superficie moyenne de blé dur varie de 0,82 à $1,49 \times 10^6$ ha pour la période 2000 à 2007. Les rendements restent faibles et très variables d'une année à l'autre. La culture des céréales d'hiver demeure encore difficile à maîtriser tant que celle-ci reste confrontée et soumise à plusieurs contraintes (aléas climatiques, faible maîtrise de l'itinéraire technique, etc.).

Le blé dur occupe une place centrale dans l'économie algérienne. Il couvre $1,5 \times 10^6$ ha sur les 3×10^6 ha consacrés à la céréaliculture. Le rendement est faible et irrégulier, il est de l'ordre de 8q/ha. La production couvre près de 41% des besoins et les capacités productives du blé dur sont relativement moins bonnes que celles du blé tendre ou de l'orge puisque sur plus de 120 années (1876 à 1996) (Mazouzi 2006).

La faiblesse de la production céréalière en Algérie découle en majeure partie des faibles potentiels des rendements. Il est donc impératif de faire accroître les rendements

à l'hectare, parce qu'il n'est plus possible d'étendre les superficies consacrées aux céréales d'hiver (Benbelkacem et Kellou 2001).

D'après Acevedo (1989), les futurs progrès visent l'accroissement du rendement dans les zones défavorable par le biais du développement de cultivars à adaptation spécifique au stress de l'environnement.

Tableau 02 : Les récoltes de blé dans le monde par grandes zones et principaux pays
(Anonyme 2014).

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

I-5-3- Utilisation du blé

Selon Villement (1994), le blé est la céréale dont les débouchés sont les plus diversifiés dans l'alimentation humaine et animale.

Tableau 03: Principales utilisations du blé dur dans le monde (Cherdouh 1999).

Pays	Pates (%)	Couscous (%)	Pain (%)	Autres (%)
Italie	60	-	40	-
France	60	-	40	-
Espagne	70	-	30	-
Angleterre	80	-	20	-
Benelux	100	-	-	-
Tunisie	30	50	15	5
Algérie	30	40	10	20
Maroc	7	5	85	3
Egypte	100	-	-	-

En Algérie, la semoule issue du blé dur est à l'origine de produits alimentaires très divers: pains locaux, galettes, couscous, fric, pâtes, gâteaux traditionnels (Cherdouh 1999). Le tableau 3 donne les principales utilisations de blé dur dans le monde et montre que les principales consommations de cette céréale sont sous forme de pain (34%) et pâtes alimentaires et couscous (58%).

La farine de blé tendre est utilisée essentiellement pour la panification, le blé dur est surtout destiné à la fabrication des pâtes alimentaires. Il reste l'aliment de base des pays en voie de développement (Cherdouh 1999).

Chapitre II :

Les stressés biotiques et abiotiques

I-Notion du stress

Selon Levitt (1980), le terme stress désigne un facteur de l'environnement induisant une contrainte potentiellement néfaste sur un organisme vivant. D'après Dutuit et al. (1994), le stress est le dysfonctionnement (rupture d'un équilibre fonctionnel) produit dans un organisme ou dans un système vivant, par exemple par une carence.

Le stress est donc, un ensemble de conditions qui provoquent des changements de processus physiologiques résultant éventuellement de dégâts, dommages, blessures, inhibition de croissance ou de développement. On appelle stress toute pression dominante exercée par un paramètre, perturbant le fonctionnement habituel de la plante. En revanche, la réponse du végétal dépend, entre autres, de ces paramètres environnementaux, tels que: le type de contrainte, son intensité, sa durée et caractéristiques génétiques: espèce et génotype (Hopkins 2003).

II-Les principales contraintes liées à la production du blé en Algérie

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

II-1- Contrainte abiotique

Les principales contraintes abiotiques des zones céréalières sont :

-) Une succession de périodes sèches de durées et de fréquences variables
-) Des gelées hivernales et printanières
-) Des températures élevées et siroccos
-) Des sols salins

II-1-1-Stress Hydrique

Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, sachant que la réserve d'eau utile pour la plante est la quantité du sol accessible par son système racinaire (Labereche 2004).

II-1-1-1-Effet du stress hydrique

Le manque d'eau ou déficit hydrique représente le stress abiotique le plus sévère auquel la culture du blé dur fait face dans les conditions de productions des zones arides et semi- arides (Sahraoui 2011). La sécheresse est l'un des principaux facteurs limitant les rendements à travers le monde, le manque d'eau souvent associé à d'autre stress (gel, hautes températures, salinité...) (Furini et al. 1997).

En effet, l'eau joue un rôle essentiel dans la croissance et le développement de la culture du blé dur. Le manque d'eau se traduit par une réduction de la croissance de la plante et de sa production par rapport au potentiel du génotype. Un manque d'eau précoce affecte principalement la croissance des racines, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Sahraoui 2011). Ceci se répercute sur le rendement économique de la culture, qui peut baisser de plus de 80% (Sahraoui 2011).

II-1-2-Stress thermique

Le stress thermique est l'ensemble des modifications de la physiologie des végétaux lorsque la température s'élève ou s'abaisse au-delà des conditions habituelles. Il diffère selon les espèces, la forme et ampleur du changement de température (Sahraoui 2011).

II-1-2-1-Effet du stress thermique sur la culture du blé

La température est un facteur important pour la durée des phases de pré et post - anthèse. Le taux de développement des génotypes au cours des phases de pré – et post-anthèse sont différents en raison de la variation de la température selon les années et les environnements. Dans les environnements méditerranéens, les hautes températures de fin de

cycle sont considérées comme un facteur important de limitation de rendement. Des températures, au-dessus de 30°C, affectent le poids final de grain. Les hautes températures affectent, non seulement le poids final de grain, mais aussi le nombre de grains par épi et par unité de surface (Sahraoui 2011).

II-1-3-Stress salin

La salinité peut être définie comme un processus d'accumulation des sels solubles, qui sont représentés en grande partie par des cations (Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , et le K^+) et des anions (Cl^- , SO_4^{-2} , HCO_3^- , CO_3^{-2} , et NO_3^-). D'autres sels moins courants et plus toxiques à faibles concentrations sont également à considérer ces éléments traces sont le bore, le sélénium, l'arsenic et le molybdène (Sahraoui 2011).

II-1-3-1 Effet du stress salin

La salinité constitue un des majeurs problèmes pour la croissance des végétaux, la culture du blé dur se trouve confrontée à ce problème en Algérie. L'utilisation des variétés résistantes est devenue impérative, près de 25% des terres irriguées sont confrontées au problème du sel qui affecte particulièrement les zones arides et semi-arides cette dernière est le principal facteur limitant à la croissance des plantes (Levigneron et al .1995).

Ces contraintes impliquent la mise au point de variétés suffisamment tardives pour éviter les effets de gels tardifs et assez précoces pour échapper aux effets des hautes températures. En effet le programme de sélection et d'amélioration vise essentiellement à développer des variétés précoces avec la perspective d'éviter les gelées tardives et en conséquence d'éviter également les sécheresses terminales (Benbelkacem 2000).

II-2-Contrainte biotique

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

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

Dix années d'enquêtes et de recherche sur les maladies des céréales ont résulté en un capital de données fiables. C'est ainsi que sur les blés, les maladies les plus importants ont été : la Septoriose, la Rouille, sans oublier les fusarioses qui produisent les mycotoxines (Moreau 2011).

II-2-1- Les Rouilles

Divers types de Rouille affectent le blé. Les trois types de Rouille qui affectent le blé sont la Rouille brune, la Rouille noir des tiges et la Rouille jaune (Amrani 2013).

Selon les enquêtes menées par Sayoud et al. 1996 les Rouilles sont essentiellement présentes au niveau des hauts plateaux et les plaines de la Mitidja. Leur identification est relativement facile car l'agent fongique produit des pustules caractéristiques, formées essentiellement de spores qui sont facilement disséminées par le vent (Aouali et Douici-Khalfi 2013).

II-2-1-1-La Rouille jaune

La Rouille jaune est causée par l'agent pathogène *Puccinia striiformis f.sp. Tritici*. Sur blé (Amrani 2013). Elle peut provoquer des dégâts très importants à la culture. Son développement est lié à des conditions climatiques particulières (printemps frais, couvert, humide et venteux) (Moreau 2011).

La Rouille jaune apparaît en cours de montaison, généralement de premier noeud à dernière feuille. Au niveau de la parcelle les premières attaques sont localisées sur les feuilles du bas de quelques plantes. Cette infestation est liée à l'inoculum de la parcelle, et la

contamination se fait essentiellement à l'intérieur du champ et peu depuis l'extérieur (Masson 2012).

II-2-1-1-1-Symptômes

Des pustules orangées apparaissent sur les feuilles et les tiges disposées en stries le long de nervures des feuilles. Elles sont souvent de petite taille (0,5 mm) (Masson 2012). Elles peuvent aussi se développer sur la face inférieure des feuilles et sur les épis et les grains. Ces pustules sont constituées de spores (urédospores). À la fin de la saison de croissance, ces pustules deviennent noires étant donné la formation de spores connues sous le nom de téléospores. Ces pustules correspondent à la déchirure de l'épiderme qui laisse apparaître ainsi une poudre dont la couleur varie de l'orange, rouge brique, marron au jaune, selon l'espèce pathogène. Les rouilles ne sont pas transmises par semence (Aouali et Douici-Khalfi 2013).

II-2-2-1- La Rouille brune des feuilles

C'est une maladie qui apparaît généralement pendant et après l'épiaison (avril-mai), causée par l'agent pathogène : *Puccinia recondita f.sp. Tritici* sur le blé (Amrani 2013). La Rouille brune est une maladie de plusieurs graminées dont : blé, seigle, triticales, et le parasite attaque faiblement l'orge, et pas du tout l'avoine (Zillinsky 1983). Elle attaque comme hôte alternatif *Anchusa azurea* anciennement *Anchusa italica* ou Buglosse d'Italie ou fausse bourrache (plante vivace) (Aouali et Douici-Khalfi 2013).

II-2-2-1-1- Symptômes

Petites pustules circulaires ou ovales de couleur orange ou brunes ces pustules sont (poudreuses) remplies de spores (urédospores), apparaissent sur la face supérieure et parfois sur la face inférieure des feuilles. En fin de saison ces pustules prennent une couleur noir (téléospores) (Aouali et Douici-Khalfi 2013).

Sur le plan diagnostique, et pour éviter la confusion avec les pustules de la rouille jaune, les pustules de la rouille brune lorsqu'on les frotte légèrement, une poudre de la même couleur adhère au doigt (Sayoud 2008).

II-2-3-1-La Rouille noire des tiges

Elle est causée par *Puccinia graminis* qui attaque l'épinet vinette (*Berberis vulgaris*) comme hôte secondaire et le blé et d'autres céréales comme hôte principal (Nasraoui 2006).

II-2-3-1-1- Symptômes

Les pustules sont plus longues que celles de la Rouille brune, elles sont de couleur rouge-brique à marron foncé (Aouali et Douici-Khalfi 2013).

Elles sont elliptiques, se développent parallèlement à l'axe de la longueur de la tige, de la feuille et de la gaine. Les pustules peuvent apparaître aussi sur le col et les glumes de l'épi. Quand l'épiderme couvrant les pustules rompt, il montre une masse poudreuse brune rouge d'urédospores. Plus tard dans la saison, au fur et à mesure que la plante approche de la maturité, la couleur brune des pustules tourne au noir. Le champignon commence à produire des téliosporés au lieu des urédospores et les urédies brunes sont remplacées par des télies noires (Nasraoui 2006).

II-3-1- La Septoriose

II-3-1-1- La tache Septorienne

La tache Septorienne est l'une des principales maladies cryptogamiques du blé à travers le monde (Shipton et al. 1971; Eyal et al. 1987). La maladie est causée par l'attaque d'un champignon qui peut être présent sous deux formes au champ : la forme sexuée (*Mycosphaerella graminicola*) et la forme asexuée (*Septoria tritici*) (Farid 1992), appelé aussi *Zymoseptoria tritici* (Brunner et al. 2013).

Sous un climat favorable au développement de la maladie (zones humides), le rendement en grains des variétés de blé sensibles peut être réduit de 30 à 50% (Eyal 1981). En Algérie, il n'y a pas de hôte alternative et la maladie ne se transmet pas par semence (Aouali et Douici-Khalfi 2013).

II-3-1-1-1-Symptômes

Les symptômes commencent par de petites taches de couleur brune rougeâtre irrégulière sur les feuilles inférieures et en particulier sur celles en contact du sol. Les taches sont d'abord délimitées par les nervures (Sayoud et al. 1999), pour ensuite s'étendre longitudinalement et prendre une couleur gris clair.

II-3-1-2-Septoriose des glumes

Septoria nodorum, est le champignon responsable de la Septoriose des glumes (Mazouz 1992).

II-3-1-2-1-Symptômes

La maladie se manifeste sur les feuillages et sur les glumes, la gaine des feuilles et les noeuds. Sur les feuilles on peut observer des taches ovales ou lenticulaires brunes. Elles peuvent être entourées d'une chlorose ou d'un jaunissement périphérique. Les pycnides sont de couleurs brun clair moins apparents que celles provoquées par la Septoriose des feuilles. Sur les glumes la maladie se développe lorsque l'attaque est importante. Elle n'y a pas d'hôte alternatif mais elle se transmet par semence (Aouali et Douici-Khalfi 2013).

II-4-1-Tache auréolée (helminthosporiose de blé)

La Tache auréolée du blé, causée par *Pyrenophora tritici-repentis* ou bien *Drechslera tritici-repentis*, est une maladie qui est présente à travers les zones céréalières de l'Algérie. Selon les résultats des travaux de (Benslimane et al. 2006), elle est présente aussi bien sur le blé dur que sur le blé tendre. Les helminthosporioses sont largement répandues dans les zones de production des, céréales et les attaques sont importantes dans les régions à pluviométrie importante.

En Algérie cette maladie est sévère au niveau des zones littorales moyennes et les plaines intérieures, tandis que dans les hauts plateaux elle est relativement faible (Aouali et Douici-Khalfi 2013). D'après les travaux de (Benslimane et al. 2011), ils ont identifié la distribution des races de la tache auréolée en Algérie.

La sévérité de la maladie dépend des conditions climatiques, de la variété et du stade de développement de la plante au moment de l'attaque. Les pertes de rendements peuvent atteindre jusqu'à 30% lorsque la maladie est présente tout au long du cycle de développement de la plante et entre 10 à 15 % quand l'attaque est tardive (Aouali et Douici-Khalfi 2013).

II-4-1-1- Symptômes

Au niveau de la parcelle on observe une répartition homogène, comme la Septoriose, l'Helminthosporiose progresse du bas vers le haut de la plante. Au niveau des feuilles, on trouve des taches ocellées en forme d'oeil plutôt ovoïde, souvent entourées d'un halochlorotique jaune. Point noir au centre (c'est le point d'infection). Il est remplacé progressivement par un point foncé puis un cercle brun et absence de pycnide (Masson 2012).

II-4-2- La Fusariose

Durant ces dernières années, les symptômes de la Fusariose sont devenus très fréquents au niveau des champs de blé en Algérie. Compte tenu des pertes considérables qui peuvent être engendrés sur les rendements associés aux risques de mycotoxines que présentent certaines espèces de *Fusarium* sur la santé des humains et des animaux d'élevage (INPV 2014).

En Algérie, selon les enquêtes sur la prévalence de la Fusariose réalisés par l'INPV et Syngenta en la campagne agricole 2012-2013 au niveau des parcelles de multiplication en 23 wilayas potentiellement céréalières situées à différents étages bioclimatiques, ils ont identifiés la présence et la dominance de deux espèces : *Fusarium culmorum* suivie de *Fusarium graminearum*.

II-5-4-1 Symptômes

Les lésions causées par *Fusarium* apparaissent souvent à la base de la tige, dans la gaine des feuilles, une propagation qui se manifeste par la présence de longues stries brunes à la base de la tige. Le symptôme le plus fréquent est la coloration brun foncé des noeuds inférieurs. Sur les plants plus anciens, l'infection par *Fusarium* peut générer un véritable pourridié; la base de la tige devient alors brune et pourrie, ce qui entraîne une verse et la

formation d'épis argentés. Ce symptôme est moins fréquent, même s'il peut être observé lors des périodes de grande sécheresse. Les épillets perdent leur chlorophylle commencent à se décolorer et finissent par donner à l'épi une couleur blanchâtre. Ce symptôme est observé lorsque les épis sont infectés aux premiers stades de floraison (INPV 2013).

Les infections plus tardives peuvent provoquer l'infection des grains, sans blanchiment notoire des épis. La phase de blanchiment des épis de cette maladie du blé peut provoquer une perte de rendement, mais la principale préoccupation est la production potentielle de mycotoxines dans les grains (INPV 2014).

Chapitre III :

Utilisation des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé dur

I-L'amélioration du blé dur

L'amélioration des plantes est basée sur une large utilisation de la variabilité génétique naturelle et sur des méthodes d'exploitation rapides et fiable de cette diversité dans les programmes de sélection.

La sélection a joué un rôle déterminant dans l'accroissement de la production agricole au cours du siècle dernier, tant dans les pays développés que dans les pays en développement. Les sélectionneurs de blé dur mettent l'accent sur l'amélioration simultanée du comportement agronomique, de la résistance aux contraintes environnementales et aux maladies.

II- Apport des marqueurs moléculaires à l'amélioration du blé

L'essor des techniques de marquage moléculaires au cours des dernières années a induit des changements considérables dans plusieurs branches de la biotechnologie, notamment la biologie moléculaire (clonage positionnel), la génétique évolutive (cartographie comparative), la génétique quantitative (détection et identification des locus contrôlant les caractères quantitatifs -QTL-) et l'amélioration des espèces (sélection assistée par marqueurs) (Najimi et al. 2003).

Le recours à la génétique moléculaire et l'obtention de marqueurs moléculaires pour les blés comme c'est le cas du maïs et du riz, a été toujours limité par la large taille du génome. Cependant, avec le développement de la génomique et des approches moléculaires associées au phénotypage, on s'attend à percer plus efficacement les gènes et les voies métaboliques de tolérance à la sécheresse chez les plantes et notamment chez le blé dur.

Plusieurs QTL et gènes impliqués dans les mécanismes de tolérance à la sécheresse chez plusieurs espèces de blés ont été identifiés. La génomique, les cartographies de QTL, les études des gènes candidats, la transcriptomique ont permis durant les vingt dernières années l'identification de plusieurs gènes impliqués dans la tolérance à la sécheresse ainsi que la compréhension des mécanismes moléculaire de la tolérance (Mir et al. 2012).

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

Les marqueurs moléculaires permettent à la fois un diagnostic extrêmement fin de la variabilité et la mise en place de stratégies très rapides de création et sélection variétale (Adam et Dron 1993).

Ces marqueurs présentent également différents avantages comparés aux marqueurs morphologiques et protéiques, très nombreux, neutres vis à vis de la sélection, couvrent le génome entier, indépendants de la partie de la plante prélevée, du stade de développement et des fluctuations environnementales (FAO 1996).

En effet, le sélectionneur peut inférer la présence d'un gène par la recherche du marqueur qui lui est étroitement lié et pourra ainsi sélectionner les individus résistants avant même que le caractère considéré ne soit exprimé et en absence du pathogène.

Cette sélection assistée par marqueurs est donc d'un intérêt certain pour le sélectionneur puisqu'elle offre l'avantage d'une sélection efficace, rapide et précoce, et devient alors un complément nécessaire aux méthodes traditionnelles d'amélioration génétique des céréales.

En outre, les marqueurs moléculaires deviennent aujourd'hui un outil essentiel d'amélioration des plantes et ouvrent de nouvelles perspectives pour le sélectionneur. Ils sont d'un grand intérêt lors du pyramidage de deux gènes ou plus dans une même variété permettant ainsi une résistance plus constante et à large spectre.

De même, les marqueurs moléculaires permettent le cumul rapidement de plusieurs gènes dans une seule variété élite en vue d'une résistance plus efficace, et la maîtrise de la taille des fragments chromosomiques introduits par rétrocroisements, ce qui élimine les effets défavorables susceptibles d'être transmis avec les gènes cibles introgressés (Hospital 2001).

III-Principaux types de marqueurs moléculaires appliqués pour l'amélioration du blé

III-1-Qu'est ce qu'un marqueur moléculaire

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. Les marqueurs moléculaires correspondent donc au polymorphisme

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

révélé au niveau de l'ADN L'analyse de ce polymorphisme par les techniques de biologie moléculaire s'adresse à l'ensemble du génome, qu'il soit ou non traduit en protéines, et est indépendante des conditions de l'environnement.

En outre, le nombre de marqueurs observables est théoriquement illimité et le génotype d'une plante peut être déterminé à un stade très précoce, aussitôt que le matériel est disponible pour l'extraction de l'ADN (Eagles et al. 2001). Ces marqueurs seront d'une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeur agronomique et dans les programmes de sélection assistée par marqueurs chez les céréales (Dekkers et Hospital 2002).

III-2- Présentation d'un bon marqueur

Selon De vienne (1999) un marqueur génétique idéal doit être :

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

) **Insensible au milieu** : le génotype peut être inféré à partir du phénotype quel que soit le milieu (De vienne 1998).

III-3-Types de marqueurs moléculaires

De nombreuses techniques de marquage moléculaire sont aujourd'hui disponibles, et de nouvelles sont régulièrement publiées. Ces méthodes peuvent être regroupées en deux grandes catégories : les marqueurs de type RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) et les marqueurs basés sur la méthode de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Le choix du système de marquage dépend de l'objectif précis fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire (Gupta et al. 1999).

III-3-1- Marqueur de type RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

La technique RFLP développée par Botstein et al. (1980) repose sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction, les marqueurs RFLP combinent l'utilisation d'enzymes de restriction et de sondes génétiques et permet de révéler des mutations présentes au niveau de l'ADN.

Le principe du RFLP consiste à soumettre l'ADN d'un individu à l'action d'enzymes qui coupent l'ADN à des sites très précis. Une multitude de fragments d'ADN de tailles variables est générée par digestion enzymatique, puis séparée sur gel d'agarose et transférée par capillarité sous forme dénaturée sur une membrane de nylon. S'il survient un changement de la séquence dans un site de restriction, l'enzyme ne le reconnaît pas et elle ira couper le site suivant. Donc, le polymorphisme observé entre deux individus est basé sur la différence qui existe dans la longueur des fragments obtenus après la digestion enzymatique.

Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de site de restriction) et/ou à des délétions/insertions d'un fragment

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

d'ADN au voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde. C'est le couple enzyme/sonde qui constitue le marqueur.

Les RFLP sont dits co-dominants parce qu'ils distinguent entre les organismes hétérozygotes et homozygotes. Un organisme hétérozygote à un locus (Aa) présentera deux fragments de tailles différentes alors qu'un seul fragment ne sera visible pour organisme homozygote (AA ou aa). Bien que cette technique soit co-dominante et permet une analyse génétique complète, elle est lente et laborieuse. Les étapes de transfert et d'hybridation empêchent une automatisation du travail.

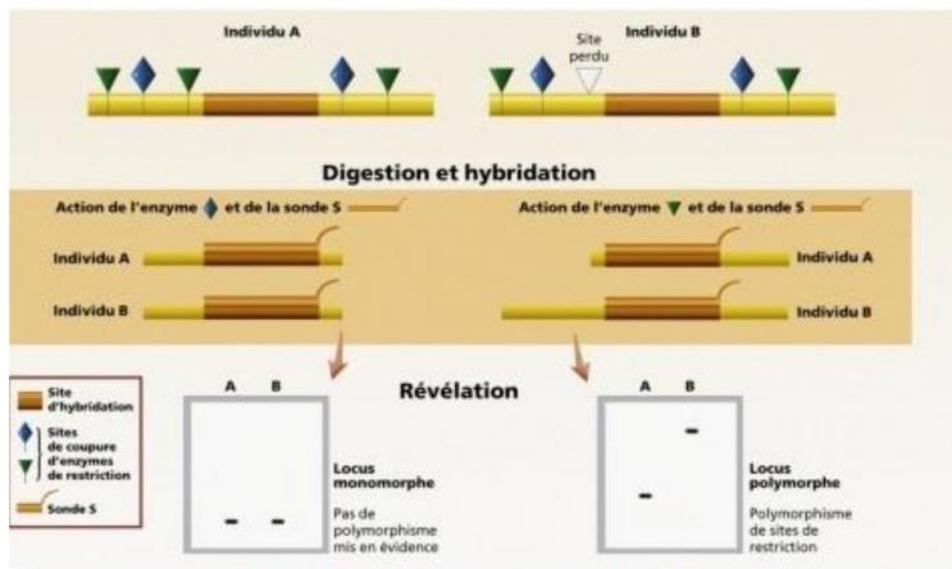


Figure 03 : polymorphisme de longueur des fragments d'amplification(RFLP)
(Anonyme 01 2010).

III-3-2- Marqueur de type PCR

Le développement de la technique PCR offre l'avantage d'analyser les marqueurs moléculaires en un temps court tout en utilisant des concentrations faibles d'ADN. Les marqueurs basés sur la technique PCR tendent à remplacer les systèmes classiques (les

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

marqueurs morphologiques, iso-enzymatique et RFLP) et deviennent très nombreux. Les plus largement utilisés chez le blé sont les microsatellites ou SSRs.

III-3-2-1- Marqueur de type RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

La technique RAPD-PCR a été mise au point en 1990 par William et al. Welsh et Mc Clelland. Elle est basée sur la réaction d'amplification en chaîne (PCR) de séquences prises au hasard d'ADN génomique. Cette technique repose sur l'utilisation de courtes paires d'amorces généralement de 5 à 15 Pb de longueur. Une amorce RAPD permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des locus dominants. Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose.

Le polymorphisme détecté en RAPD se situe au niveau des sites d'appariement d'une amorce sur le brin d'ADN. Lors de la réaction PCR, les amorces mises en présence de l'ADN dénaturé d'un organisme, vont s'apparier à deux sites différents situés sur les deux brins complémentaires. Dans cette réaction, les amorces oligo-nucléotides de séquence aléatoire fonctionnent dans les deux sens (forward / reverse) de génome à une température constante d'hybridation (Williams et al. 1993). Le polymorphisme observé se traduit par la présence ou l'absence de bande chez les différents génotypes (Adam et Dron 1993).

Le polymorphisme décelé est dû à des mutations (un changement nucléotidique qui empêche l'appariement de l'amorce) soit une délétion du site d'appariement de celle-ci ou encore d'une insertion de nucléotides qui fait en sorte d'augmenter la longueur du segment entre les deux sites d'appariement ne permettant pas l'amplification. En conséquence, un polymorphisme de présence/absence sera observé. Dans certains cas on peut observer un manque de reproductibilité de ces marqueurs (Williams et al. 1990). Toutefois, lorsqu'un marqueur RAPD a été identifié il est aisé de le transformer en un marqueur SCAR (Sequence characterized amplified region) qui est spécifique à une région de l'ADN.

Les marqueurs RAPD ont été utilisés chez plusieurs espèces pour l'analyse de la diversité génétique, la caractérisation de ressources génétiques, l'identification de cultivars et la cartographie des génomes. Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique. Elle

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

constitue un moyen rapide et efficace pour réaliser des screening en génétique moléculaire en s'appuyant sur la technique PCR.

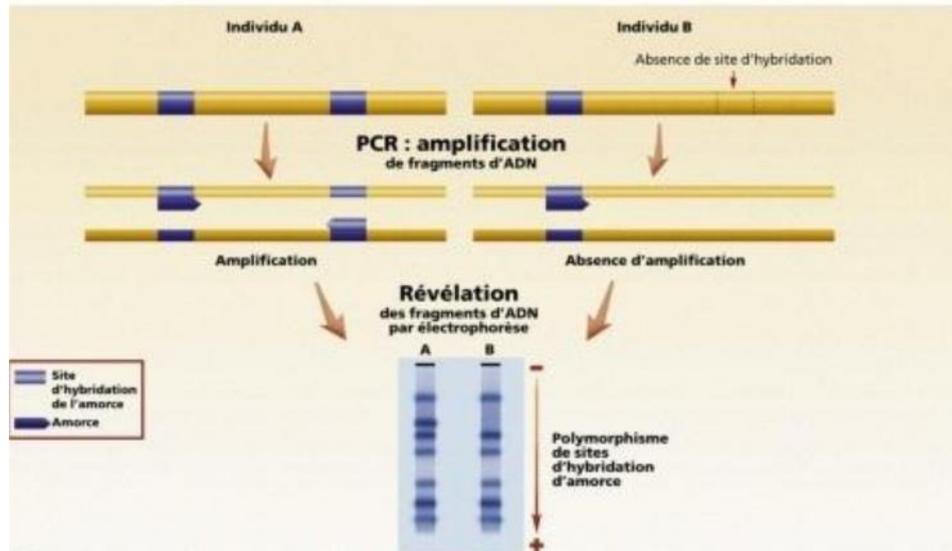


Figure 04 : ADN Polymorphe au hasard (RAPD) (Anonyme 01 2010).

III-3-2-2-Marqueur de type SSRs (*Simple Sequence Repeats*) ou Microsatellites

Le terme microsatellite a été inventé par Litt et Luty (1989), également appelé séquences simples répétées (SSR). Se sont des éléments d'ADN qui se répètent plusieurs fois à différents endroits (séquences de di-, tri- ou tétra- nucléotides répétés en tandem) chez tous les organismes, à la fois les eucaryotes et les procaryotes. Les séquences répétées sont souvent simples, de taille de 1 à 6 paires de bases et ils sont présents dans les deux régions codantes et non codantes. Ces régions flanquantes tendent à être conservées à l'intérieur de l'espèce (Setti et al. 2011). Les microsatellites présentent un taux de polymorphisme élevé, qui repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant ces derniers (Najimi et al. 2003).

Les polymorphismes sont identifiés en construisant des amorces PCR dans la région adjacente de la région microsatellite (Hajeer et al. 2000). C'est la paire d'amorces spécifique des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide. Ces marqueurs ont été utilisés pour des

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

études de la diversité génétique de nombreux agents phytopathogènes (Dutech et al. 2007, Bahri et al. 2009, Unartngam et al. 2011). Ainsi que dans l'élaboration des cartes génétiques des plantes (Röder et al. 1995, Westman et Kresovich 1999).

Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, codominants et aisés d'utilisation), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde. En effet, leur production doit passer d'abord par le clonage et le séquençage de ces éléments répétés (Najimi et al. 2003).

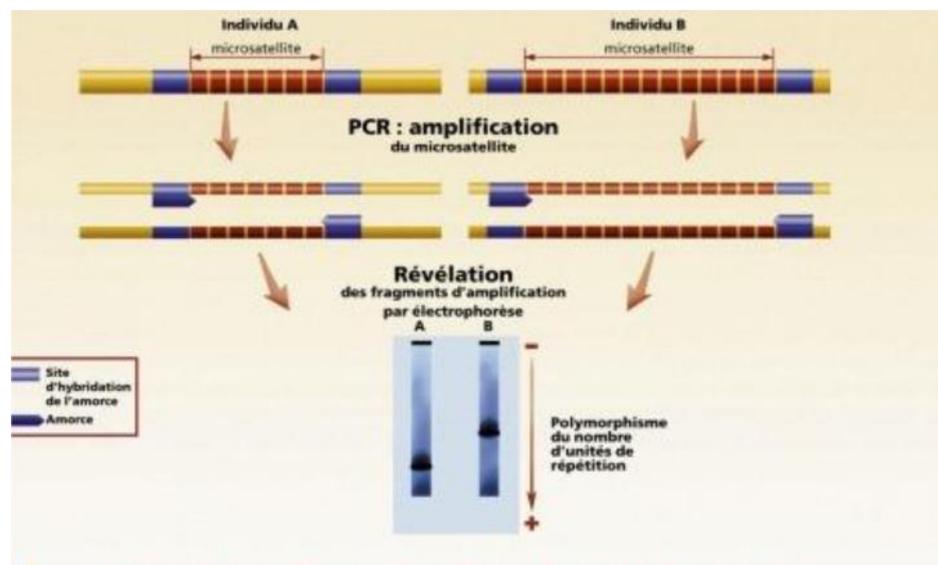


Figure 05 : Polymorphisme de nombre d'unités de répétition (SSR) (Anonyme 01 2010).

III- 3-2-3-Marqueur de type AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)

La technique AFLP (*Amplified fragments length polymorphism*) développée par Vos et al. (1995) combine à la fois l'utilisation des enzymes de restriction de l'ADN génomique et la technologie PCR. Après la digestion de l'ADN génomique, des adaptateurs de séquence connue et spécifiques des deux sites de restriction sont ajoutés aux extrémités des fragments de restriction. Une première amplification, dite pré-amplification, est réalisée à l'aide

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

d'amorces de séquences complémentaires à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction. La deuxième amplification, dite sélective, utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (de 1 à 3 nucléotides). Ainsi, seuls sont amplifiés les fragments possédant les bases complémentaires de ces bases arbitraires. Les produits de la PCR sont séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide dénaturé et révélés par radiographie. C'est la combinaison enzyme de restriction/amorce qui permet de révéler le polymorphisme entre les organismes et constitue donc le marqueur AFLP (Najimi et al. 2003).

Les AFLP ont été largement utilisés pour l'identification des cultivars et la détermination de leurs relations phylogénétiques, la cartographie des génomes, elles sont utilisées aussi pour l'analyse de la diversité génétique des agents pathogènes des plantes en raison du nombre élevé de loci qui peuvent être détectés simultanément. Ces marqueurs ont été utilisés avec succès pour la quantification de la variabilité génétique des populations de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* échantillonnées à une échelle locale (Villéral et al. 2000).

Rachel et al. (2005) ont utilisé ces marqueurs pour évaluer la diversité génétique des pathogènes comme *Phytophthora nemorosa* et *Pseudomonas pseudosyringae*.

Cependant, parmi les limites des marqueurs AFLP est qu'ils sont techniquement difficiles et coûteux. D'autre part, les AFLP sont notés comme marqueurs dominants, ce qui a réduit leur contenu informatif, car ils ne permettent pas de faire la distinction entre les individus hétérozygotes et homozygotes (Schlötterer 2004).

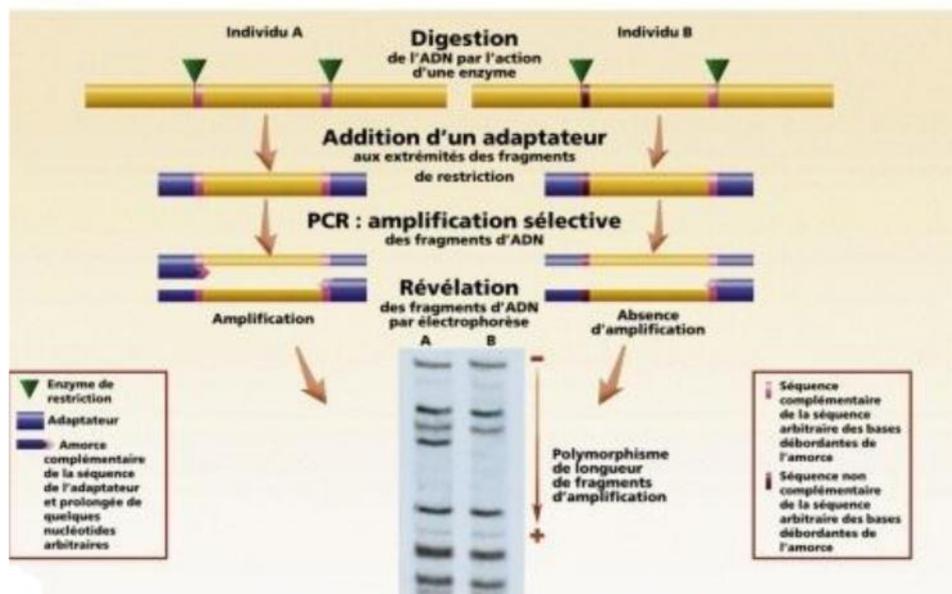


Figure 06: Polymorphisme de longueur des fragments d'amplification (AFLP) (Gnispedagogie).

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

La comparaison des principales techniques de marquage moléculaire est illustrée dans le tableau suivant, chaque technique de marquage moléculaire présente des avantages et des inconvénients.

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

Tableau 04 : Comparaison entre différents types des marqueurs RFLP, AFLP et SSR (Daniel et al. 2006, De vienne 1999).

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

III-3-2-4-Marqueur de type SNP (Single Nucléotide Polymorphisme)

Les SNP sont des variations naturelles qui ne concernent qu'un seul nucléotide dans une séquence donné. Comparés aux autres marqueurs moléculaires, les SNP présentent l'avantage l'une répartition homogène dans tout le génome et d'être excessivement nombreux. Ce nombre élevé permet donc potentiellement la création de cartes génétiques à très haute densité.

L'accumulation récente des données de génomes complétement séquencés, de séquences génomiques ainsi que de séquences codantes (EST) a permis de développer des marqueurs SNP chez plusieurs génomes végétaux comme le maïs , le blé (Somers et al. 2003).

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

IV-Sélection assisté par marqueur SAM en amélioration du blé

L'utilisation de variétés résistantes constitue une composante essentielle pour la majorité des programmes de sélection et un moyen de contrôle efficace qui prend en considération l'aspect écologique aussi bien qu'économique. Cependant, la pression de sélection exercée par les variétés à résistance monogénique favorise le développement de nouveaux biotypes capables de contourner cette résistance, ce qui nécessite la recherche continue et rapide de nouvelles sources de résistance. Cette recherche a été largement facilitée par l'avènement des techniques de marquage moléculaire durant ces dernières années.

En effet, plusieurs gènes de résistance aux insectes et aux maladies ont été récemment localisés dans le génome du blé dur par l'établissement de liaisons entre ces derniers et des marqueurs moléculaires sur les différentes cartes génétiques (Gupta et al. 1999 ; Yencho et al. 2000 ; Langridge et al. 2001).

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

La sélection assistée par marqueurs (MAS) est particulièrement avantageuse dans le cas de l'amélioration des résistances aux maladies et aux insectes (Michelmore RW 1995 ; Yencho et al .2000 ; Langridge et al. 2001). Elle peut se faire sans avoir recours aux tests d'inoculation, permettant ainsi d'éviter les erreurs associées à l'utilisation de ces procédures et de mener à l'amélioration de la résistance même dans les aires où le pathogène n'existe pas.

De même, les marqueurs moléculaires permettent le cumul rapide de plusieurs gènes dans une seule variété élite en vue d'une résistance plus efficace, et la maîtrise de la taille des fragments chromosomiques introduits par rétrocroisements, ce qui élimine les effets défavorables susceptibles d'être transmis avec les gènes cibles introgressés (Hospital, 2001). Ainsi, les schémas de sélection seront accélérés puisque le sélectionneur peut inférer la présence du gène par la présence du marqueur avant même l'expression du phénotype.

Cette sélection assistée par marqueurs est donc d'un intérêt certain pour le sélectionneur puisqu'elle offre l'avantage d'une sélection efficace, rapide et précoce, et devient alors un complément nécessaire aux méthodes traditionnelles d'amélioration génétique des céréales.

Outre leur intérêt dans le domaine de la sélection, les marqueurs moléculaires constituent des outils puissants pour la caractérisation moléculaire des gènes de résistance *via* la cartographie fine des régions contenant ces gènes menant à leur clonage (Tanksley et al. 1989). L'approche de cartographie des RGA (Resistance Gene Analogs)/ gènes candidats ouvre potentiellement la voie à l'identification de gènes de résistance chez le blé. Cette caractérisation devrait permettre de comprendre les mécanismes de défense mis en place par la plante lors de l'interaction avec le pathogène ou l'insecte.

Les récents développements du génie génétique et des biotechnologies constituent de nouvelles approches pour améliorer les stratégies de sélection. La

Chapitre III : Utilisation des marqueurs moléculaire pour l'amélioration du blé dur

sélection assistée par marqueurs (SAM) est basée sur la possibilité de détecter la présence d'un gène ou d'une caractéristique agronomique intéressante (QTL) par la recherche du marqueur qui lui est étroitement lié. La SAM est non destructif, elle nécessite peu de tissu végétal et elle n'est pas influencée par des facteurs environnementaux.

Les perspectives d'application des marqueurs moléculaires en sélection sont nombreuses. Ce type de sélection est particulièrement avantageux lorsque le caractère étudié est difficile ou coûteux à évaluer ou influencé par les conditions climatiques ou pédologiques (résistance au stress hydrique, résistance au stress biotique...).

La SAM présente un grand intérêt dans les programmes d'introgression destinées à modifier de manière ciblée un matériel génétique existant en remplaçant un segment chromosomique initial par un segment porteur de caractéristiques favorables apportées par un autre matériel . Cette approche suppose de croiser deux lignées, l'une considérée comme le parent donneur, l'autre comme le parent receveur.

La SAM peut également aider à accumuler dans une plante des gènes de résistance complémentaires pour une même maladie, de façon à obtenir une résistance multigénique qui sera potentiellement plus stable car plus difficile à contourner par le pathogène (Michelmore 1995).

Conclusion

La production de blé dur est fortement limitée par plusieurs contraintes biotiques déclenché par des champignons, des insectes, des bactéries, des adventices et abiotiques déclenché par le gel, la chaleur, les chocs de température, la salinité, déficit hydrique, le rayonnement solaire, les carences nutritives, le vent ...etc.

L'aspect d'une plante peut être modifié par ces conditions qui peuvent rendre l'identification d'une variété malaisée.

La lutte contre ces contraintes doit être gérée en prenant plus en compte les techniques des biotechnologies végétales ; l'introduction et l'utilisation de ces derniers sont étroitement liées à l'évolution de l'amélioration des plantes en tant que science ; plus précisément la création des nouvelles variétés résistantes aux différents stress biotiques et abiotiques.

Au-delà de la sélection classique, différentes techniques biotechnologiques comme les marqueurs moléculaires peuvent être utilisées pour améliorer la tolérance ou la résistance aux stress biotiques et abiotiques dans le but d'augmenter, de stabiliser la productivité des plantes cultivées.

Aujourd'hui, avec le marquage moléculaire, de nouvelles perspectives s'ouvrent pour le sélectionneur. La disponibilité de marqueurs moléculaires permettant de suivre les gènes influençant les performances, a ouvert la voie à une amélioration des évaluations. Ainsi, la sélection assistée par marqueurs (SAM) n'est possible que si les marqueurs moléculaires sont facilement utilisables et informatifs. Pour cela les marqueurs moléculaires deviennent un outil essentiel dans les programmes de sélection.

De plus le développement des marqueurs moléculaires et les différentes techniques (RFLP, AFLP, RAPD, Microsatellites) offrent la possibilité d'établir de nouvelles approches pour améliorer les stratégies de sélection. L'amélioration du blé dur dans divers domaines est actuellement longue et continue d'évoluer. En effet, le développement de variétés à grande production avec une qualité adéquate du grain reste le principal objectif du sélectionneur.

*Références
bibliographiques*

- J ADE (2000) Le marché mondial du blé dur et la place de l'Union Européenne. Rapport d'évaluation de la politique Communautaire du blé dur, p30.
- J Aouali S et Douici-Khalfi A (2013) Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes, développement et moyens de lutte. ITGC, p8-36.
- J Ammar K, Lage J, Villegas D, Crossa J, Hernandez E, Alvarado G (2006) Association among durum wheat international testing sites and trends in yield progress over the last twenty two years. International symposium on wheat yield potential. Cd. Obregon Sonora Mexico March 20-24th, p19.
- J Amrani B (2013) Maladie Méthode et échelle de notation des maladies et accidents divers. Bulletin des grandes cultures. ITGC 02, p5.
- J Anonyme (2002) Conseil international des céréales. International Grains Council. World Grains Statistics, p13-17.
- J Anonyme 01 (2017) Consulté le 20 mai 2017. Adresse URL :[http://www .gni-pedagogique .org/index](http://www.gni-pedagogique.org/index) .
- J Acevedo E (1989) Improvement of winter wheat crops in Mediterranean environments: Use of yield, morphological traits. Dans: Physiology Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments. Les Colloques de l'INRA 55 : 273-305.
- J Bahri B, Leconte M, de Valla vieille-Pope C, Enjalbert J (2009) Isolation of ten microsatellite loci in an EST library of the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis f.sp tritici* . Conserv Genet 10: 1425–1428.
- J Bajji M (1999) Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants soma clonaux sélectionnés *in vitro*. Thèse de doctorat Univ Louvain, p 227-231.
- J Benbelkacem A (2000) Evaluation du progrès génétique chez quelque variété de blé dur (*triticum turidum* Lvar *durum*) cultivées en Algérie. Options méditerranée 6: 105-110.
- J Benslimane H, Bouznad Z, Aouali S, Khalfi A, Benbelkacem K, et Sayoud R, (2006) Prévalence en Algérie de la tache bronze du blé causée par *Pyrenophora tritici repentis*. 6^{ème} Journées Scientifiques et Techniques Phytosanitaires, 20–21 juin 2006, El-Harrach, Alger, Algeria.

-) Benslimane H, Lamari L, Benbelkacem A, Sayoud R et Bouznad Z, (2011) Distribution of races of *Pyrenophora tritici-repentis* in Algeria and identification of a new virulence type. *Phytopathol. Mediterr*, p208.
-) Botstein D, White RL, Skolnick M, Dvies RW (1980) Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet* 32: 314–331.
-) Brunner P.C, Torriani S.F.F, Croll D, Stukenbrock E.H, et McDonald B.A, (2013) Coevolution and Life Cycle Specialization of Plant Cell Wall Degrading Enzymes in a Hemibiotrophic Pathogen. *Mol. Biol. Evol*, p1.
-) De Vienne D (1998) Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. Ed. INRA, p195.
-) Cherdouh A (1999) Caractérisation biochimique et génétique des protéines de réserve des blés durs Algériens (*Triticum durum* Desf.) : relation avec la qualité. *Memoire. Magistere. Univ. Constantine*, p338-342.
-) Prat D, Faivre Rampant P, Prado E (2006) Analyse du génome et gestion des ressources génétiques forestière. Ed. INRA Paris, p456.
-) Debiton C (2010) Identification des critères du grain de blé (*Triticum aestivum* L.) favorables à la production de bioéthanol par l'étude d'un ensemble de cultivars et par l'analyse protéomique de lignées isogéniques waxy, Thèse.Doct. Univ .Blaise Pascal, p210-225.
-) Dekkers JCM, Hospital F (2002) The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Natl. Rev. Genet* 3: 22–32.
-) De Vienne D (1998) Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. Ed. INRA, p195.
-) De vienne D (1998) Les Marqueurs Moléculaires en Génétique et Biotechnologie Végétales. Ed. INRA, p204.
-) De Vienne D (1999) Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. Ed. INRA, p195.
-) Djermoune Abdelkader (2009) La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques .Ed. Nature et Technologie, p46.
-) Dutech C, Enjalbert J, Fournier E, Delmotte F, Barrès B, Carlier J, Tharreau D, Giraud T (2007) Challenges of microsatellite isolation in fungi. *Fungal Genetics and Biology*, p47.

- J Eagles HA, Bariana HS, Ogonnaya FC, Rebetzke GJ, Henry RJ, Henschke PH, Carter M (2001) Implementation of markers in Australian wheat breeding. *Aust. J. Agric. Res.* 52:1349–1356.
- J Eyal Z, Scharen A L, Prescott J M et Ginkel V M (1987) The septoria diseases of wheat. Concepts méthodes of disease management CIMMYT Mexico, p52.
- J Ezzahiri B, Bouhache M, Mihi M (2011) Index phytosanitaire – Maroc Association marocaine de protection des plantes, p304.
- J FAO (1996) Report on the state of the world’s plant genetic resources for food and agriculture. FAO Rome, p75.
- J Feillet P (2000) Le grain de blé composition et utilisation. Ed. INRA Paris, p303-308.
- J Feldman M (2001) Origin of Cultivated Wheat. Dans Bonjean A.P et W.J. Angus .Ed.The World Wheat Book: a history of wheat breeding. Intercept Limited Andover Angleterre 75: 3-58.
- J Fellah A, Benmahammed A, Djekon A, Bozerzour H (2002) Sélection pour améliorer la tolérance au stress abiotique chez le blé dur (*Triticum durum* desf) .actes de l’IAV Hassan 2 (maroc) 22 :161-170.
- J Feuillet C, Langridge P, Waugh R (2008) Cereal breeding takes a walk on the wild side. *Trends Genet* 24: 24-32.
- J Furini A, Koncz C, Salamini F, Bartels D (1997) High level transcription of a member of a repeated gene family confers dehydration tolerance to callus tissue of *Cratogeomys plantagineum*. *EMBO J* 16: 3599–3608.
- J Grattans R, GRIEVE C.M (1993) Mineral Nutrient acquisition and response by plants grown in saline environment. *Handbook of Plant and Crop Stress*, p208-218.
- J Gupta PK, Roy JK, Prasad M (2001) Single nucleotide polymorphisms. A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. *Curr. Sci* 80: 524–535.
- J Gupta PK, Varshney RK, Sharma PC, Ramesh B (1999) Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant Breed* 118: 369–390.
- J Hajeer A, J. Worthington et John S (2000) SNP and Microsatellite Genotyping Markers for Genetic Analysis. *Biotechniques: Molecular Laboratory Methods Series*. Eaton Publishing Manchester UK, p195-230.

-) Henry Y ET BUYSER J (2000) L'origine du blé Pour la Science. Hors-serie 26: 60-62.
-) Hernandez P, Martin A, Dorado G (1999) Development of SCARs by direct sequencing of RAPD products: a practical tool for the introgression and marker-assisted selection of wheat. Mol. Breed. 5: 245–253.
-) Hospital F (2001) Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. Genetics 158: 1363–1379.
-) Huang S , Sirikhachornkit A , Su X, Faris J, Gill B, Haselkorn R, Gornicki P (2002) Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3- phosphoglycerate kinase of the *Triticum /Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploidy wheat 99: 8133-8138.
-)
-) INPV (2013) Reconnaissance et identification des principales maladies cryptogamiques du blé et de l'orge, p18.
-) INPV (2014) Problématique de la fusariose des céréales en Algérie Identification des espèces et leurs répartitions dans les zones potentiellement céréalières. Bulletin d'information phytosanitaire 33 : 3.
-) Kantety R.V, Diab A, Sorrells M.E (2005) Contribution à la mise en place d'une approche intégrée de lutte contre la sécheresse chez le blé dur au Maroc, p135-150
-) Laberche J-C 2004 La nutrition de la plante In Biologie Végétale. Dunod. 2^e.Ed. Paris, p154 -163.
-) Levitt J (1980). Responses of plants to environmental stresses. Academic Presse New York, p130.
-) Litt M et Luty J.A, (1989) A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a nucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. Am.J.Hum.Genet 44:397-401.
-) Masson E (2012) Diagnostic des accidents du blé tendre. ARVALIS-Institut du végétal, p36-40.
-) Mazouz H (1992) Etudes sur la septoriose du blé due à *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter (*Septoria tritici* Rob. ex Desm.) au Maroc. Thèse de troisième cycle. Uni. My Ismaïl. Fac. Des Sciences de Meknès, p112.
-) Michelmore RW (1995) Isolation of disease resistance genes from crop plants. Curr. Opin. Biol 6:145–152.

- J Mir R R, Zaman-Allah M, Sreenivasulu N, Trethowan R, Varshney R.K(2012) Integrated genomics physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops. *Theor Appl Genet* 1 25 :625–645.
- J Moreau L, Charcosset A, Gallais A (2001) Efficiency of marker-assisted selection compared with conventional selection OCL-Ol. *Corps Gras Lipides* 8:496–501.
- J Najimi B, El Jaafari S, Jlibène M, Jacquemin J.M, (2003) Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 7: 17–35.
- J Nasraoui B (2006) Les Champignons Parasites Des Plantes Cultivées, Biologie, Systématique, Pathologie, Maladies. Chapitre 4 Maladies. Centre de Publication Universitaire Tunis, p363-427.
- J Plomion C (2003) SSR Microsatellites Répétition de séquences simples: (Simple Sequence Repeats) .Principes des techniques de biologie moléculaire. Ed. INRA, p143 -146.
- J Pomeranz Y (1988) Chemical composition of kernel structures. *Wheat chemistry and technology* 1:97-158.
- J Rachel L, Rizzo D, and Garbelotto M (2005) AFLP Analysis of *Phytophthora nemorosa* and *P. pseudosyringae* Genetic Structure in North America. General Technical Report PSW-GTR, p149-151.
- J Röder M.S, Plaschke J, König S.U, Börner A, Sorrells M.E, Tanksley S.D, Smith J.S.C, Kresovich S, Hopkins M.S, Mitchell S.E, Dean R.E, Woodman W.L, Lee M, Porter K (1995). Genetic diversity among elite sorghum inbred lines assessed with simple sequence repeats. *Crop Sci* 40:226-232.
- J Saraoui Tahar (2011) Etude de la variabilité morphologique population f2 blé dur (*Triticum durum* Desf.) utilisation d'un indice de sélection. Mémoire de magister. Université Hadj lakhdar batna, p6-8.
- J Sayoud R, Ezzahiri B et Bouznad Z, (1999) Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. Ed. I.T.G.C. Alger, p64.
- J Sayoud (2004) Exploitation et synthèse des résultats d'enquêtes projets PNUD et MERS, p152.
- J Sayoud R (2008) Maladies et insectes des céréales en Algérie .Guide de champ Syngenta, p39.

- J Schlötterer C, (2004) The evolution of molecular markers—just a matter of fashion. *Natural Review of Genetics* 5:63–69.
- J Setti B, Bencheikh M, Henni D.E, Claire N (2011) Advances of Molecular Markers Application in Plant Pathology Research. *European Journal of Scientific Research* 50:110-123.
- J Somers D.J and Issac P (2004) A high-density wheat microsatellite consensus map for bread wheat (*triticum aestvum* L.) .*Theoretical and Applied Genetics* 109:1105- 1114.
- J Surget A, Barron C (2005) Histologie du grain de blé. *Industrie des céréales* 145: 4-7.
- J Unartngam J, Janruang P, To-anan C (2011) Genetic diversity of *Puccinia polysora* in Thailand based on inter simple sequence repeat (ISSR) markers analysis. *Journal of Agricultural Technology* 7:1125-1137.
- J Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Homes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kupier M and Zabeau M (1995) AFLP a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl Acids Res* 23:4407-4410.
- J Villareal L. M. M. A, Lannou C, de Vallavieille-Pope C, et Neema C (2002) Genetic Variability in *Puccinia striiformisf. sp. Tritici* Populations Sampled on a local Scale during Natural Epidemics. *Applied and environmental microbiology* 68:6138–6145.
- J Welsh J. et McClelland M, (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res* 18: 7213-7218.
- J Westman A.L. et Kresovich S (1999) Simple sequence repeats (SSR)-based marker variation in *Brassica nigragenbank* accessions and weed populations. *Euphytica* 109: 85-92.
- J Williams J.G.K, Kubelik A.R, Livak K.J, Rafalski J.A. and Tingey S.V (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl Acids Res.* 22:6531-6535.
- J Williams J.G.K, Hanafey M.K, Rafalski J.A, et Tingey S.V (1993) Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Methods in Enzymology* 218: 704-740.
- J Zillinsky F.J (1983) les maladies des céréales à paille. Guide d'identification. Ed. CIMMYT Mexico, p142.
- J Zhang J. X, Fernando X. G. D, and Remphery W. R (2005) Molecular detection of *Apiosporina morbosa*, causal agent of black knot in *Prunus virginiana*. *Plant Dis* 89:815-821.

Thème : Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé dur pour la tolérance au stress biotique et abiotique.

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

Le blé est une céréale importante en termes de consommation humaine dans de nombreux pays du monde. Les stress biotiques et abiotiques sont les principales contraintes qui menacent considérablement la culture et la production de cette céréale. L'amélioration de cette céréale est un défi continu pour les sélectionneurs, en raison des contraintes biotique et abiotiques qui limite sa production.

L'utilisation des marqueurs moléculaires s'impose comme une nécessité première pour l'étude de la tolérance du blé dur à ces contraintes.

Cette étude est basée sur l'utilisation de certain nombre de techniques de marquage moléculaire (SSR, RFLP, AFLP, RAPD) qui ont été utilisées dans le domaine de la sélection végétale dans l'objectif est de connaître le génome grâce à la réalisation des cartes génétique de développer des plantes plus performantes, plus productives, tolérantes à des stress biotique et abiotiques ou capables de croître dans des conditions difficiles.

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

Laboratoire de recherche : Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale-UFM

Jury d'évaluation :

Président du jury : Ms. **KELLOU Kame.** Maitre assistant -à l'Université des Frères Mentouri Constantine

Rapporteur : Mme. **KACEM N. Sandra.** Maitre conférence - à l'Université des Frères MentouriConstantine

Examineur : Mme. **GHIUUA-BOUCHTAB Karima.** Maitre assistante - à l'Université des Frères Mentouri Constantine.

Date de soutenance : 18 /06/2017