



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Génomique Végétale

Intitulé :

**Comparaison chromosomique de tous les génomes (A^m, A) de
Triticum monococcum L et des blés polyploïdes**

Présenté et soutenu par : BOUGHELLOUT ZOULIKHA.

Le : 28 Juin 2018

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. BENBELKACEM. A (D.R.I.N.R.A / CONSTANTINE)

Rapporteur : Mme. HAMOUDA. BOUSBIA. (MCA-UFM CONSTANTINE)

Examineurs : Mr. KELLOU .K (MAA-UFM CONSTANTINE)

Année universitaire
2017 – 2018

Remerciement

Au terme de ce travail

c'est avec beaucoup de gratitude que je remercie mon rapporteur Mme Hammouda-BousbiaDounia(MCA-UFMC) pour m'avoir intégrée dans son équipe du laboratoire de cytogénétique , pour ses dirigés du début à la fin de ce travail, je le remercie pour ses précieux conseils, pour sa patience et pour m'avoir fait confiance, en me laissant mener mon travail dans les meilleures conditions

Nous tenons à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement :

Monsieur le président du jury Benbelkacem .A maître de recherche A à l'I.N.R.A de Constantine, qui à accepter et bien voulu nous faire l'honneur de présider le jury.

Mr Kellou.K, maitre assistant à l'université Frères Mentouriconstantine 1, membre du jury examinateur, pour le temps consacré pour examiner ce modeste travail. Et pour vos précieux conseils et remarques .

Je tiens à remercier profondément l'ingénieure de laboratoire Dgeghar Radia.

Nos vifs remerciements sont adressés pareillement à tous mes enseignants de BTGV et à toute l'équipe de laboratoire GBBV.et toute l'équipe de département écologie et biologie végétale

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui participe de réaliser ce mémoire, à tous les étudiantes et les étudiants de ma promotion, sans citer des noms.

Dédicace

Ce travail modeste est dédié :

À ma chère mère

À mon père

A mes frères Toufik, Kamel et Nabil

À mon ami Sara Baghdouche

SOMMAIRE

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
<div style="border: 1px dashed black; padding: 5px; display: inline-block;">Chapitre I : Revue bibliographique</div>	
1. Histoire du blé.....	03
2 .Classification botanique et génétique.....	05
3. phylogénie du blé	06
4. La Polyplœdie	07
4.1. formation des polyplœides.....	09
4.2 .Doublement somatique du stock chromosomique.....	09
4.3. Formation et fusion de gamètes non réduits.....	10
5. Contribution des <i>Triticum</i> dans la constitution du génome du blé.....	11
5.1. Donneur du génome A	11
5.2. Donneur du génome B	12
5.3. Donneur du génome D	13
6. Blé diploïdes et blé polyplœides	14
6.1. Blé diploïde : « <i>Triticummonococcum</i> L »	14
6.2 .Blé polyplœides.....	16
6.3. Blé tendre.....	18
7. Notions de Cytogénétique.....	19
7.1 Définitions.....	19
7.2. Critère d'identification des chromosomes après coloration de (Giemsa).....	22
8.Techniques de coloration : C-banding.....	25
<div style="border: 1px dashed black; padding: 5px; display: inline-block;">Chapitre II : Matériels et méthodes</div>	
1. Matériels.....	26
2. Technique de marquage C-banding.....	28
2-1 .Etapes préliminaires.....	28
2-2. Etapes de C-banding	30

Chapitre III : Résultats et Discussion

1 : Résultats.....	31
1-1 Analyse des différents génomes.....	32
2. Discussion	40
CONCLUSION.....	44
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	46
Résume	51
Abstract.....	52
ملخص.....	53

LISTE DE FIGURE

numéro	Titre des figures	page
01	schéma montrant la polyploïdie de nombreuses mutations ont permis une diversification importante des espèces des blés	07
02	Schéma illustrant le mécanisme de doublement des chromosomes.	10
03	Formation des gamètes non-réduits	11
04	Différentes voies de formation des allopolyploïdes	13
05	épis et graines de <i>Triticum monococcum</i> L	16
06	Origine génétique du blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf.)	17
07	Origines possibles du blé tendre d'après	18
08	Organisation du génome hexaploïde du blé tendre.	19
09	Les différents niveaux de restructuration de la chromatine	20
10	Chromosome en interphase et métaphase (Gautheret .,2012).	22
11	La forme d'un chromosome	23
12	A gauche : un chromosome métaphasique, A droite : un chromosome prophasique.	25
12	les espèces et les variétés homologuées utilisées en C-BANDING.	26
13	Caryotype de <i>Triticum monococcum</i> L	33
14	Caryotype de <i>Triticum durum</i> Desf variété Oued-Zenati	35
15	Caryotype de <i>Triticum durum</i> Desf variété Cirta	35
16	Caryotype de <i>Triticum durum</i> Desf variété Boussalam	36
17	Caryotype de <i>Triticum aestivum</i> L variété Mahon demias	38
18	Caryotype de <i>Triticum aestivum</i> L variété Ziad	38
19	Caryotype de <i>Triticum aestivum</i> L variété Tessalah	39
20	La distribution des zones riches en séquences d'ADN hautement répétées (Hétérochromatine) sur les chromosomes de génom A	41

LISTE DE TABLEUX

numéro	Titre des TABLEUX	page
01	La classification du blé dur, selon APG 2013	18
02	Origines possibles du génome B	13
03	Nomenclature chromosomique	24
04	La liste des espèces et des variétés homologuées et leurs caractéristiques	27

Liste des abréviations

<i>Ae</i>	<i>Aegilops</i>
ADN	Acide désoxyribonucléique
A ^m	Le génome A de <i>triticum monococcum</i> L
B	Chromosome B.
F.I.S.H	Hybridation in situ par fluorescence
Fig	Figure
HC	Hétérochromatine constitutive
HCl	Acide chlorhydrique
ITGC	Institut technique des grandes cultures
M	Métacentrique sensu stricto
MADR	Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
min	Minute
NOR	Région organisatrice nucléaire
q/h	Quintaux par hectare
Sm	Sub-métacentrique
T	télocentrique
m	Métacentrique sensu largo
sm	submétacentrique
st	subtélocentrique
t	acrocentrique
BL	Bras longue
BC	Bras court

Introduction

Introduction

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébin (**.Djermoun.,2009**). Le secteur des céréales occupe une place très importante dans l'économie algérienne car l'Algérie appartient au groupe des plus gros importateurs de blé dans le monde, ou elle est classée à la sixième place. En effet, les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien (**Kellou., 2008**). Produire plus de céréales est devenue une question préoccupante pour l'Algérie, dont les besoins, d'une population en pleine croissance, sont estimés à plus 111 million de quintaux vers 2020 (**Ouanzar.,2012**). Parmi ces céréales, le blé qui est une culture importante dans le monde en termes de superficie cultivée contribuant à l'approvisionnement alimentaire mondial ainsi que l'assurance d'une sécurité économique.

L'espèce majoritairement cultivée (>90% des cultures) est le blé tendre *Triticum.aestivum*, utilisé principalement pour la fabrication du pain. Le blé dur *Triticum.durum* est utilisé pour la fabrication des pâtes alimentaires et des semoules (5% de la production de blé). C'est la différence de dureté du grain (dur ou tendre) qui les destine à ces utilisations différentes. L'origine de la culture du blé se confond avec les débuts de l'agriculture, il y a plus de 10.000 ans dans le croissant fertile. Il a été la première espèce végétale domestiquée et sélectionnée par l'homme (**Matieu., 2010**).

En Algérie, la culture de blé dur (*Triticum.durum*, Desf.) est une activité ancestrale. Elle se pratique sur une large étendue qui va du subhumide à l'aride supérieur et occupe presque, de moitié les emblavures annuelles en céréales. Pour l'année 2012, les emblavements, en blé dur ont atteint 1,34 million d'hectares pour une production moyenne de 24 million de quintaux soit un rendement moyen de 18 q/h (MADR, 2012) et qui reste très inférieur au rendement moyen de l'Union Européenne qui est de 29 q/h pour la même année.

L'amélioration des plantes consiste à créer une variabilité génétique nouvelle, puis sélectionner et fixer, parmi cette diversité, les génotypes intéressants. Pour répondre à cet objectif, les formes sauvages constituent des ressources phytogénétiques importantes utiles pour l'adaptation des plantes cultivées aux contraintes environnementales. Souvent, l'amélioration génétique d'une espèce, telle

Introduction

que le blé dur, repose en grande partie sur l'apport continu, la gestion et l'exploitation de la variabilité qu'elle présente, mais cette variabilité peut être restreinte, voire absente pour certains caractères. Cependant, cette variabilité peut être recherchée chez les espèces sauvages apparentées aux blés durs cultivés tel que les *Triticum. Dicoccum* et *T.monococcum*. (Hamel .,2010).

Pour réaliser ces objectifs plusieurs outils d'analyse de la variabilité génétique existant, les uns reposent sur des critères morpho-physiologiques, cytogénétiques, les autres, récents et plus performants, font appel à des marqueurs moléculaires.

La comparaison des génomes de plusieurs espèces de blé, depuis leurs formes sauvages jusqu'aux formes cultivées utilisées aujourd'hui, nous éclaire sur des mécanismes génétiques originaux liés à l'évolution de cette céréale.

Dans le cadre d'un projet de recherche portant sur les ressources phylogénétiques du blé dur, mené au laboratoire de "Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales nous nous sommes intéressés à une analyse comparative structurale de tous les génomes **A**, appartenant aux : (i) l'espèce ancestrale *Triticummonococcum* ($2n=2x=14$, **AmAm**) et (ii) les blés polyploïdes (*Triticumdurum* ($2n=4x=28$, **AABB**), *Triticumaestivum* ($2n=6x=42$ **AABBDD**). , Pour ce faire, nous avons appliqué la technique du marquage cytogénétique « **C-banding** ».

Dans cette étude il s'agit de mettre en évidence :

- Identification des chromosomes des génomes **A**
- distribution des zones riches en séquences d'AD N hautemetrepetées non codantes.
- Détermination du rôle de l'hétérochromatie dans l'adaptation de l'espèce aux conditions climatiques défavorables.

Le mémoire est structuré en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique tout en mettant l'accent sur la présentation des blés et leurs importance dans le monde et en Algérie d'une part,les notions cytogénétiques d'autre part.
- Dans le deuxième chapitre, nous décrirons le matériel et les méthodes d'étude utilisés.
- Dans le troisième chapitre, nous présenterons un bilan des résultats obtenus lors de différentes études cytogénétiques .Enfin, nous terminerons par une discussion et conclusion générale.

CHAPITRE I

Revue bibliographique

1. Histoire du blé

Les plus vieilles traces de cultures de blé ont été découvertes au Moyen-Orient, env. 7 000 ans avant l'ère chrétienne. Avec sa propagation plus tard en Europe, Afrique du Nord et Asie.

Historiquement, au Moyen et à la Renaissance, le mot *bleds* faisait référence aux cultures annuelles. Au XVIII^e siècle, le terme « blé » désignait toute plante cultivée dont les graines pouvaient être réduites en farine pour l'alimentation humaine. Le blé est l'une des cultures les plus répandues actuellement. Les civilisations babyloniennes et égyptiennes se sont développées autour du blé (**Chetmi 2009**).

Au fil des ans, sa culture a été développée pour répondre aux besoins de l'homme. À partir de l'engrain et de l'amidonier, l'homme en a fait une plante performante. Les répercussions de ces modifications sur la tolérance au blé font l'objet de controverses. Le blé lui-même a été modifié, adapté aux besoins de l'homme et manipulé génétiquement pour relever les défis du futur. L'agriculture et la culture moderne ont permis d'augmenter considérablement les récoltes. Ont été aussi améliorés le cycle de croissance, la maturation ainsi que la résistance aux maladies et les qualités culinaires.

Origine géographique des blés

Le blé Einkorn (*Triticum.monococcum*)L., $2n = 2x = 14$, $A^m A^m$) (**Megyri et al.,2016**).un aliment de base des premiers agriculteurs depuis plusieurs milliers d'années (**Hidalgo et Brandolin.,2014**) est l'une des cultures les plus anciennes et le premier blé domestiqué vers -7500 ans, dans le nord du croissant fertile au Proche Orient zone couvrant la Palestine, la Syrie, l'Irak et une grande partie de l'Iran.

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

Le blé tétraploïde a été domestiqué dans du bassin du Jourdain, plus au sud. D'autres centres de diversité du blé tétraploïde sont représentés par le plateau éthiopien, le bassin méditerranéen et le Transcaucasie (**Feldman, 2001**). L'Ethiopie a

été considérée par Vavilov (1951) comme étant le centre d'origine de blé tétraploïde, alors que Feldman la considère comme un centre de diversité (**Laala., 2010**).

Vavilov cité par Erroux et Laumont (1961) situe l'origine du blé dur en Abyssinie, ce dernier considérait trois centres d'origine distincts pour les trois groupes d'espèces du genre *Triticum*. Le foyer Syrien et nord Palestinien pour le groupe diploïde

- Le foyer Abyssinien pour la diversification du blé tétraploïde
- Le foyer Afghano-Indien pour la diversification des blés hexaploïdes.

L'Algérie se trouvant à proximité de ce centre primaire d'origine, la diversification et le polymorphisme considérable de l'espèce blé dur dans nos région ont invité Vavilov à considérer l'Afrique du nord comme centre secondaire d'origine du *Triticum durum* (**Chetmi .,2009**).

La culture du blé s'est diffusée vers le Nord-Ouest par les plaines côtières du bassin méditerranéen et au travers des Balkans (URSS) (Union des républiques socialistes soviétiques) puis en suivant la vallée du Danube (Allemagne) pour arriver à la vallée du Rhin (France) entre 5000 et 6000 avant J.C.

Les restes archéologiques montrent que le blé atteint L'Ouest de l'Europe 5000 avant J.C environ. Dans le même temps, il diffuse vers l'Asie et l'Afrique.

L'aire géographique du blé est *le Tigre et L'Euphrate* en Iraq, elle s'est étendue jusqu'au Nil en Egypte où des variétés de blé ont été découvertes dans les temples égyptiens.

L'espèce *Triticum durum* est différenciée dans trois centres secondaires différents qui sont :

- Le bassin occidental de la Méditerranée
- Le sud de la Russie
- Le proche Orient

Chaque centre secondaire donna naissance à des groupes de variétés botaniques aux caractéristiques phénologiques, morphologiques et physiologique particulières selon Monneveux (1991).



Figure 07 : Origine et diffusion de blé (Bonjean, 2001).

2 .Classification botanique et génétique

Le blé est une **monocotylédone**, appartenant à la famille des **poaceae**. Trois groupes de triticum sont connus, répartis selon le nombre de leurs chromosomes :

- Le groupe **diploïde** (2×7 chromosomes) comprend *triticum monococcum* L (en grain), et *Triticum urartu* qui font partie des formes les plus anciennement cultivées, caractérisées par des épis grêles ou les grains restent enveloppés par les glumelles.
- Le groupe **tétraploïde** (4×7 chromosomes) comprend *triticum.dicoccoides* (amidonnier sauvage), *T.dicoccum* (amidonnier) *T. turgidum* et *T.durum*, a épis denses dont les grains riches en gluten servent à fabriquer les pâtes alimentaires.
- Le groupe **hexaploïde** (6×7 chromosomes) représenté par *T. vulgare*, ou *T.aestivum* (blé tendre) et *T.spelta* (épeautre), comprend la majorité des blés à épis assez larges et aux grains riches en amidon nécessaire à la fabrication du pain. (Lesage, 2011).

Les poacées sauvages constituent des ressources importantes de variabilité génétique. Elles sont porteurs de nombreux gènes à fort potentiel économique qui interviennent dans des caractères tels que : résistance aux maladies, tolérance au froid, tolérance à la salinité, résistance à la sécheresse, qualité des protéines de réserve.

Tableau 01 : La classification du blé, selon APG 2013 est la suivante :

Règne	Planta
S. Règne	Magnoliophyta (angiospermes)
division	Magnoliopsida
S.division	Euengiospermes
Class	Monocotylédones
S.class	Monocotylédones évoluées
Ordre	Poale
Famille	Poacées
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>T.monococcum L</i> <i>Triticum. durum .Desf</i> <i>T. aestivum L</i>

3. phylogénie du blé

Les différentes espèces de blé ont générées par des évènements successifs de polyploïdisation intervenant après des croisements interspécifiques entre trois espèces ancestrales diploïdes.

Le premier évènement, impliquant *Triticum urartu* de génomes AA et *Aegilops speltoides* de génome BB, a eu lieu il ya environ 500 000 ans et a conduit à l'apparition du blé dur tétraploïde AABB: *triticum turgudum L*(ou blé a pates).

le deuxième évènement de polyploïdisation a eu lieu au cours de la domestication, il y a environ 9000-12000 ans, entre le blé dur cultivé (tétraploïde) et un autre blé diploïde de génome DD *Aegilops squarosa* (ou blé a pain), possédant un génome hexaploïde AABBDD (**Lesage ,2011**). Cette allopolyploïdisation a conduit à la formation de génomes AABBDD de très grande taille. Le génome du blé tendre est

structuré en 21 paires de chromosomes regroupées en sept groupes homéologues représentant les génomes de chaque ancêtre (Griffiths *et al.*, 2006).

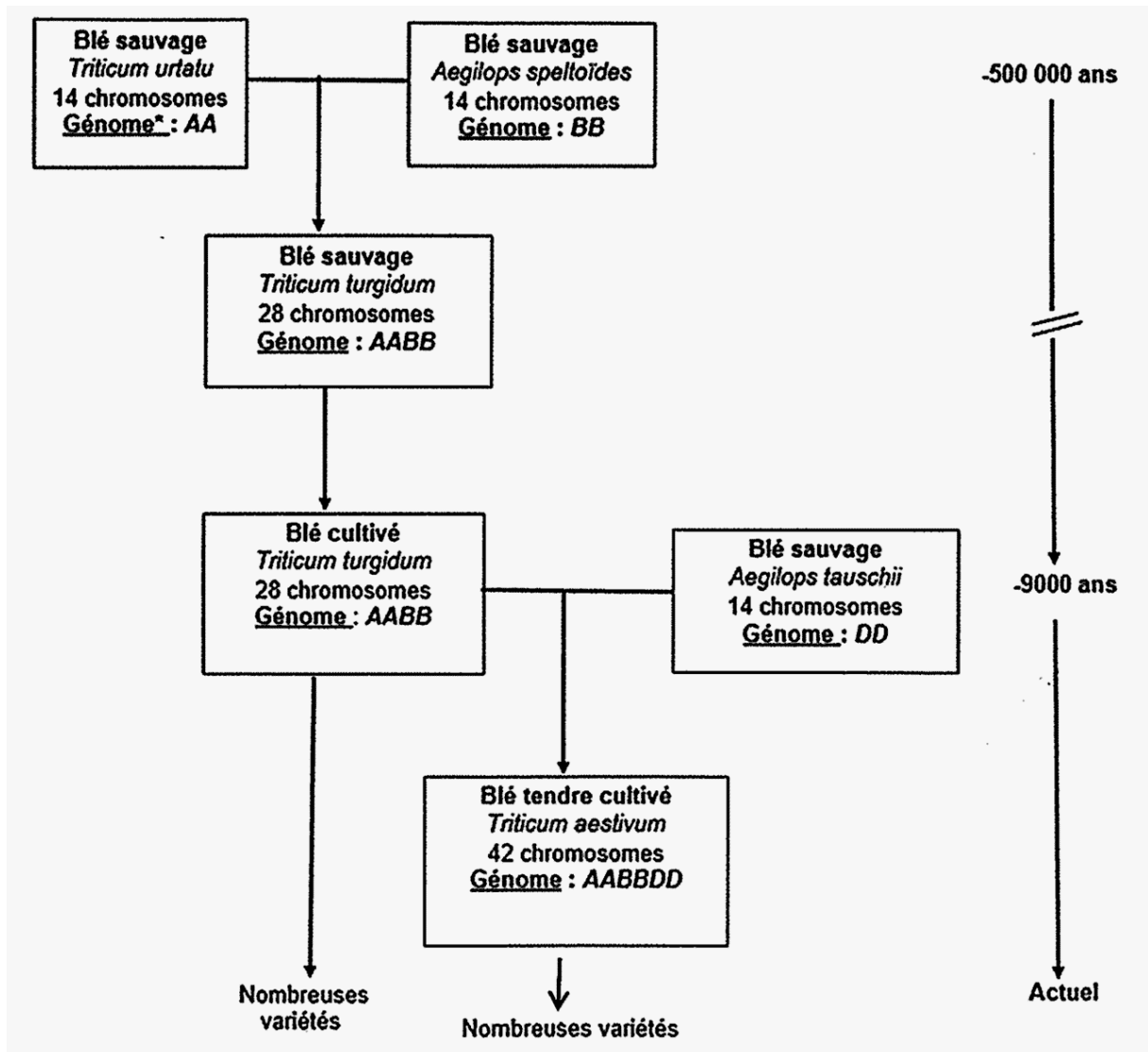


Figure 01 : schéma montrant la polyploïdisation de nombreuses mutations ont permis une diversification importante des espèces des blés (CNRS ., 2011)

4. Polyploïdie

Le terme de polyploïde qualifie les individus ou les cellules qui présentent plus de deux lots de chromosomes. Plusieurs types de polyploïdes sont distingués selon les événements qui sont à leur origine (Chen & Ni 2006), (Chen 2007). Les **autopolyploïdies** au sein des quels des génomes provenant d'une même espèce sont juxtaposés sont composés de plusieurs jeux de chromosomes homologues. Les **allopolyploïdes** qui résultent d'une hybridation interspécifique associée à un

doublement de chromosomes présentent à la fois des paires de chromosomes homologues mais aussi des jeux de chromosomes apparentés (homéologues), plus ou moins divergents, provenant des espèces parentales. Des espèces cultivées comme le Coton, le Blé, le Colza, le Caféier, le Tabac, le Citronnier, le Concombre, l'Arachide mais aussi de nombreuses espèces sauvages comme la Spartine (*Spartina*), *Tragopogon* et *Senecio* sont des allopolyploïdes.

La polyplôïdie joue un rôle fondamental dans l'évolution des plantes. En effet, elle est considérée comme un facteur majeur de spéciation, de diversification et d'adaptation écologique des plantes (**Combes Gavalda., 2017**).

Plusieurs espèces de ploïdie différentes sont regroupées dans le genre *Triticum* qui est un exemple classique d'allo polyplôïdie, dont les génomes homéologues dérivent de l'hybridation inter espèces appartenant à la même famille. Les organismes avec des cellules contenant deux copies de chaque chromosome sont dits diploïdes ($2n=2x$). Leur méiose produit des gamètes haploïdes (n) et la fusion de ces gamètes forme un embryon diploïde. Les cellules avec plus de deux jeux de chromosomes sont dites polyplôïdes (tétraploïde : $2n=4x$, hexaploïde : $2n=6x$). Le niveau de ploïdie d'un organisme est celui de l'ensemble de ses cellules, en excluant les quelques cas particuliers ayant un nombre de chromosomes différents comme les gamètes et les cellules endomitotiques (**Mathie., 2010**). Les allopolyploïdes se répartissent en deux catégories ; les **allopolyploïdes génomiques** dérivant du croisement entre espèces aux génomes distincts et les **allopolyploïdes segmentaires** résultant d'un croisement entre espèces plus proches et qui présentent une homologie partielle de leurs génomes (**Oudjani .,2009**).

L'allopolyploïdie a joué un rôle majeur dans l'évolution des céréales, l'un des allopolyploïdes les plus remarquable est le *T. aestivum* (blé hexaploïde ou blé tendre), son génome est AA BB DD ($2n= 6x= 42$), le blé tétraploïde est également issu d'allopolyploïdie. Il existe cinq combinaisons génétiques au blé : AA ($2n = 2x = 14$) blés diploïdes, AABB et AAGG ($2n = 4x = 28$) blés tétraploïdes et AABBDD et AAAAGG ($2n = 6x = 42$) blés Hexaploïdes (**Boudchicha., 2009**). Chez les Triticeae, Les polyplôïdes sont généralement plus développées que les diploïdes et dans bien des cas leurs fruits, leurs graines et l'organe de réserve sont plus volumineux. Ces

avantages ont été observés depuis l'avènement du développement agricole et les agriculteurs ont sélectionné ces formes polyploïdes de façon inconsciente et sans en connaître la cause. Ce n'est que vers la fin du 19^{ème} siècle après que le développement de microscopes performants a permis d'observer et de compter les chromosomes individuellement lors des phases de la diacinèse et de la métaphase, que l'on a reconnu ce phénomène (**Hammouda., 2013**).

4.1. La formation des polyploïdes

Plusieurs voies permettent d'aboutir à un allopolyploïde contenant des paires de chromosomes homologues et au moins deux jeux de chromosomes homéologues. Plusieurs modèles sont proposés. En deux étapes, l'allopolyploïde est formé par l'hybridation de deux espèces diploïdes suivie d'un doublement chromosomique de l'hybride F1 (**Combes Gavalda., 2017**).et la fusion de gamètes non réduites trouvant leur origine dans des erreurs de division cellulaire. (**Mathie., 2010**). (**Hammouda., 2013**)

4.2. Doublement somatique du stock chromosomique

L'absence de division cellulaire lors de la mitose, après la réplication des chromosomes, aboutit à la formation d'une cellule somatique polyploïde. En principe, elle ne conduit pas à la formation d'un individu polyploïde. Cependant, si le doublement chromosomique se produit dans une des cellules se différenciant en gamètes (pré-zygotique), dans l'œuf ou dans une des cellules du jeune embryon (post-zygotique), il peut être à l'origine de la formation d'un individu polyploïde viable. (**Mathie., 2010**). (**Hamouda., 2013**). Bien que le doublement somatique soit couramment utilisé pour générer des polyploïdes synthétiques au laboratoire (doublement induit par un agent chimique tel que la colchicine ou le colcemide), il est admis que la plupart des polyploïdes ont été formés par la voie des gamètes non-réduits **Ramsey&Schemske, 1998**) (**Mestiri., 2010**).

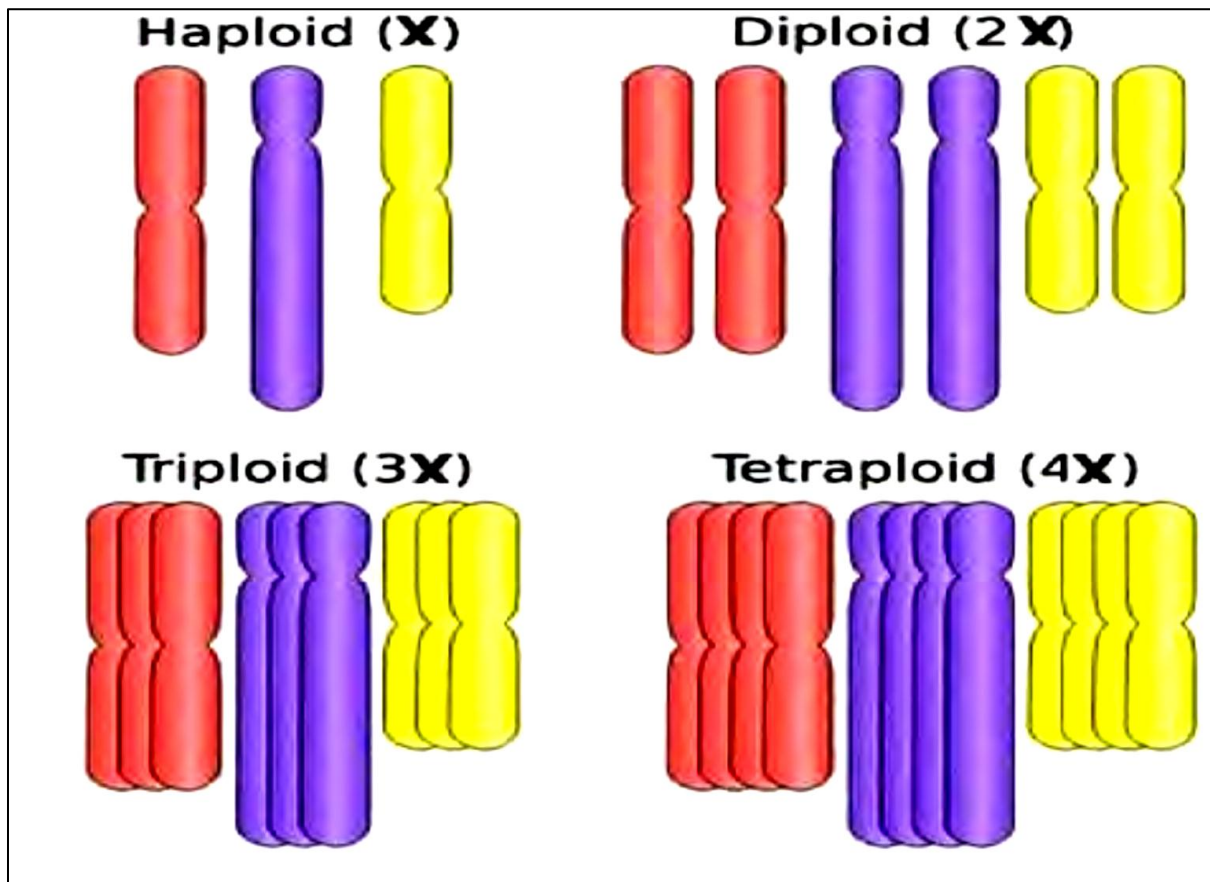


Figure 02: Schéma illustrant le mécanisme de doublement des chromosomes.

4.3. Formation et fusion de gamètes non réduits

Les gamètes non réduits (gamètes $2n$ ou diplogamètes) contiennent le même nombre de chromosomes que la plante dont ils sont issus et trouvent leur origine dans les anomalies méiotiques, notamment l'absence de première ou deuxième division méiotique et l'organisation anormale des fuseaux. (Mestiri, 2010).

Cette voie de formation implique l'autre grande division cellulaire : la méiose. Une méiose normale débute dans une cellule avec des paires de chromosomes homologues possédant chacun deux chromatides sœurs. Lors de la première division méiotique, les paires de chromosomes se séparent. Ensuite les chromatides sœurs qui se séparent pendant la deuxième division pour former finalement quatre gamètes haploïdes. On dit que ces gamètes sont réduites car elles ont chacune un seul jeu de chromosomes (à une chromatide). Une erreur lors de la méiose peut aboutir à la formation de gamètes diploïdes non réduites par des mécanismes encore mal connus. On en distingue quatre types différents.

Les polyploïdes sont étudiés dans de nombreux contextes : génétique, génomique fonctionnelle, génomique comparative, génomique évolutive, phénotypique pour la sélection et l'amélioration (Combes Gavalda., 2017).

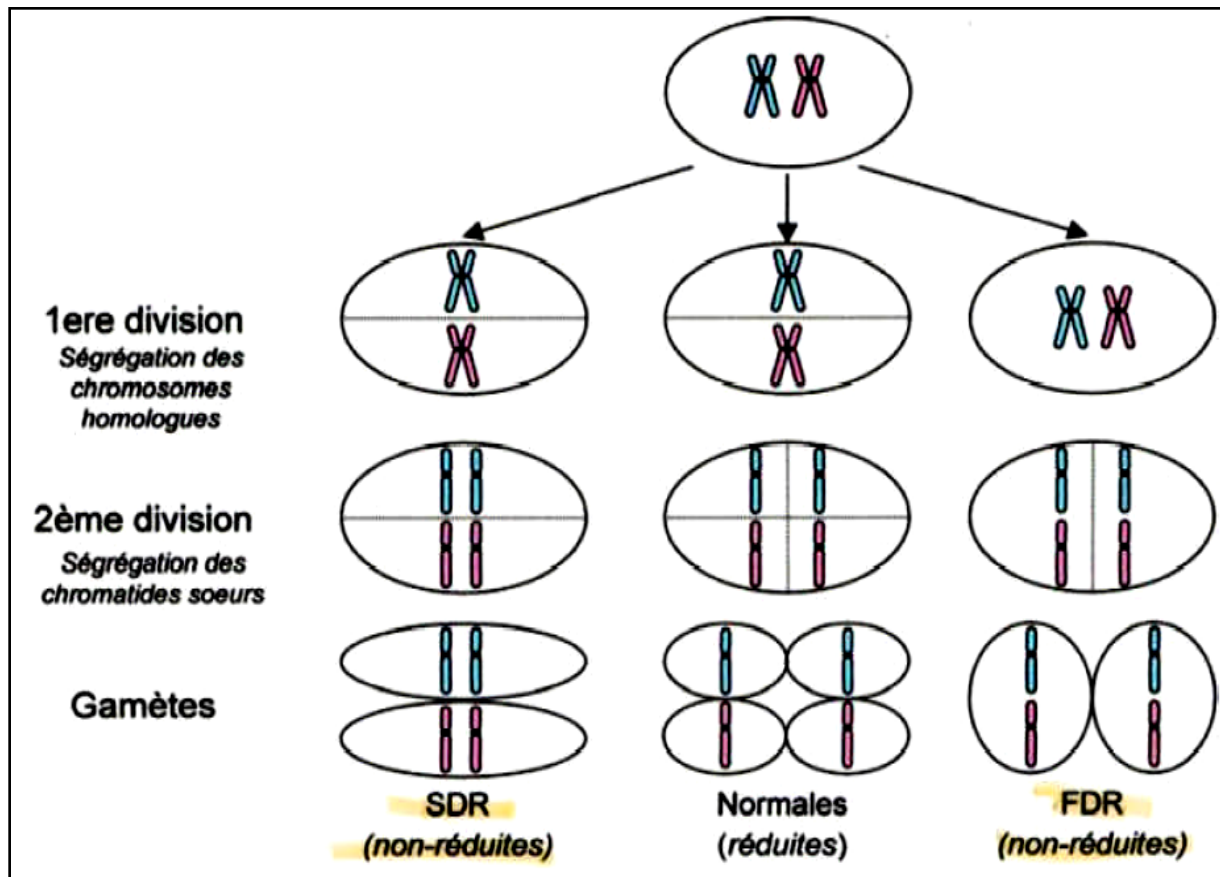


Figure 03: Formation des gamètes non-réduits (Charle, 2010).

5. Contribution des *Triticum* dans la constitution du génome du blé

Différents types d'études cytogénétiques, moléculaires et biochimiques fournissent un aperçu sur les origines des génomes A, B, D et G chez les espèces allopolyploïdes (Boudchicha., 2009).

5.1. Donneur du génome A

Les travaux de Kihara (1924) cité par Felix (1966) ont permis d'attribuer l'origine du génome A à *Triticum monococcum* var. *boeoticum* ou var. *urartu*. (Oudjani, 2009) (Boudchicha., 2009).

Une étude récente basée sur le polymorphisme des séquences répétées à établi que *Triticum urartu* qui est un proche parent de *Triticum boeoticum* mais non inter-fertile

est le donneur du génome A pour tous les blés polyploïdes (**Oudjani., 2009**). Les études cytologiques affirment que les blés tétraploïdes ainsi que les blés hexaploïdes ont reçus leur génome A du **groupe Einkorns (*Triticum monococcum*)**(**Sears, 1948 in Sarkar et Stebbins, 1956**) .Selon Johnson (1972) le génome A des blés cultivés proviendrait d'un blé diploïde (AA) qui Est *T.boeiticum* et son dérivé *T.monococcum* L (il s'agit peut-être de la même espèce). (**Boudchicha., 2009**).

Le blé diploïde (Kim *et al.*, 1992) , *T.monococcum*.L. ($2x=2n=14$, AA), serait la source du génome A chez les blés polyploïdes *Triticum.turgidum*.L et *Triticum aestivum*.L (**Kuspiraet al.(1985,1986 a , 1986b,1989)** ; **Gill et al.(1987)** ; **Friebeet al. (1990)**).

Plus tard Kimber, Sears (1987) et Dvorak (1976, 1998) ont rapporté que *T. urartu* est le donneur du génome A mise a par la paire chromosomique 4A par l'analyse cytogénétique des séquences nucléotidiques répétées du génome A chez les espèces : *T. turgidum*, *T. timopheevii*, *T. aestivum*, il a été confirmé que ces séquences ont peu de divergence par rapport à celles du génome A de *T. urartu*.. (**Hamdi, 2003**)(**boudchicha ., 2009**).

5.2. Donneur du génome B

Plusieurs recherches ont tentées d'identifier les espèces parentales qui ont contribué à la formation du génome B des blés tétraploïdes et hexaploïdes par des méthodes cytologiques mais sans succès. La cause principale de cet échec est due aux changements qui doivent avoir eu lieux au niveau du génome B lors de son incorporation dans les individus allopolyploïdes. (**Sears, 1948 in Sarkar et Stebbins, 1956**).(**Boudchicha., 2009**)

Récemment les cinq espèces *Aegilops* appartenant à la section *Sitopsis* ont été successivement proposés comme donneurs potentiels du génome B : *Ae. bicornis*, *Ae.longissima*, *Ae. searsii*, *Ae. sharonensis*, et plus fréquemment *Ae. speltoides*.

En effet, les premières constations morphologiques faites par Sarkar et Stebbing (1956) , Riley et *al.*,(1958) attribuèrent l'origine du génome B à *Ae. speltoides*. Alors

que l'utilisation du C-banding par Gill et Kimber 1974 (**Hamdi, 2003**) montre que les chromosomes d'*Ae. speltoides* ne présentent pas d'homologie avec ceux du génome B.

Les difficultés rencontrées lors de la recherche d'un ancêtre diploïde BB amènent à se demander si le génome B n'a pas une autre origine.

De nombreuses hypothèses sont émises quant à l'origine du génome B du blé : Le tableau I synthétise ses explications plausibles.

Tableau 02: Origines possibles du génome B

Auteur	Année	Origine possible du génome B
Pathak	1940	<i>Aegilopsspeltoides</i>
Sarkar et Stebbins	1956	<i>Aegilopsspeltoides</i>
Johnson	1975	<i>Triticumurartu</i>
Konarev et al	1976	<i>Aegilopslongissima</i>
Feldman	1978	<i>Aegilopssearsii</i>
Kushnir et Halloran	1981, 1983	<i>Aegilops sharonensis</i>
Lange et Balkemaboomstra	1988	<i>Aegilops</i> , Vizde la section <i>Sitopsis</i>

D'après ce tableau, l'origine du génome B. Il est présent chez la plupart des blés tétraploïdes, il est similaire a *Aegilops speltoides*. Ainsi six espèces ont été données ou proposées en tant que donneuses potentielles et *Aegilops searsii* semble être le donneur le plus probable (**Kerby et Kuspira, 1987**).

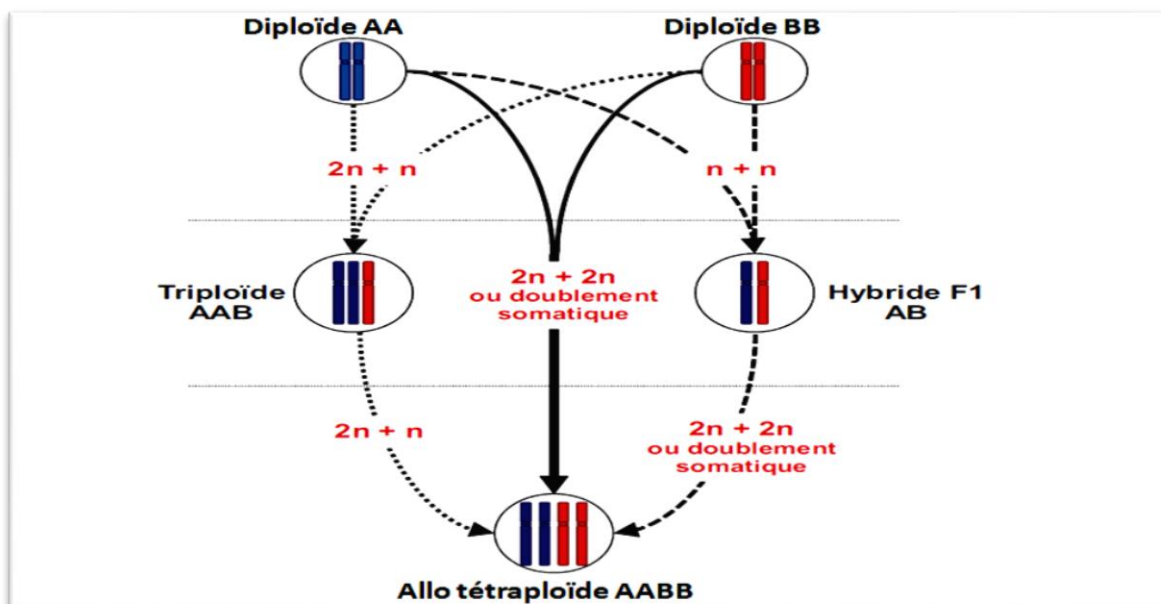


Figure 04: Différentes voies de formation des allopolyploïdes : directe (flèches pleines) et indirecte (flèches en pointillés) (d'après Ramsy & Schemske, 2002)

5.3. Donneur du génome D

Kihara (1944), Faden et Sears (1946 in Sarkar et Stebbins, 1956) confèrent l'origine du génome D à *Ae.squarrosa*, ce qui sera confirmé plus tard par Johnson (1972). Royburn et Gill

(1987, in Monneveux et al 2000) rapportent que *Ae.tauchi*= *Ae.squarrosa* est bien le donneur du génome D. Yan et al (2002), montrent que les profils électrophorétiques obtenus par Acid-PAGE1 du génome D chez les accessions d'*Ae.tauschii sspstrangulata* sont très proches des profils électrophorétiques de *T.aestivum*, et supposent donc la sous espèce *strangulata* comme progénitrice du blé cultivé.

Depuis longtemps l'origine du génome D reste indéniable et les études ne le cessent de le confirmer, Deng Eao (1997) a démontré qu'il existe une homologie complète des chromosomes d'*Ae.tauchii* avec ceux du génome D de *T.aestivum*. Récemment Boyko et al (2002), ont réussi à établir la carte génétique des 7 chromosomes de *Ae.tauchii* (coss) et ils ont confirmés qu'il est bien le donneur du génome D.

6. Blé diploïdes et blé polyploïdes

6.1. Blé diploïde : « *Triticum monococcum* »

Les espèces sauvages constituent un important réservoir de gènes utilisable dans l'amélioration des formes cultivées. L'introduction de gènes étrangers dans le blé nécessite la réalisation d'hybrides interspécifiques et leur manipulation pour créer des blés à $2n=42$ ou 28 chromosomes contenant une nouvelle information génétique (Hamel, 2010). son génome Am est étroitement apparenté au génome de *T. urartu*, qui est le précurseur du génome A des espèces de blé polyploïdes, du blé dur *T. turgidum* (AABB), et du blé tendre cultivé *T. aestivum* (AABBDD). *T. monococcum* a également été utilisé comme source de gènes pour le blé dur et le blé tendre. Il a une grande résistance à la rouille de la tige, à la rouille des feuilles, à la rouille jaune et à l'oïdium, qui a été transféré dans le blé hexaploïde. De plus, leurs teneurs élevées en caroténoïdes en font une source prometteuse pour la production alimentaire fonctionnelle (Megyeri et al., 2012)(Hidalgo et al., 2006; Brandolini et al., 2008).(Megyeri et al 2016)..*Triticum monococcum* L représente une source importante de gènes utiles et d'allèles qu'il serait souhaitable d'utiliser dans les programmes de sélection du blé. (Megyeri et al 2016).

6.1.1. Description de la plante

L'engrain cultivé est un blé de petite taille (moins de 70 cm), au rendement faible, (une faible teneur en gluten (environ 7 %)), mais il survit sur des sols pauvres où les autres espèces ne donnent rien. Les épillets ont deux fleurs, dont l'une est souvent stérile. Chez l'engrain sauvage, les deux glumelles portent une longue arête, alors que seule la lemma a une arête dans les formes cultivées. Chez l'engrain cultivé, seuls les épillets du sommet de l'épi se désarticulent parfois à maturité. Que ce soit au battage ou une fois désarticulés, les épillets restent attachés au segment du rachis situé au-dessous de l'épillet (museum.agropolis.fr).

Selon le : (réseau Tela botanica ,2011) : Plante annuelle de 40 80 cm, à tige grêle, raide, creuse, pubescente aux nœuds

- ✓ épi assez petit (4-7 cm de long sur 4-7 mm de large), fortement comprimé, dense, luisant, dressé, à axe fragile
- ✓ épillets densément et régulièrement imbriqués sur 2 rangs, ovales, à 1 seul ou rarement 2 grains, aristés
- ✓ glumes égales, ovales, carénées, tronquées et à 2 dents inégales, plus courtes que les fleurs
- ✓ glumelles égales, l'inférieure de la fleur fertile à longue arête fine
- ✓ fruit est un caryopse enveloppé dans les glumelles, ovale-comprimé, à cassure vitreuse
- ✓ Inflorescence : épi d'épillets, Couleur de la fleur : vert, sexualité : hermaphrodite

6. 1.2. Qualité nutritionnels

la composition de la farine peut jouer un rôle important dans la prévention de pathologies telles que le cancer, le diabète et les maladies inflammatoires chroniques (Nakov et al 2016).

La réévaluation de la qualité de l'einkorn a démontré que ce blé ancien a des avantages diététiques par rapport aux blés polyploïdes. Einkorn est pauvre en fibres alimentaires, mais riche en protéines, en lipides (principalement des acides gras insaturés), en fructanes et en oligo-éléments (y compris le zinc et le fer). La bonne concentration de plusieurs composés antioxydants (caroténoïdes, polyphénols conjugués, alkylrésorcinol et phytostérols) et la faible activité de la β -amylase et de la lipoxigénase (qui limitent la dégradation des antioxydants lors du traitement)

contribuent aux excellentes propriétés nutritionnelles de sa farine. Autres blés. Inversement, einkorn a une teneur relativement faible en polyphénols liés et une forte activité poly phénol oxydase.

Comparé au blé moderne, Einkorn est:

- 2 fois plus élevé en **vitamine A** (équivalents de rétinol)
- aide à la santé des yeux et des organes reproducteurs, et peut prévenir de nombreux cancers. 3 à 4 fois plus de bêta-carotène
- rappel immunitaire, aide à prévenir le cancer et les maladies cardiaques 3 à 4 fois plus de lutéine.
- crée de l'énergie dans le corps et ralentit le vieillissement en tant qu'antioxydant (**Hidalgo et Brandolin., 2014**) (**NCBI, 2014**).



Figure 05: épis et graines de *Triticum monococcum* L

6.2. Blé polyploïdes

Les deux espèces de blé les plus cultivées au monde sont le blé tendre (*Triticumaestivum* L.) qui représente plus de 90% de la production mondiale et le blé dur (*Triticumdurum*.Desf.

6..2.1. 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 (*Triticumdurum*.Desf.) occupe une importante place parmi les céréales dans le monde (**Boumana., 2017**). 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). (Laala., 2010) .Le grain du blé dur sert à la production de pâtes alimentaires, du couscous, et à bien d'autres mets comme le pain .Il est utilisé pour préparer les chappattis dans le sous-continent indien et tortillas en Amérique Central et du Sud (Pena et Pfeiffer, 2005). La paille est utilisée comme litière et comme aliment pour les animaux (Gueraiche., 2016).

Origines génétique

Le blé dur (*T. turgidum.ssp. durum*.Desf.) ,est un allo tétraploïde ($2n = 28$, AABB) qui a pour origine l'hybridation suivie d'un doublement chromosomique entre le *Triticum monococcum* et une herbe apparenté au blé nommée *Aegilops speltaoides*. La première espèce a fourni le génome A et la seconde, le génome B, la domestication de ce blé tétraploïde (AABB) a donné l'amidonner, qui est à l'origine des cultivars de blé dur (Boumana., 2017).

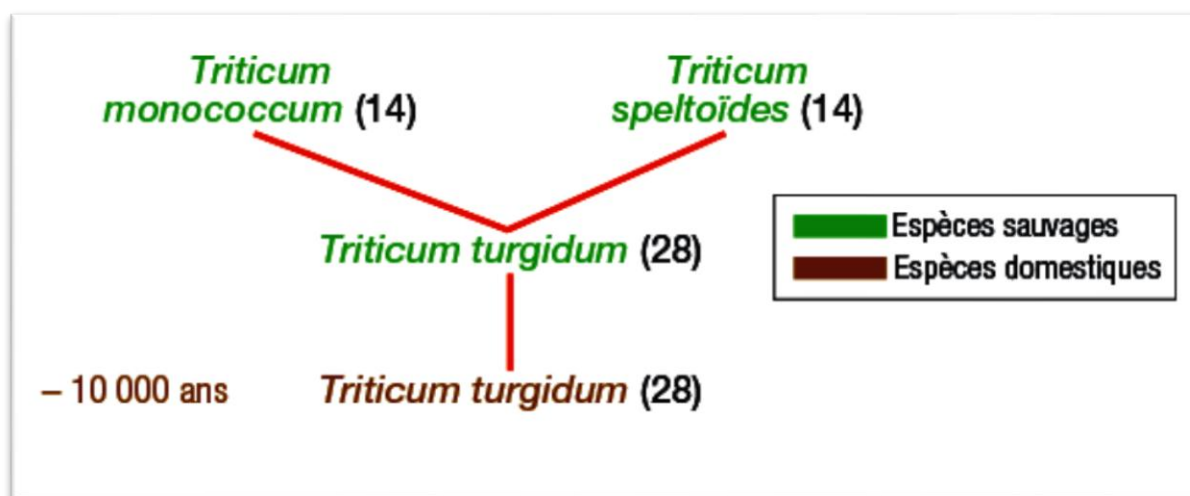


Figure 06 : Origine génétique du blé dur (*Triticum durum* Desf.) (Croston et Williams, 1981)

6.2.1.3. Composition histologique et chimique du grain

Le grain de blé dur est formé de trois régions :

-l'albumen : constitué de l'albumen amylicé (au sein duquel subsistent des cellules remplies de granules d'amidon dispersées au milieu d'une matrice protéique et dont les parois cellulose sont peu visibles) et de la couche à aleurone (80 - 85 %)

- Les enveloppes de la graine et du fruit, formé de six tissus différents ; épiderme du nucelle, téguments séminal (enveloppe de la graine), cellule tubulaire, cellule croisées, mésocarpe et épicarpe (13- 17%).

-Le germe (3%), composé d'un embryon (lui-même formé du coléoptile, de la gemmule, de la radicule, le coléorizhe et de la coiffe) et du scutellum.

Le grain de blé est principalement constitué d'amidon (environ 70%), de protéine (10 à 15% selon les variétés et les conditions de culture) et de pentosanes (8 à 10%) : les autres constituants, pondéralement mineurs (quelques % seulement), sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines .Le blé dur n'a pas les mêmes exigences que le blé tendre. Il a des besoins élevés en ensoleillement, une faible résistance en froid et à l'humidité.

Le blé dur peut être cultivé dans toutes les régions, cependant, les pluies importantes au cours de la maturation peuvent affecter la qualité des grains. (Belahcene et al, 2008).

6.3. Blé tendre

Le blé tendre *Triticumaestivum*, blés cultivés seraient issus d'un croisement, également naturel, entre *Triticumturgidum*ssp, *dicoccum*(AABB) et *Aegilops squarrosa*(DD) (Sears1954 , okamato1962 , Auriau et al .,1992)

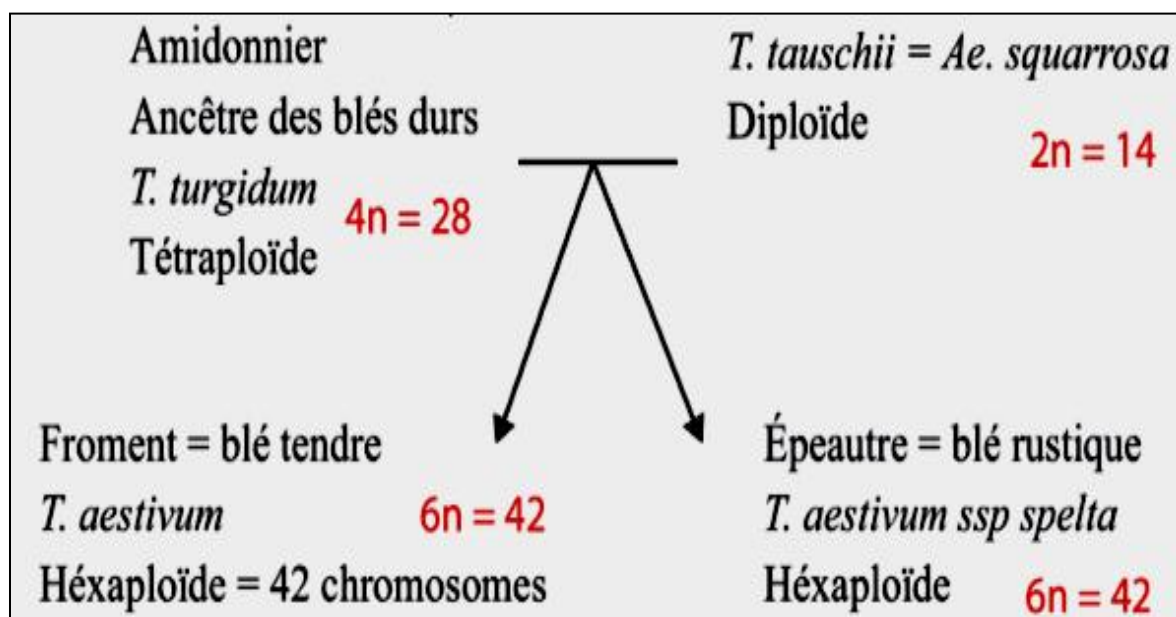


Figure 07: Origines possibles du blé tendre d'après (Sears ,1954) et (Okamoto ,1962) et (Auriau et al., 1992).

Le blé tendre (*Triticumaestivum*) dont l'adaptation agrotechnique est très large (Bonjean et Picard, 1990).. est apparu entre 5000 et 6000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile puis s'est dispersé à partir de la Grèce en Europe (**Doussinault et al., 1992**).est cultivé pour sa farine panifiable et est utilisé pour la fabrication d'une large gamme de pains et de produits alimentaires transformés (biscuiterie). La propriété technologique de la pâte fabriquée à partir de farine de blé tendre est unique et a largement contribué au succès du blé tendre : la viscoélasticité de la pâte autorise la fabrication de pains levés en permettant la capture du dioxyde de carbone dégagé lors de la dégradation anaérobie de l'amidon par les levures (levée de la pâte)(**Bednarek 2012**).

6.3.1. Les génomes du blé tendre

Les génomes du blé tendre sont structuré en 21 paires de chromosomes intégrant les trois génomes homéologues A, B et D issus de chaque ancêtre. L'ensemble formé par trois paires de chromosomes homéologues se nomme « groupe d'homéologie ». Le génome du blé tendre est de très grande taille, constitué de 17 milliards de paire de bases ce qui représente environ 5 fois la taille du génome humain. Cette taille importante ainsi que la forte proportion de séquences répétées (80% du génome)

constituent pour l'instant des obstacles importants à son séquençage complet (**Bednarek 2012**)

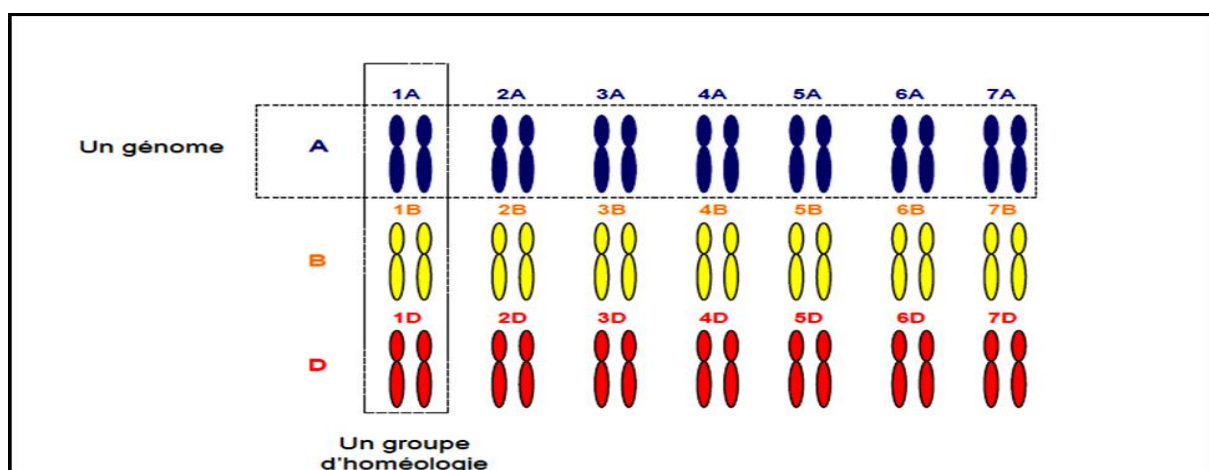


Figure 08: Organisation des génomes hexaploïde du blé tendre.

7. Notions de Cytogénétique

7.1. Définitions

- **Chromatine**

L'ADN d'une cellule est empaqueté dans le noyau sous la forme de chromatine. Celle-ci se compose de nucléosomes formés par un octamère de protéines appelées histones autour duquel s'enroule l'ADN. Dans la cellule, la chromatine forme deux structures différentes : l'hétérochromatine très condensée et l'euchromatine moins condensée (Courilleau.,2012)

L'unité fondamentale de la chromatine est appelée le **nucléosome** qui est composé d'ADN et d'histones. Il constitue le premier niveau de compaction de l'ADN dans le noyau. Cette structure est ensuite régulièrement répétée pour former le nucléolefilament qui peut, lui-même, adopter des niveaux d'organisation plus compacts, le niveau de condensation le plus élevé étant atteint au sein du chromosome métaphasique (Ridgway et al., 2006).

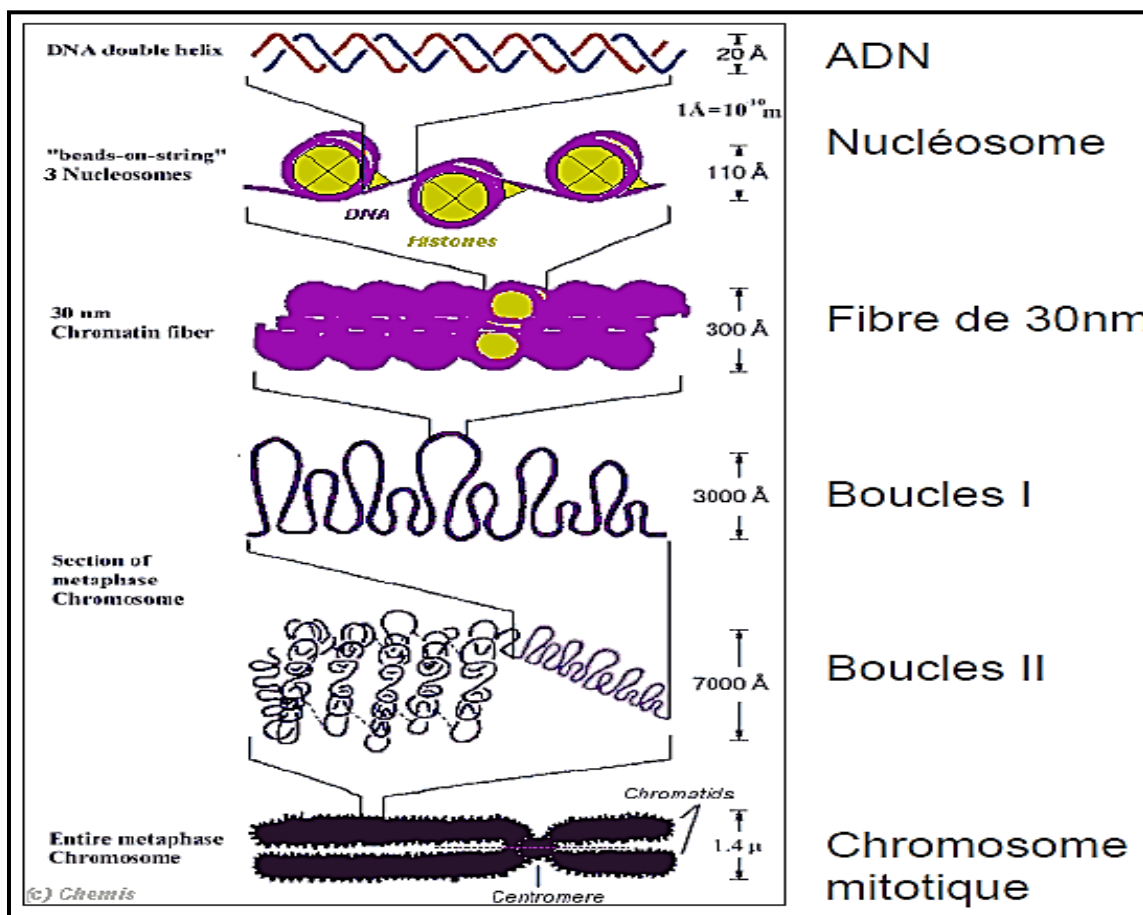


Figure 09 : Les différents niveaux de restructuration de la chromatine

- **L'euchromatine**

L'euchromatine est la partie de chromatine active au niveau transcriptionnel (séquence codantes d'ADN)

- **L'hétérochromatine**

En 1928, basé sur des observations exclusivement histologiques, Emil Heitz définit *l'hétérochromatine* (HC) comme les segments de chromosome qui apparaissent très condensés et très colorés dans le noyau interphasique. Elle est localisée principalement en périphérie du noyau et du nucléole.

On distingue:

- **l'hétérochromatine constitutive**

qui contient peu de gènes, formée principalement de séquences répétées et dont les plus grandes régions sont situées à proximité des centromères et des télomères , contient un ADN tout à fait particulier, appelé ADN satellite et constitué de séquences courtes et répétées en tandem ,L'HC *constitutive* est fortement colorée par la technique des bandes C, ce qui pourrait résulter de la renaturation très rapide de l'ADN satellite après dénaturation(**Geneviève et Luciani., 2006**).. Ces régions sont effectivement globalement dépourvues de gènes, mais ne sont plus vues comme des régions « inutiles », mais bien comme des régions qui révèlent des fonctions cellulaires encore en cours d'investigation (**Grézy., 2015**).

- **l'hétérochromatine facultative**

qui contient des régions codantes pouvant adopter les caractéristiques structurale et fonctionnelle de l'hétérochromatine, dont le comportement est différente entre deux chromosomes homologues, L'hétérochromatine facultative permet la compaction et la répression transcriptionnelle de régions qui contiennent généralement des gènes codants pour des protéines (**Grézy., 2015**).

- **Génome**

Ensemble de l'information héréditaire d'un organisme, présente en totalité dans chaque cellule (**Gautheret .,2012**).est l'ensemble du matériel génétique nécessaire à la formation et au fonctionnement d'un organisme (chromosomes, gènes et ADN).

- **Caryotypes**

Est une représentation systématisée des chromosomes d'une cellule mitotique(ou méiotique), tenant compte du nombre, de la forme, de la taille et de tous autres caractères morphologiques des chromosomes qui peuvent être représentatifs des génomes d'un caryotype cellulaire, d'un individu ou d'une espèce (Thugues.,1966)

Il est constitué d'un caryogramme et d'un idiogramme.

7.2.Critère d'identification des chromosomes

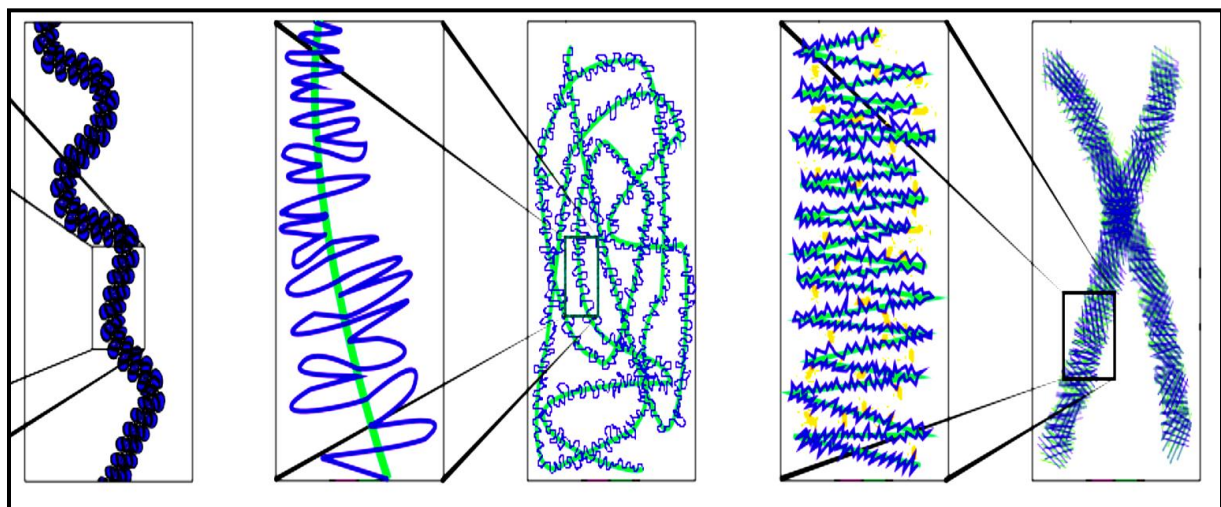
7.2.1. Forme de chromosome

Les chromosomes sont des unités visibles au microscope optique au moment de la mitose (en raison de la forte condensation de la chromatine). Le chromosome mitotique est formé de deux chromatides identiques appelées **chromatides sœurs** qui persistent jusqu'à la fin de la métaphase. On peut parler de chromosome tout au long du cycle cellulaire :

le **chromosome mitotique est la forme condensée du chromosome interphasique** (Venturini et Lavaud., 2015).

Décondensé

Condensé



Interphase

métaphase

Figure 10:Chromosome en interphase et métaphase (Gautheret .,2012).

Identification des chromosomes selon :

- La taille
- La position du centromère
 - le rapport Bras court (p) / bras long (q)
 - Indice centromérique/(p+q).

- Les constriction secondaires et les satellites, région NOR
- *Les télomères (correspondent aux extrémités des bras des chromosomes)*

Le centromère correspond à la partie centrale des chromosomes, région où les chromatides sont encore reliés. De part et d'autre du centromère se trouvent les bras, longs d'un côté et courts de l'autre. Les bras courts sont désignés par un **p** et les longs par un **q** (Venturini et Lavaud 2015).

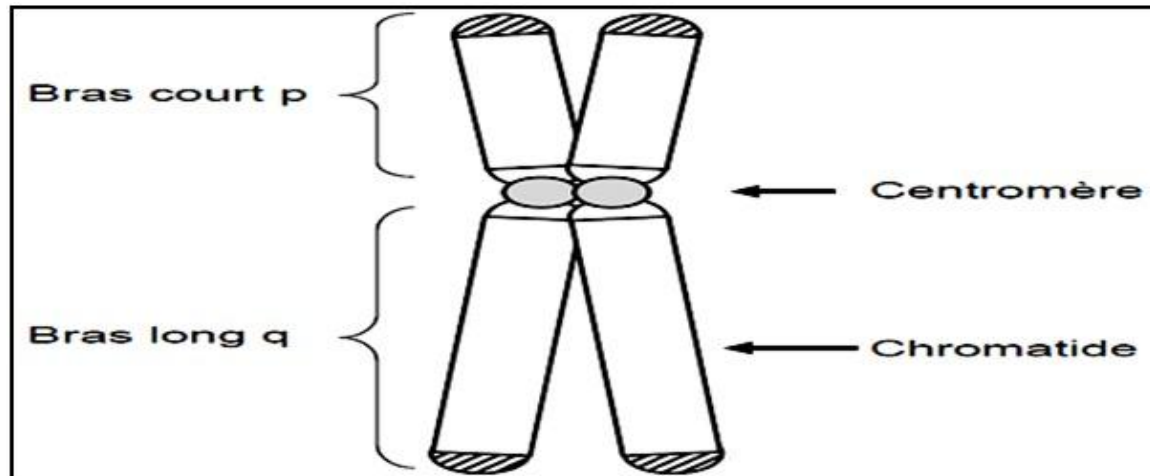


Figure 11 : La forme d'un chromosome

On peut distinguer six types morphologiques de chromosomes :

- **Chromosome métacentrique (m)** : Le centromère est en position médiane, et la valeur du rapport BL / BC est comprise entre 1 et 1,7. On parle de métacentrique sensu stricto (M) lorsque le rapport est exactement égal à 1 et dont le centromère se trouve alors au point médian.
- **Chromosome submétacentrique (sm)** : Le centromère est situé dans la région submédiane et la valeur du rapport BL / BC va de 1,7 à 3,0.
- **Chromosome subtélocentrique (st)** : le centromère est situé dans la région subterminal et le rapport BL / BC varie de 3,0 à 7,0.
- **Chromosome acrocentrique (t)** : le centromère est dans la région terminal point terminal strict, on parle de chromosome télocentrique (T)

Pour la distinction entre chromosomes acrocentriques, métacentriques et submétacentriques on suit le tableau de la nomenclature chromosomique proposée par Levan a. *et al.* (1964).

Tableau n° 03: Nomenclature chromosomique proposée par Levan a.*et al.*(1964)

Position du centromère	D	r	I. C	Type chromosomique	
Position médiane	0.00	1.00	50.00	Métacentrique sensu stricto	M
Région médiane	0.00-2.50	1.00-1.70	50.00-37.50	Métacentrique sensu largo	m
Région submédiane	2.50-5.00	1.70-3.00	37.50-25.00	submétacentrique	sm
Région subterminale	5.00-7.50	3.00-7.00	25.00-12.50	subtélolocentrique	st
Région terminale	7.50-10.00	7.00-12.50	12.50-0.00	acrocentrique	t
Point terminal	10.00	∞	0.00	télolocentrique	T

7.2.2. Structure de chromosome

Les bandes chromosomiques

sont des techniques de coloration qui améliorent soit l'observation, soit l'identification de certaines paires de chromosomes. La coloration se réalise après **dénaturation partielle** (enzymatique, physique ou chimique) du chromosome. Elle se présente alors sous forme de **bandes transversales claires ou foncées**.

Les techniques de bandes vont en faire apparaître un nombre plus ou moins important selon la taille du chromosome, la technique employée et le stade de réalisation du caryotype.(VenturinietLavaud 2015). Les bandes sont désignées par une majuscule qui rappelle le principe de coloration ou le point de localisation qui révèle la technique.

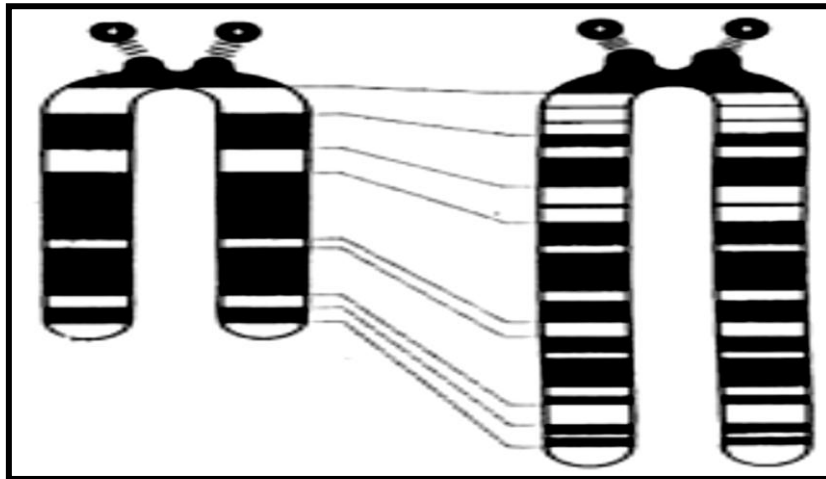


Figure 12: A gauche : un chromosome métaphasique, A droite : un chromosome prophasique
Le Satellite

sont des éléments morphologiquement différenciés, retrouvés aux extrémités des bras. Ils sont reliés au reste du chromosome par des constrictions secondaires.

8. Techniques de coloration : C-banding

Les méthodes de marquage de chromosomes sont soit basées sur coloration des chromosomes avec un colorant ou en testant une fonction particulière).

La technique de bandes C a été mise au point, pour la première fois sur des chromosomes animaux par **Pardue et Gall(1970)**. En ce qui concerne les végétaux, **Vosa et Marchi (1972)** ont pu obtenir pour la première fois des bandes C sur des chromosomes de *Vicia fabae*(**Ouafi.2009**).

Basé sur le principe de dénaturation –renaturation de l'ADN et coloration au Giemsa. Cette technique permet, comparativement aux technique de coloration classique, une analyse différentielle, et donc plus détaillé des chromosomes .Alle met en évidence, sous forme de bandes colorées, certaines zones spécifiques du chromosome, caractérisent l'hétérochromatine constitutive, et localisées dans les régions centromériques, télomériques et intercalaires (**Saada 2009**).

Le Giemsa qui ne colore que les zones condensées, permet de faire apparaître des bandes caractéristiques pour chaque chromosome. On obtient alors un caryotype de l'individu étudié ou une carte de tous les chromosomes identifiés, par les bandes caractéristiques. le première du Giemsa est l'identification des chromosomes.chez les hybrides interspécifiques, elle permet d'identifier les lignées d'addition, de

substitution, de translocation, de délétion ou les ou les aneuploïdes .on peut aussi vérifier la réalité et la fréquence affinités génétiques entre deux génomes (Bernard et Bernard,1992). Les protocoles les plus répandus sont ceux de Lukaszewiski. Et Gustafson (1987), Gill *et al.* (1991).

Chapitre II

Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Matériel

Notre matériel végétal porte sur trois espèces (l'ancêtre et ces hybrides interspécifiques) :

- *Triticum monococcum* L (2n=2x=14, formule génomique AA)
- *Triticum durum* Desf (2n=4x=28, formule génomique AABB): trois variétés homologuées (Cirta, Oued-Znati et Boussalam).
- *Triticum aestivum* L (2n=6x=42, formule génomique AABBDD): trois variétés homologuées (Ziad, Tessallah et Mahon demias).
- Rappelons que toutes les variétés cultivées sont de la génération (G1).

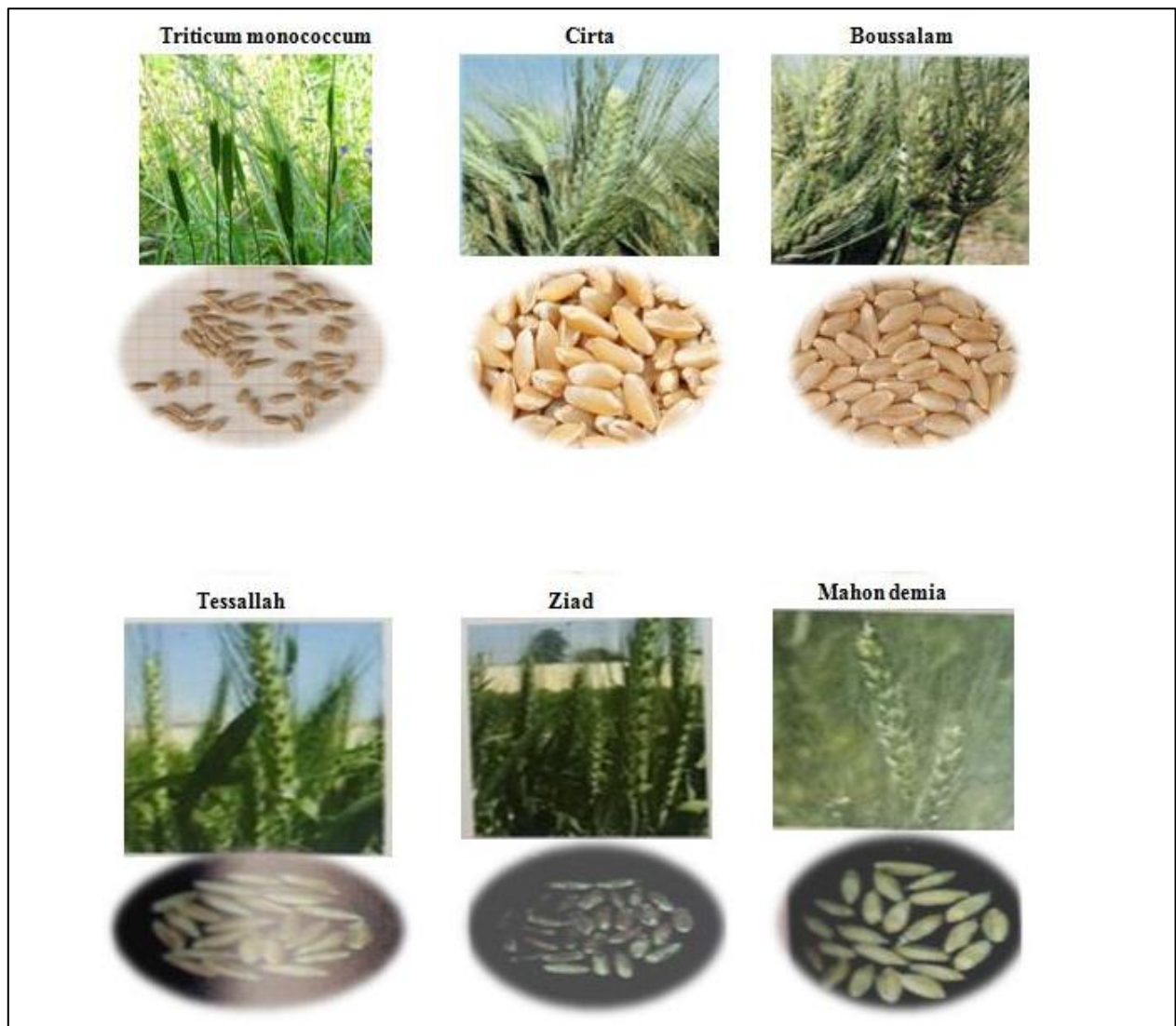


Figure n 13: les espèces et les variétés homologuées utilisées en C-BANDING.

Tableau 04 : La liste des espèces et des variétés homologuées et leurs caractéristiques (selon (HASSAN BADI, 2015)

espèce	Variétés homologuées	source	origine	pedigree	Niveau de ploïdie	Caractéristiques agronomiques et technologiques
<i>Triticum monocoecum</i> L. (ancêtre. AA)		I.T.G.C.C			2x	
<i>Triticum durum</i> Desf. (hybride 1, AABB)	Boussalem -Cirta -Oued-zenati	I.T.G.C.C	Syrie Locales Locales	Heider/Marli /Heider-Cro ICD -414—IBLCTR-4AP KB214-0KB-0KB-1KB-0KB	4x	Bonne qualité semoulière, grand rendement, résistante au mitadinage, résistante de l'oïdium sur l'épi
<i>Triticum aestivum</i> L. (hybride 2, AABBDD)	-Manhon- démias -Ziad -Tessalah	I.T.G.C	Espagne France Mexique	PLC/RUFF/GTA'S'RoletteCm17 904 Alondra'S'ERA SONGLU//Alondra'S' Norin10/Brevor//P14	6x	Ziad la seule variété résistante à l'oïdium sur l'épi et sur feuille, et résistant au rouille brin et fusariose

N.B: les variétés du blé tendre ont été étudiées par HAMMOUDA (2013).

2. Technique du marquage C-banding

Beaucoup d'auteurs se sont intéressés à cette technique, parmi eux citons : Gill et al (1991); Badaev *et al.* (1992) ; Jahier et al. (1992) ; Friebe and Gill. (1994) ; Deng-caill. *et al.* (1997); Belay. And Marker.(1999) et Shimelis (2005) et Badeava *et al* (2007); Gill *et al.* (2009) ; Hammouda et al (2017). Muégerie et al (2012 ;2016).

Nous avons appliqué celle décrite Gill et Friebe ou (1991, 1994, 1996, 2009) pignone et al 1989

2.1 Etapes préliminaires

a-Stérilisation et désinfection des graines

Elle se fait dans un mélange d'eau de javel et d'eau distillée (50%), pendant 10 minutes suivies d'un rinçage à l'eau distillée pendant 10 minutes.

b-Germination

Les graines de blé ont mises à germer dans des boîtes de Pétri tapissées de papier filtre humide à température ambiante (généralement entre 20°C-22°C). Lorsque les apex racinaires atteignent environ 0,5 à 1cm de longueur (c'est à ce stade que la zone de division cellulaire est plus active).les variétés homologuées sont mises à germer à l'obscurité, par contre le *triticummoococcum* laisse germé a labri de la lumière.

c-Prélèvement

Nous avons déterminé la période durant laquelle le coefficient mitotique été le plus élevé, il est situé entre 24h et 48h pour notre matériel ou les racicules atteignent une longueur de 0.5 à 1 cm .

d-Prétraitement

Il se fait par trempage des tissus en division dans un agent mitoclassique: Cette étape a pour but :

- a- Bloquer les divisions mitotiques au stade métaphase.
- b- Contracter les chromosomes.
- c- d'obtenir un grand nombre de plaques métaphasiques.

CHAPITRE II Matériels et méthodes

Nous avons effectués un prétraitement à la colchicine 0,05% à température ambiante à l'abri de la lumière, La durée de ce prétraitement varie d'une espèce à une autre et d'une variété à une autre :

Triticum monococcum: à une durée de 7h : 00 min à 7h : 30min

Les variétés de blé dur (homologué) : (7h : 30min) à (7h : 45min)

e- Fixation

Le but de cette étape est :

- _ De détruire toute vie cellulaire.
- _ De bloquer les divisions cellulaires en conservant l'intégrité structurale des chromosomes.
- _ De protéger les chromosomes de l'action de l'agent mitoclasique de prétraitement.

La fixation est réalisée dans une solution composée d'éthanol et d'acide acétique en proportion 3V:1V pendant 24h au réfrigérateur à 4°C.

f- Conservation ou stockage

Les échantillons sont conservés au réfrigérateur (4°C) dans l'alcool dilué : éthanol 70% pendant plusieurs mois.

g-Hydrolyse

Cette étape est nécessaire pour obtenir un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lame et lamelle. L'agent le plus employé pour la destruction de la paroi pectocellulosique est la solution enzymatique (2% cellulase et 0.2% pectinase). Mais le manque d'enzymes nous a menés à utiliser l'acide chlorhydrique 1N à 60°C, durant 17min. Cette hydrolyse a une action associée à celle des enzymes. Elle permet de ramollir les parois rigides, en dissolvant les sels pectiques de la lamelle moyenne, tout en facilitant l'écrasement.

h-les écrasements

Après rinçage facultatif à l'eau distillée, nous passons aux écrasements entre lame et lamelle dans une solution d'acide acétique à 45%.

i- Observation

CHAPITRE II Matériels et méthodes

Les cellules en division sont repérées au microscope photonique

2-2 Étapes de la technique du marquage C-banding :

Les meilleures préparations riches en plaques métaphasique sont soumises aux étapes de C-banding :

-Délamétation : Les lames sont conservées dans un congélateur (-80°C), le décollage fait par l'éthanol absolu.

-Déshydratation : Toutes les lames sont séchées toute une nuit.

-Dénaturation de l'ADN : Les lames sont trempées dans une solution d'hydroxyde de baryte $\text{Ba}(\text{OH})_2$; 2 % à 20°C pendant 4 mn. (Solution de baryte : 27g $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ dans 200ml d'eau distillé).

-Rinçage : Se fait dans l'eau de robinet pendant 45 min, suivie par rinçages facultatifs dans l'eau distillée 45°C pendant 3min

-Renaturation L'étape de dénaturation est suivie par une hydrolyse à l'HCl 1N à 60 °

Coloration :

Les lames sont plongées dans la solution tampon Me Ilvaine pH 7. Cette solution est préparée à partir de deux solutions mères A et B de la façon suivante :

- *Solution A* : 1,26g Acide citrique dans 60 ml d'eau distillée
- *Solution B* : 8,51 g Na_2HPO_4 , dans 300ml d'eau distillée

Solution tampon : 13 ml A + 87,2 ml B, et compléter jusqu'à 200 ml d'eau distillée, ajuster le PH avec la solution A.

La coloration se fait dans ce tampon avec 8 à 10 ml de Giemsa, afin de marquer la séquence d'ADN hautement répétée (non codante) riche en G et C.

Montage

Les lames sont laissées sécher toute une nuit, puis sont fixées définitivement avec un liquide de montage le « Depex »

Observation et photographie

L'observation et la photographie des plaques métaphasiques se font à l'aide d'un microscope ZEISS de type Leica.

Chapitre III :
Résultats et
Discussion

Chapitre III : Résultats et Discussion

1 .Résultats

La technique de marquage a été employée sur les chromosomes du blé dur et blé tendre (Seal et Bennett, 1982 ; Gillet al ,1987 ; 1991 ; Longdon, 1989 ; Frieb and Gill, 1994), et ceci dans le but de :

* Etude de l'affinité d'homologie entre les chromosomes de *T.monococcum* –blé (Méguéri et al 2012, Shmid 2015, Méguéri et al 2012), et blé-seigle. (Hammouda et al ,2017 ; Gill et Kember, 1974b ;Darvey et Gustafson,1975 ;1976 ;Zeller,1977, Seal et Bennett,1982) .

* détection des mutations chromosomiques de types, translocations et inversions (Gustafson 1983; Wanda *et al* 1996; Lapinski et Schwarzacher 1998; Lee *and al*, 2004; Landjevaet *al.*, 2006; Silcovaet *al.* 2007;Gill,2009, Oleszczuk. *et al.* 2011;Kang *et al*, 2011; Rahmatov, 2012,Hammouda, 2013) (Hammouda *et al*, 2017),, Méguéri et al 2012, Shmid 2015, Shmid 2015).

* Investigation de l'origine du génome B du blé (Hadlacky et Belea, 1976).

* Identification des chromosomes des lignées d'introgession chez le blé (Méguerie et al 2016).

* L'identification et La distribution de l'hétérochromatine constitutive (séquences d'ADN non codantes riches en bases CG) chez les génomes (A, B, D et R) d'un triticales (x-TriticosecaleWittmack) et ceux de ses parents (*Triticumaestivum* L., AABBDD) et (Sécale céréale L., RR) (Hammouda *et al*, 2017).

L'organisation et la distribution de l'hétérochromatine constitutive (séquences d'ADN hautement répétées non codantes) chez une série de variétés, appartenant à différentes espèces (*Triticum monococcum*,*Triticum durum* Desf. , *Triticum aestivum* L) sont analysées et comparées par les bandes C. Cette analyse révèle beaucoup de différenciation en bandes polymorphes et spécifiques C⁺ En effet, le nombre de bandes et leur emplacement sur le chromosome, ainsi que leur intensité diffèrent d'une variété à une autre et d'une espèce à une autre. Ces différentes bandes sont de types télomériques, centromériques et intercalaires.

Suite aux travaux réalisés par Hammouda (1999, 2013) sur les chromosomes des génomes (A-B) du blé dur et ceux des génomes (A- B- D) du blé tendre, la recherche nous a conduit à l'étude de la distribution de la variabilité hétérochromatique chez l'espèce ancestrale *Triticum monococcum* L., et *Triticum durum* (var .Cirta, var Boussalam).

1. 1 Analyse des différents génomes

1.1.1 *Triticum monococcum* .L (A^m)

L'analyse en C-banding montre la présence des fines bandes marquées sur la majorité des chromosomes, à l'exception du chromosome 6A. Seuls les chromosomes 2A et 4A révèlent des bandes sombres localisées sur les deux bras (Figure27).

La formule génomique: $AA^m = 2x = 12 AA(m) + 2AA^m (sm) = 14$

La formule caryologique : $A = n = 6A^m(m) + 1A^m (sm)$

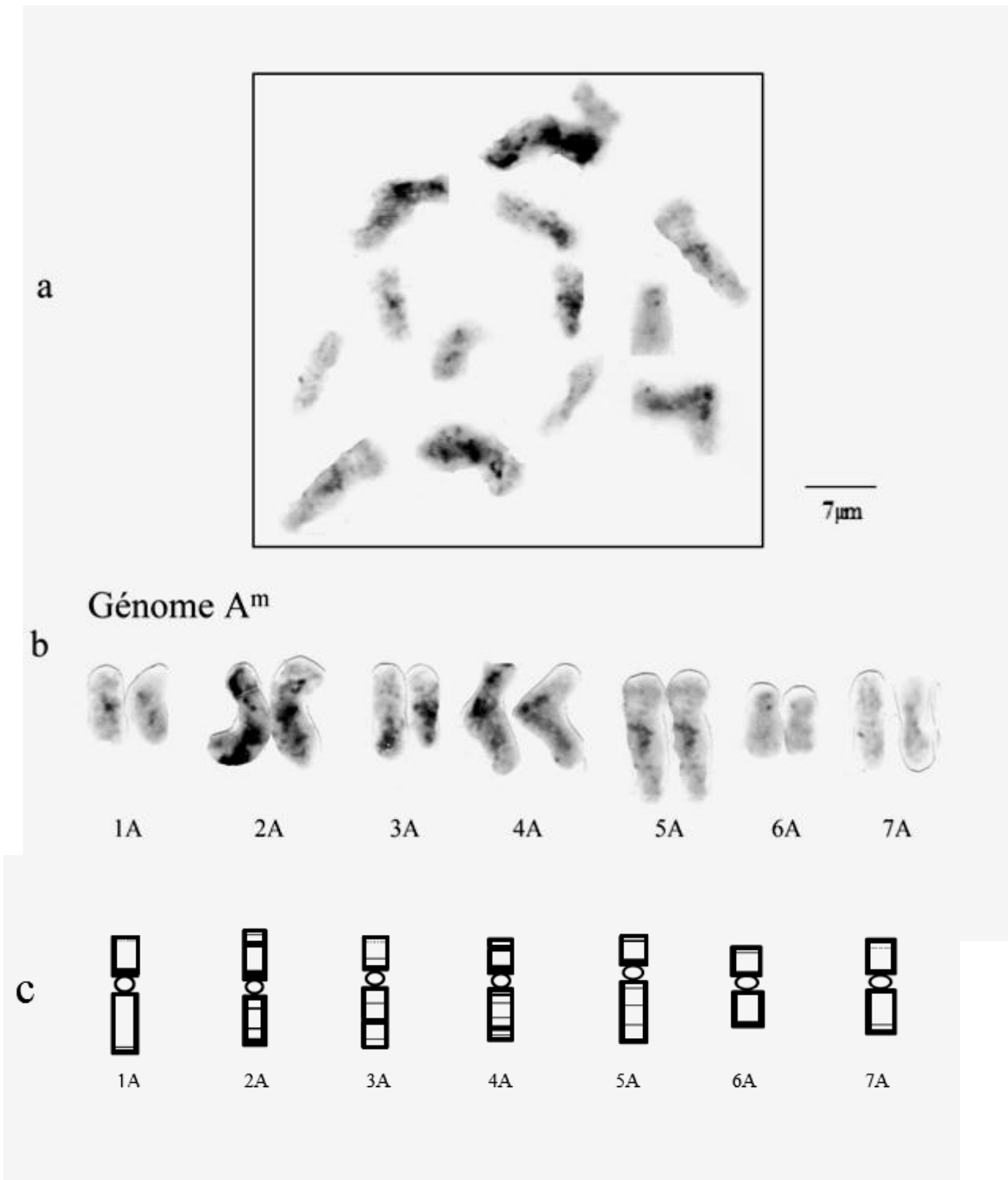


Figure 27: caryotype de *Triticum monococcum*, espèce ancestral cultivé

a- plaque métaphasique.

b- Caryogramme.

c- Idiogramme

1.1.2 *Triticum durum* Desf

L'analyse caryologique montre que les variétés (**Oued-Zenat, Cirta et Boussalam**) constituent, chacune, deux génomes qui regroupent 28 chromosomes. Le nombre des paires chromosomiques est de 14 paires dont 12 paires chromosomiques sont des métacentriques et deux paires sont des submétacentriques.

➤ **Variété Oued-Zenati**

L'analyse génomique montre une surcharge en hétérochromatine constitutive marqué sur la majorité des chromosomes, à l'exception des chromosomes 1A-2A 3A 6A 7A (figure 28)

➤ **Variété Cirta**

L'analyse en bandes C des chromosomes montre une grande variabilité dans la distribution des bandes.

Les génomes A et B caractérisés par la présence d'épaisses bandes télomériques et centromériques sur la plupart des chromosomes, sauf 2B, 4B et 6B. Par contre les chromosomes 2A, 3A, et 6A révèlent de fines bandes. (Figure:29).

➤ **Variété Boussalam**

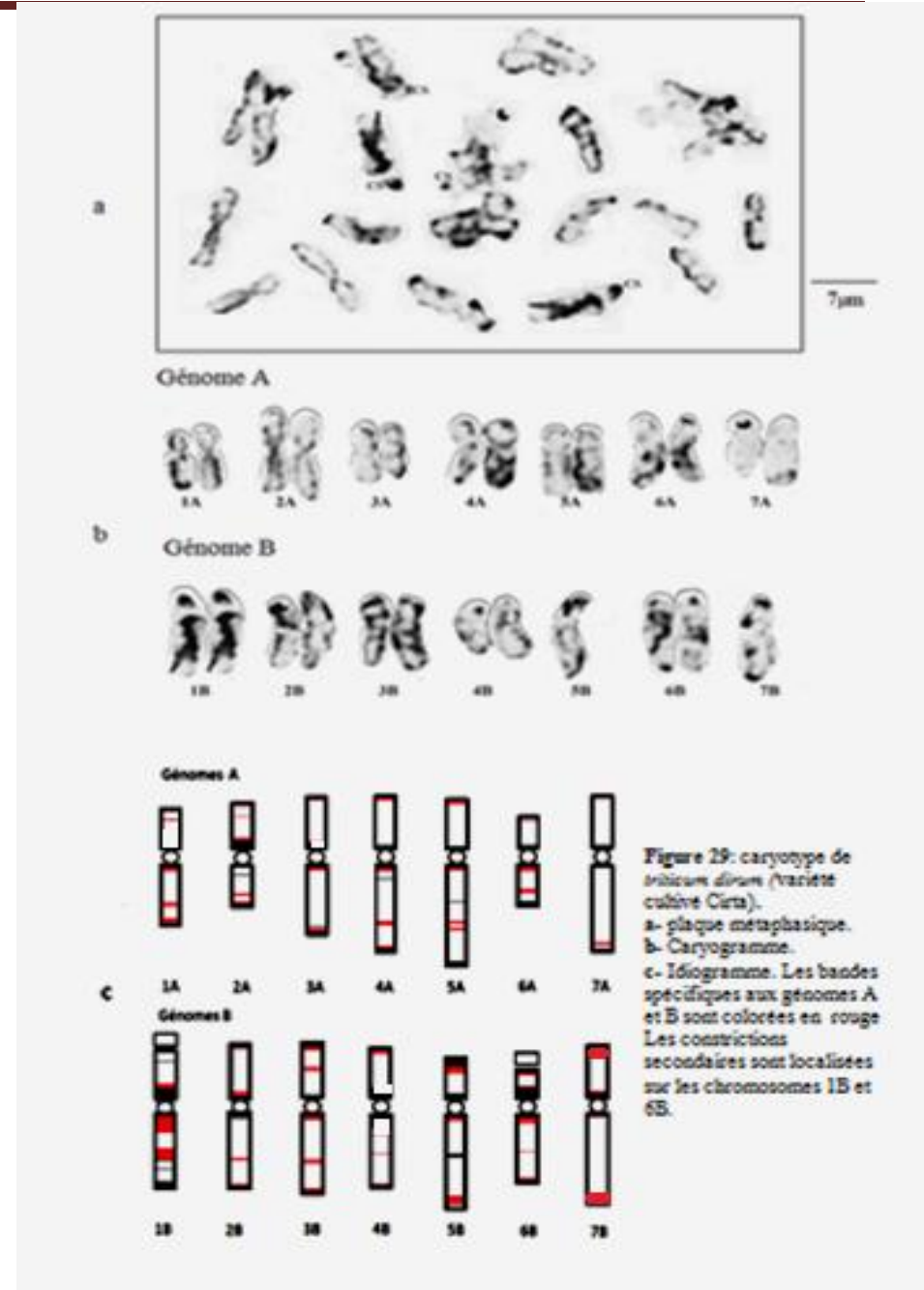
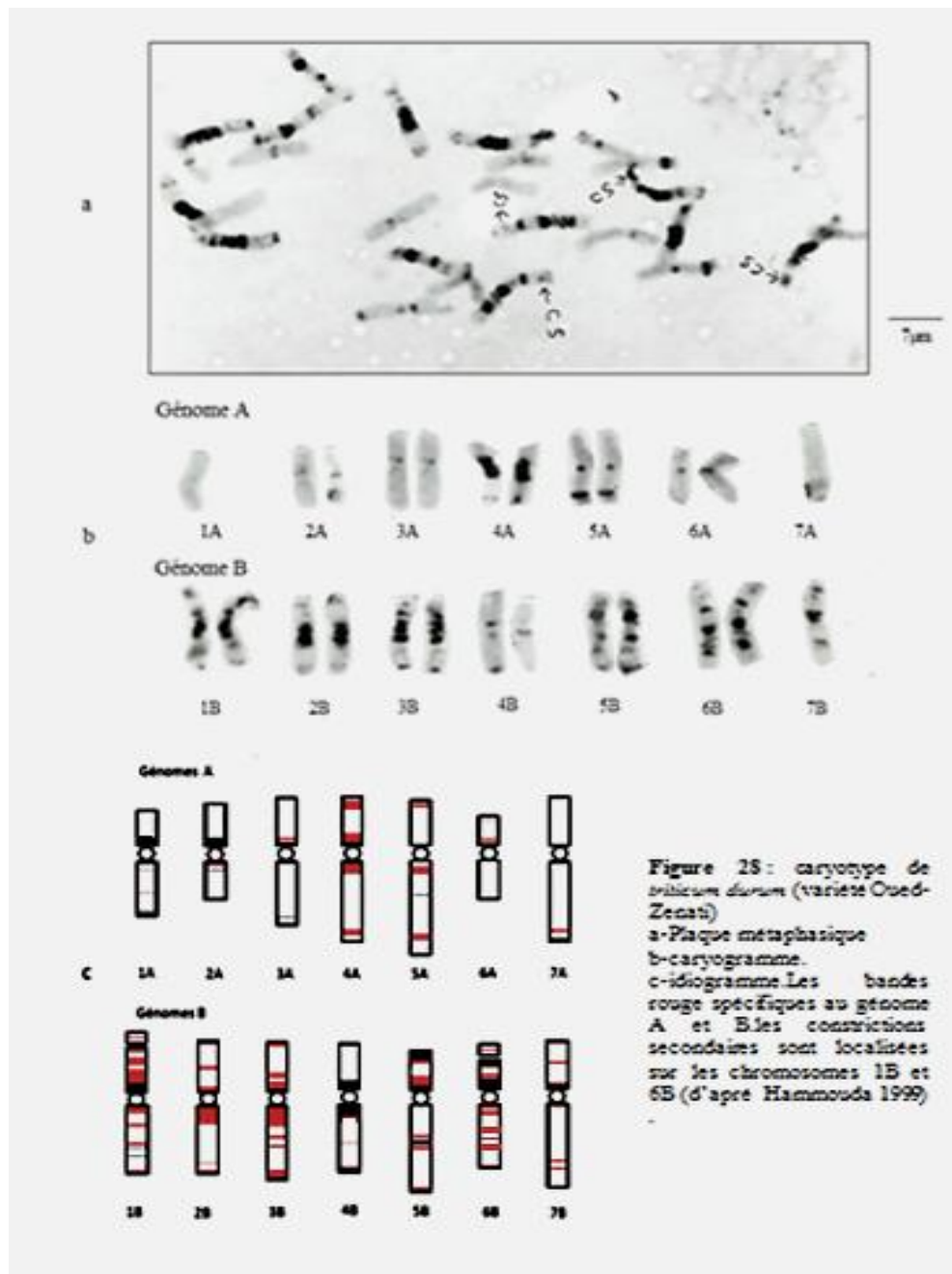
L'analyse génomique montre des bandes C montre que le génome et moine riche en hétérochromatine, les chromosomes ,4B, et 5B montrent le maximum des bandes C ,1A et 7A.ne révèlent aucune bande, pour les chromosomes 2 A ,3A, 4A et 5A montre la présence des très fin bandes (Figure:30).

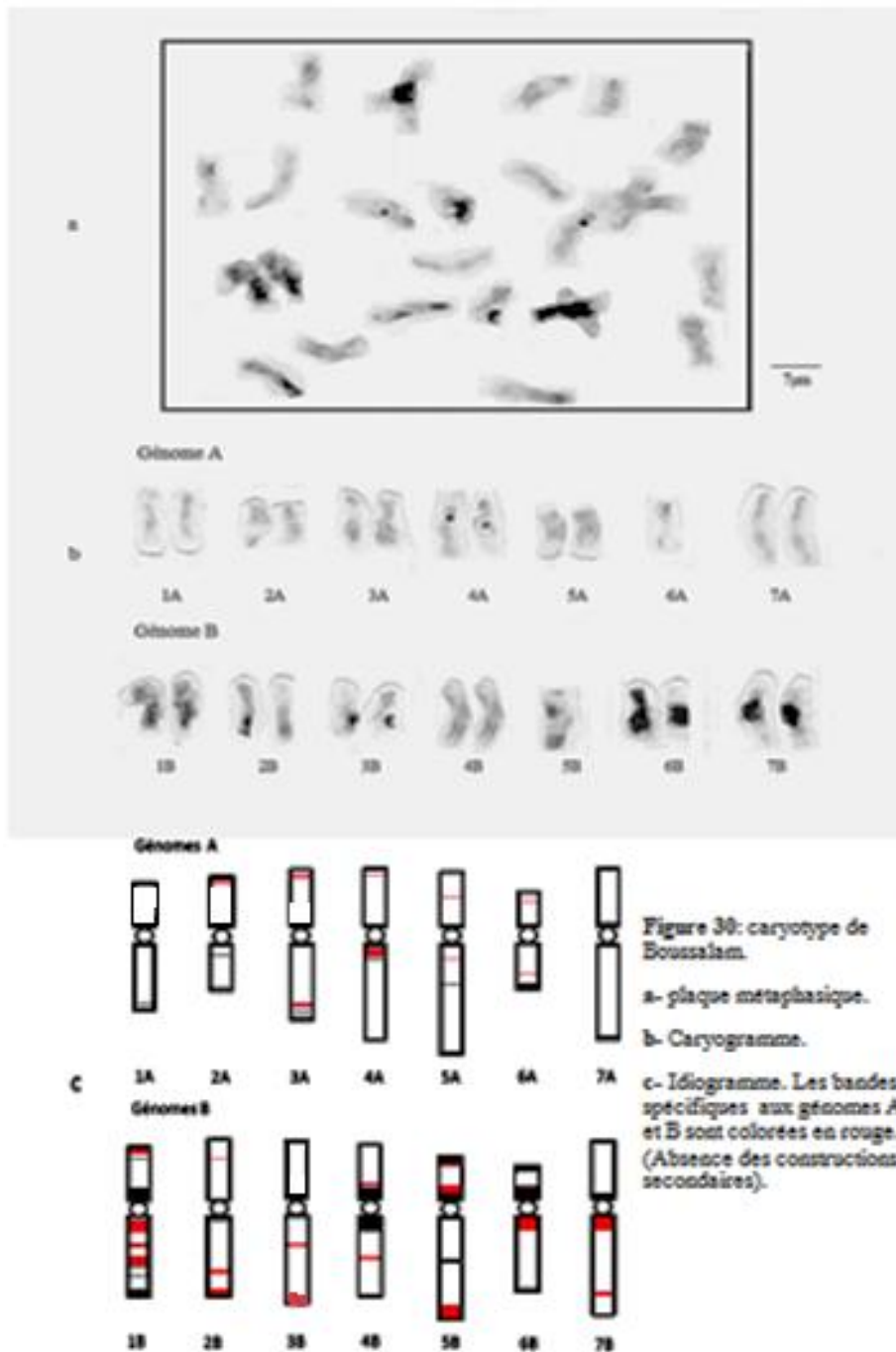
Chez les trois variétés, le caryogramme présente le même type chromosomique (métacentrique) à l'exception des paires 5A et 5B qui est submétacentrique

Notons, aussi, la présence des constriction secondaires localisées sur les chromosomes **1B** et **6B** pour la variété Oued-zenati et Cirta (Figure28, Figure29).l'absence des constriction secondaire pour la variété Boussalam. (Figure:30).

La formule génomique: **AABB= 4x= 24 AB(m) + 4AB (sm)=28**

La formule caryologique : **AB =n= 6 AB(m) +1AB (sm)**





1.1.3: *Triticum aestivum* L

Les caryotypes des variétés (**Manhon-demias, Ziad et Tessallah**) constituent, chacun, trois génomes (A-B-D) qui regroupent 42 chromosomes. Le nombre des paires chromosomiques est de 21 paires dont 18 paires chromosomiques sont des métacentriques et trois paires sont des submétacentriques le cas de (5A-5B-5D).

➤ **Variété Manhon Demias :**

L'analyse génomique des chromosomes révèlent une grande variabilité dans la distribution des bandes.

Dans le génome A, des bandes sont révélées sur la majorité des chromosomes, Les chromosomes 4A et 7A présentent le maximum des bandes C (Fig.31).

Dans le génome B, montre une surcharge en hétérochromatines constetitive, (Fig. 31).

Le génome D, révèle plusieurs bandes C, (Fig. 31).

➤ **Variété Ziad**

L'analyse génomique a révélé des différences structurales.

Le génome A montré un peu d'hétérochromatine par contre le génome B montre un surcharge en bandes C, les chromosomes 1B ,2B et 6B présent le maximum des bandes C (Fig. 32).

Le génome D,present des tres fin bandes.

➤ **Variété Tessalah :**

L'analyse en bandes C des chromosomes montre que :

Les génomes A et D présent peu d'hétérochromatine, par contre le génome B détecte des bandes C spécifiques sur la majorité des chromosomes.

Signalons la présence des constriction secondaires localisées sur les chromosomes 1B et 6B) chez les trois variétés.

La formule génomique: **AABBDD= 6x= 36ABD(m) + 6ABD (sm)= 46**

La formule caryologique : **AB =n= 6 ABD(m) +1ABD (sm)**

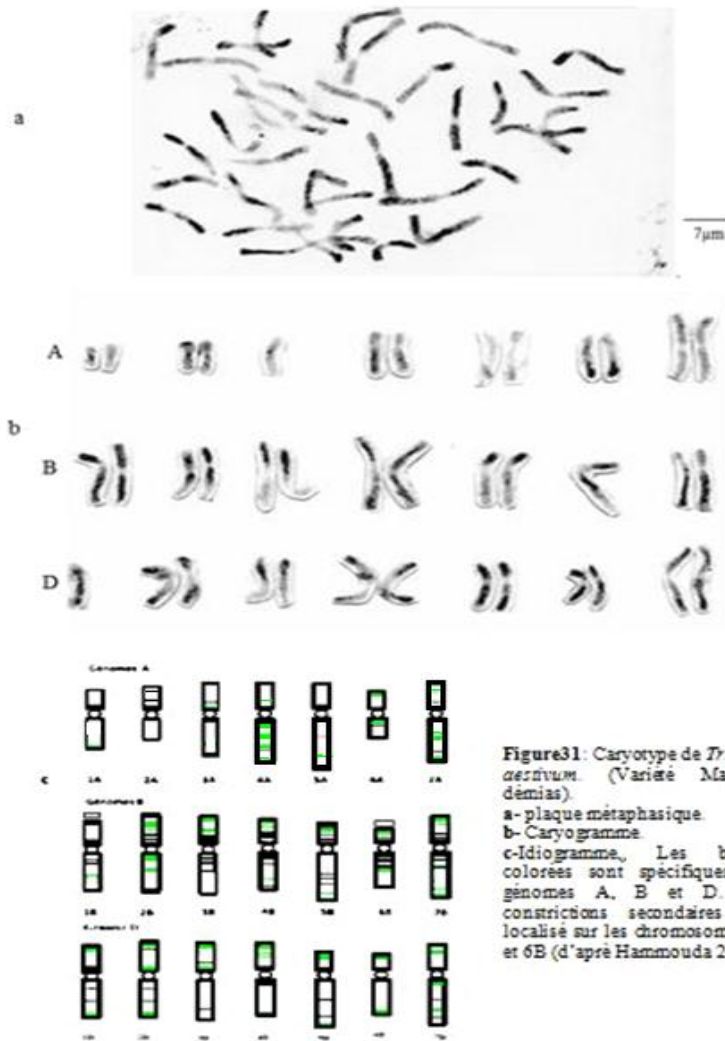


Figure31: Caryotype de *Triticum aestivum* (Variété Manhon-démias).
 a- plaque métaphasique.
 b- Caryogramme.
 c- Idiogramme. Les bandes colorées sont spécifiques aux génomes A, B et D. Les constriction secondaires sont localisé sur les chromosomes 1B et 6B (d'après Hammouda 2013).

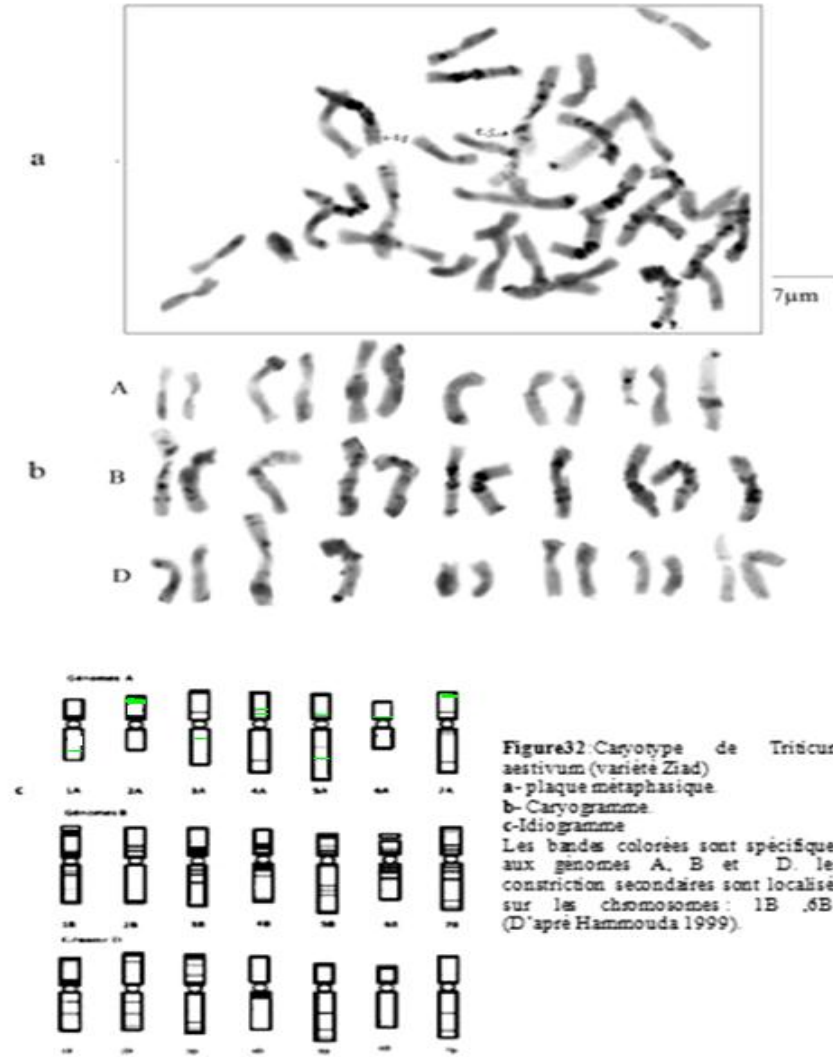


Figure32: Caryotype de *Triticum aestivum* (variété Ziad).
 a- plaque métaphasique.
 b- Caryogramme.
 c- Idiogramme.
 Les bandes colorées sont spécifiques aux génomes A, B et D. les constriction secondaires sont localisée sur les chromosomes: 1B, 6B. (D'après Hammouda 1999).

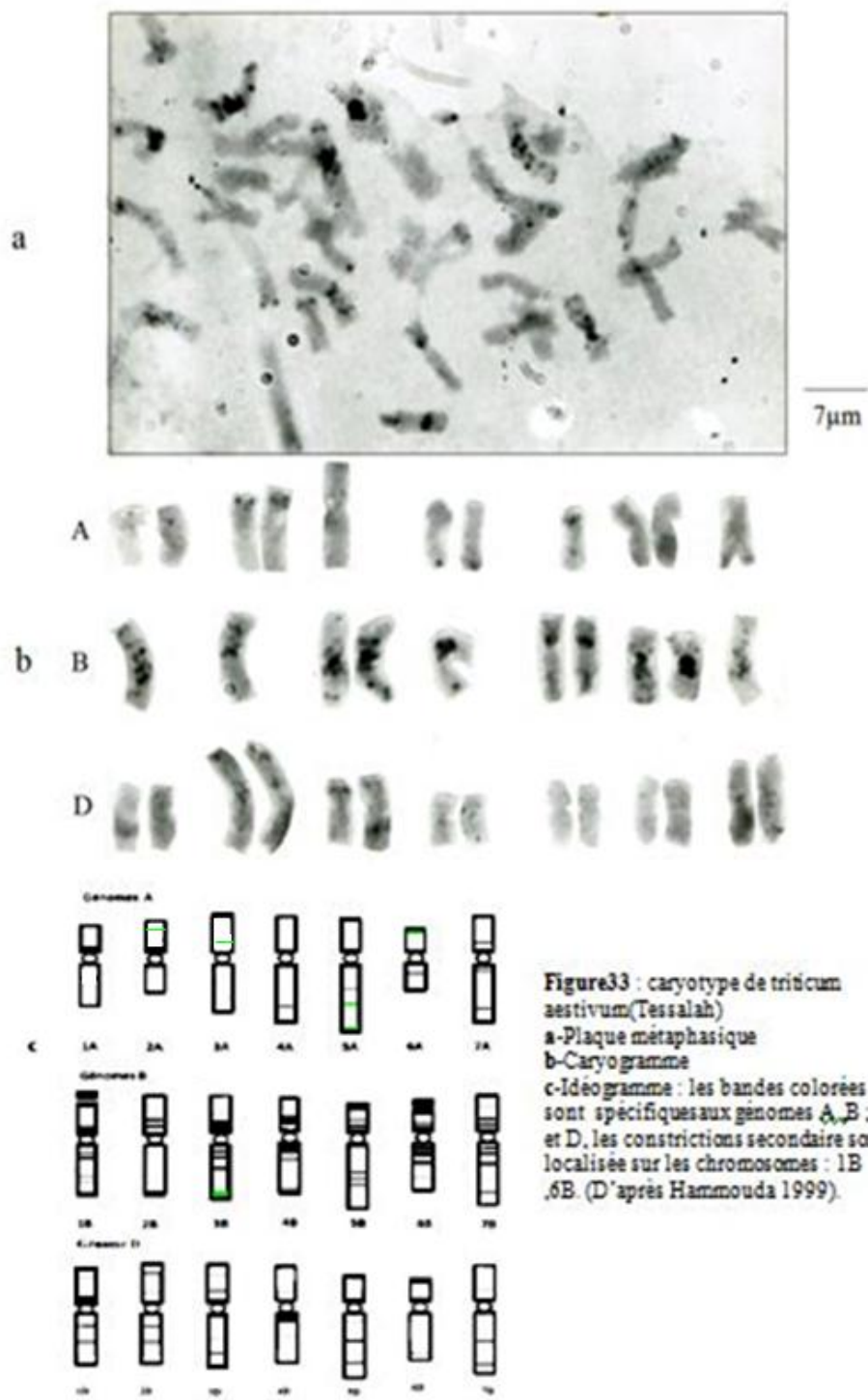


Figure33 : caryotype de triticum aestivum(Tessalah)
 a-Plaqué métaphasique
 b-Caryogramme
 c-Ideogramme : les bandes colorées sont spécifiques aux génomes A,B ; et D, les constriction secondaire sont localisée sur les chromosomes : 1B,6B. (D'après Hammouda 1999).

Discussion

Triticum monococcum représente une source importante de gènes utiles et d'allèles qu'il sera souhaitable d'utiliser dans les programmes de sélection du blé. Les repères bien définis des chromosomes Am accéléreraient l'introgessions ciblée de la chromatine de *T. monococcum* dans le génome du blé.

Dans cette étude, nous nous intéressons, particulièrement à l'analyse comparative des zones riches en séquences d'ADN hautement répétées non codantes (hétérochromatine) des espèces étudiées.

L'analyse génomique de chaque chromosome a montré une grande hétérogénéité dans la distribution des bandes hétérochromatiques (Figure 34).

Nous discutons, uniquement les variations des bandes supplémentaires (ou additionnelles), notons que , pour tous les génomes (Am ,A) chaque type de chromosome est désigné par groupe.

Comparaison inter génomique

Groupe 1A

Le chromosome **1A^m** présente des bandes supplémentaires par rapport à leurs homologues du blé, mais il est presque similaire aux chromosomes **1A** des variétés Cirta (blé dur) et Mahon_démias (blé tendre) (Fig. 34).

Groupe 2A

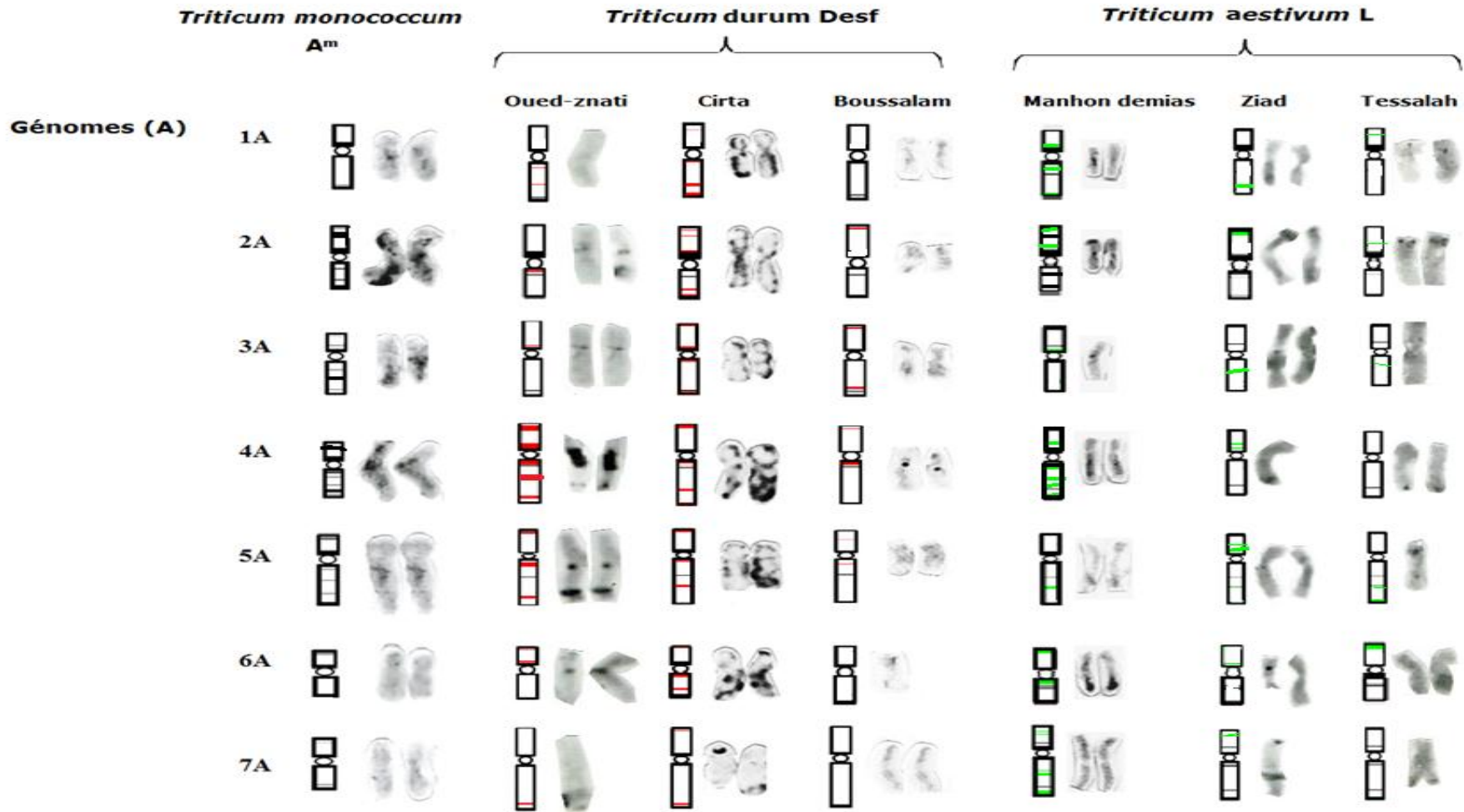
Le chromosome **2A^m** se différencie de leurs homologues des blés par la présence des bandes sombres centromérique et intercalaires (Fig. 34).

Groupe 3A

Le **3A^m** est plus riche en hétérochromatine constitutive à leurs homologues des blés (Fig. 34).

Groupe 4A

Le chromosome **4A** de la variété Oued-Znatic singularise par un marquage particulier (épaisse et sombre bandes centromérique). Alors que les chromosomes 4Am, 4A de Cirta (blé dur) sont presque semblable (Fig. 34).



La distribution des zones riche en séquences d'ADN hautement répété (Hétérochromatine) sur les chromosomes de génome A

Groupe 5A

Le 5A^m révèle des bandes sombres centromérique et il est presque similaire avec 5A d'Oued-Zenati et Cirta (Fig. 34).

Groupe 6A

Le 6A^m est différent par rapport à leurs homologues de blé dur et blé tendre (Fig. 34). Il se caractérise par l'absence des bandes hétérochromatiques.

Groupe 7A

Le 7A^m se caractérise par la présence de très fine bande C et il est presque semblable à leurs homologues de blé dur et blé tendre (Fig. 34).

D'après les résultats obtenus, on remarque des variations structurales importantes :

-les deux chromosomes 2Am (riche en bandes C), et 6Am (pauvre en bandes C). Sont différents à leurs homologues de blé dur et tendre.

-les génomes A et B de blé dur sont plus hétérochromatiques par rapport à ceux de blé tendre.

Les résultats obtenus chez *Triticum monococcum* et le blé (dur et tendre) en comparaison avec ceux des auteurs (Shmide, 2015 ; Mégerie et al 2016) travaillant sur *Triticum monococcum*, et blé tendre, montrant une variation.

Mégerie et al (2016), ont appliqués la technique de l'hybridation fluorescente in situ (FISH) couplée aux microsatellites, sur les chromosomes de *Triticum monococcum* L –blé tendre ont montrés des formes structurales différentes : les chromosomes 3A^m et 6A^m sont similaires avec ceux du blé tendre, les chromosomes 2A^m et 7A^m sont carrément différents. Alors que, les chromosomes 1A^m, 4A^m et 5A^m sont identiques à leurs homologues de blé tendre. Dans notre cas, seuls les chromosomes 2Am et 6Am sont différents à leurs homologues des blés. Signalons la majorité des chromosomes de *triticum monococcum* L, sont presque similaires à ceux de blé (*Triticum durum* Desf, *Triticum aestivum* L).

Des travaux réalisés par Shmide 2015 sur les chromosomes des blés diploïdes (*T. monococcum*, *T. urartu* et *T. boeoticum*), dans le but de déterminer l'évolution des chromosomes chez le genre *Triticum*. En effet, ils ont analysés et comparés les génomes A à leurs homologues du blé tendre. Ils ont observés et détectés des NOR localisés sur chromosomes 1A^u et 5A^u *Triticum Urartu*, dont ils sont absents chez *Triticum monococcum* et le *triticum boeoticum*. Ces mêmes auteurs ont prouvé que l'Aesp_SAT86 peut être utilisé dans l'analyse du *Triticum monococcum* pour la discrimination et l'identification des espèces de chromosomes particuliers.

D'après **Muégérie et al (2012)**, Les répétitions des microsatellites facilitent l'introgession de la chromatine de *Triticum monococcum* dans le fond polyploïde du blé.

D'autres travaux antérieurs (**Sears., 1954**), ont permis l'identification de tous les génomes A chez le blé Tétraploïdes et les triticales par la comparaison fait sur les longueurs totaux et les rapports (BL/BC) avec leurs homologues de la variété Chinese Spring.

Gill et al. (1991, 2009), Friebe and Gill (1994) proposent, dans le caryotype de référence (*ChineseSpring*), d'inverser la position des chromosomes 4A et 4B: Au début, le chromosome 4B (ancienne désignation) n'apparaît pas étant un chromosome du génome A en raison de manque d'appariement avec n'importe quel chromosome du *Triticum monococcum* (Dvorak, 1976, Badaeva et al., 2007).

Récemment il a été démontré que l'ancien 4B doit être le chromosome du génome A et l'anomalie d'appariement est due aux aberrations structurales subies à l'origine du blé (Naranjo et al, 1988). En vue de ces considérations, les participants au 7ème I.W.G.S ont voté sur la répartition des chromosomes 4A et 4B. Ainsi, l'ancien 4A est au génome B, désigné chromosome 4B. l'ancien 4B est au génome A et désigné comme chromosome 4A.

Conclusion

Le genre *Triticum* a depuis longtemps suscité l'intérêt des chercheurs en raison de sa grande importance en amélioration des blés cultivés.

L'étude cytogénétique demeure l'une des méthodes d'analyse indispensables dans le programme de sélections des blés, afin de mettre en évidence les anomalies qui peuvent toucher les chromosomes lors des croisements.

A travers cette étude cytogénétique nous avons essayé de mettre en évidence les différentes formes de structure chromosomique, par l'analyse intergénomique (A) des trois espèces *Triticum monococcum* L, *Triticum durum* Desf et *triticum aestivum* L , en utilisant la technique du marquage C-banding.

A l'issu de nos travaux, nous pouvons retenir:

-L'analyse des caryogrammes et des idiogrammes révèle une grande similarité dans la forme et la taille des chromosomes. Ces derniers sont en majorité métacentriques sauf les paires chromosomique 5A, 5B et 5D sont des submétacentrique. Ce qui indique des caryotypes symétriques.

-l'espèce *Triticum monococcum* L comparé à celle de blé dur (variété : Cirta, Oued-Zenati et Boussalam) et avec des blé tendre (variété :Manhon demias, Ziad et tessalah) révèle de nombreuses variation dans la distribution des bandes hétérochromatiques (intensité, nombres et localisation des bandes C)

L'analyse des tous les génomes Arévèle d'importantes variations :

-les chromosomes de *Triticum durum* (hybride F1) et de *Triticum aestivum* (hybride F2) sont très riches en hétérochromatine constitutive (bandes spécifique) par rapport de son parent (*Triticum monococcum*).

- la majorité des chromosomes de *triticum monococcum* sont presque similaires à ceux des blés (*Triticum durum* Desf, *Triticum aestivum* L),sauf une particularité concernant les chromosomes 2A^m (qui montre un surcharge en hétérochromatine)et 6A^m (pauvre en bandes C) qui montrent une grande différenciation par rapport à leurs homologues de blé dur et blé tendre.

- un marquage particulier chez la variété Oued-Znati sur le chromosome 4A qui présente des épaisses et sombres bandes centromériques, (bloc d'hétérochromatine).

-Les génomes (A-B) de blé dur est plus hétérochromatie aux génomes (A- B -D) de blé tendre.

Toutes les variations révélées par la technique du marquage C-banding sont dues probablement à l'amplification ou à la réduction de la quantité des séquences d'ADN hautement répétées (riches en bases CG) dans ces régions.

D'après les résultats en conclue que le *triticum monococcum*L , constitue un important réservoir de gènes utilisable dans l'amélioration des formes cultivées

Les variations observées chez les variétés et des 'espèces étudiées indiquent l'existence d'un polymorphisme hétérochromatique intervariétale et interspécifique.

En perspectives, nous souhaitons d'envisager d'autres techniques, plus approfondies, telle que :

- ✚ l'hybridation fluorescent in situ (FISH) pour localiser les gènes ribosomiaux et mettre en évidence des mutations de type translocation ou inversion.
- ✚ Marquage au Fluorochrome-banfung, qui permet de mesurer l'effet de l'hétérochromatine sur la quantité d'ADN.
- ✚ Marquage par le N.banding pour localiser les régions organisatrices nucléolaires (N. O. R).
- ✚ Enfin d'établir une cartographie génétique des gènes ribosomiques et chromosomes marqueurs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bednarek J., 2012 :** Analyse fonctionnelle de TaGW2, une E3 ligase de type RING, dans le développement du grain de blé tendre (*Triticum aestivum*) livre5 189
- Belahcene N. Bouasla S. Debabsa R. Djouamaa M., 2008 :** Comportement morphologique, physiologique et biochimique de trois variétés de blé dur (*Triticum durum*.desf) sous traitement par un fongicide (TILT 250EC) D E S P11 55
- Benbelkacem A., 2013.** Rapport national des activités du projet INRA-Icarda 2012-2013:45p.
- Benhizia G.H., 2014 :** Caractérisation cytogénétique classique et moléculaire de trois espèces endémiques du genre *Hedysarum* L.
- Bonjean A., 2001 :** Histoire de la culture des céréales et en particulier celle de blé tendre (*Triticum aestivum* L.).Dossier de l'environnement de l'INRA, N°21 :29-37.
- Boudchicha R.H., 2009 :** Variation des sous unités glutenines de haut poids moléculaire chez les espèces *aegilops* de la section *Sitopsis magister* 15 83
- Boumana M., 2017 :** Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé dur pour la tolérance au stress biotique et abiotique
- Chen ZJ. Ni Z. 2006.** Mechanisms of genomic rearrangements and gene expression changes in plant polyploids. *BioEssays* 28(3): 240-252. Article
- Chen ZJ., 2007.** Genetic and Epigenetic Mechanisms for Gene Expression and Phenotypic Variation in Plant Polyploids. *Annual review of plant biology.* 58: 377-406. Article
- Chetmi D., 2009 :** Etude comparative de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) et analyse diallèle de leurs hybrides F1. Institut National D'agronomie –El harrach – Alger **these de magister** 14-123.
- Combes Gavalda M. C., 2017 :** Polyploïdie et adaptation des plantes Étude de l'expression des gènes homéologues chez le caféier (*Coffea arabica*) 8 9 24
- Croston et Williams, 1981) Croston. R.P, et Williams J.T (1981) :** « A world survey of wheat genetic resources ». *IBRGR. Bulletin* /80/59. p37.
- Djermoun., 2009 :** la production céréalière en algérie : les principales caractéristiques

- Djermoun.A 2009:**La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques, Revue Nature et Technologie. n° 01/Juin 2009. Pages 45 à 53.
- Doussinault G., Pavoine M- T., Bénédicte J ., Jahier J., 1992 :** Évolution de la variabilité génétique chez le blé
- Dovrak J., 1988 :** The origin of wheat chromosomes 4A and 4B and their genome reallocation *Triticum durum* Desf.) Par l'étude du bilan hydrique et des paramètres phéno-morpho-physiologiques.
- Feldman, M., 2001 :** Origin of cultivate wheat. In: Bonjean, A.P., Angus, W.J. (eds.). *The*
- Friebe et al. (1990**
- Gautheret D., 2012 :** Biologie Moléculaire, Structure de la Chromatine et Structure des génomes Cours 2 33
- Geneviève M. et Luciani J., 2006 :** L'heterochromatine, du chromosome à la protéine. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. Article 2 8
- Ghennai A. Zérafa C. Benlaribi M., 2017:** Étude de la diversité génétique de quelques variétés de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et de blé dur (*Triticum durum* Desf.) selon la base des caractères de l'U.P.O.V
- Gill B.S., Friebe B:** Cytogenetics, phylogeny and evolution of cultivated wheats
- Gill C. Dedryver C A. Jeuffroy M H. Chantal L. Didier M et al. Claude S J .,1987 :** filiere cereales a paille recherches a l'inra et positionnement international
- Grézy., 2015 :** implication de l'acétyltransférase tip60 dans le maintien de l'hétérochromatine péricentromérique chez les mammifères doctorat 32 130
- Gueraiche S., 2016 :** Diversité Génétique et Adaptation de quelques variétés de Blé Dur *Triticum durum* Desff -- Utilisation des marqueurs moléculaires
- Gueraiche., 2016.** Diversité Génétique et Adaptation de quelques variétés de Blé Dur-*Triticum durum* Desf -Utilisation des marqueurs moléculaires master p5 53
- Hamdi O., 2003.** Etude biochimique et génétique de la diversité des sous unités gluténines de huit espèces du genre *Aegilops*. Thèse de magistère. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Mentouri Constantine.

Hamel L ., 2010 : Appréciation de la variabilité génétique des blés durs et des blés apparentés par les marqueurs biochimiques. thèse de magister, Université Mentouri Constantine 11P-83P

Hammouda D., 1999:Etude d'un polymorphisme hétérochromatique chez cinq variétés de blé (*Triticum durum* Desf et *Triticum aestivum* L .

Hammouda D. Khalfallah N. Badri Mohammed H., 2017 : Analyse génomique chez le triticales (8x) et leurs géniteurs (blé et seigle) par les techniques C-banding, N-banding et Hybridation *in situ* : Identification de la translocation 2BL/7RS

Hammouda D., 2013 : Évolution et organisation du génome chez le triticales (x-Triticosecale Wittmack). These doctorat 13 15 136

Hidalgo A. Brandolin A., 2014 : Nutritional properties of einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.).

Houben A., 2015 : A Set of Cytogenetic Markers Allows the Precise Identification of All A-Genome Chromosomes in Diploid and Polyploid Wheat

Johnson B.L. 1972. Protein electrophoric profiles and the origine oft he B genome of

Kellou R., 2008 : analyse du marché algérien du blé dur et les opportunités d'exportation pour les céréaliers français dans le cadre du pole de compétitivité Quali-Méditerrané.le cas des coopératives sud céréales, Groupe coopératif occitan et audecoop.these de master de master ,centre international de hautes études agronomiques méditerranéenne p7 /169p

Laala Z., 2010 : Analyse en chemin des relations entre le rendement en grains et les composantes chez des populations F3 de blé dur (*Triticum durum* Desf.) Sous conditions semi-arides. magister13 97

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 these de doctorat P17 -118 .

Mathie C ., 2010 : Évolution des génomes du blé (genres *Aegilops* et *Triticum*) au sein des *Poaceae* .Dynamique rapide de l'espace occupé par les éléments transposables et conservation relative des gènes. Thèse de doctorat, université d'Évry-Val d'Essonne ecole doctorale GAO : Des Génomes Aux Organismes 4-314.

Mazouz L ., 2006 :Etude de la contribution des paramètres phénomorphologiques dans l'adaptation du blé dur(*triticum durum DES*)dans l'étage biochimique semi aride.

Megyeri M. Péter M. Farkas A. Láng M M. Molnár I., 2012 : Karyotypic analysis of *Triticum monococcum* using standard repetitive DNA probes and simple sequence repeats

Megyeri M. Péter M. Farkas A. Láng M M. Molnár I.,2016 :Cytomolecular discrimination of the Am chromosomes of *Triticum monococcum* and the A chromosomes of *Triticum aestivum* using microsatellite DNA repeats.

Megyeri M., 2014 : Molecular cytogenetic analysis of *Triticum monococcum* gene bank accessions and their utilization in wheat improvement.

-Mestiri I., 2010 : Changements génétiques et épigénétiques en relation avec le comportement méiotique chez les allopolyploïdes de blé (genres *Aegilops* et *Triticum*)
doctorat 11 125

nakov et al 2016 nutritional properties of einkornwheat (*triticum monococcum* l) – review Conference Paper · November 2016

Nakov G. Vasileva N. Stamatovska V. Damyanova S., 2016 : Nutritional properties of einkorn wheat (*triticum monococcum* l) - review

ONFAA. INRA ., 2016 : le commerce international des céréales

Ouafi L., 2009 : Caractérisation cytogénétique et comportement vis-à-vis d'un stress hydrique de quelques populations de trois espèces de *Medicago* (*M. ciliaris*, *M. intertexta*, *M.truncatula*). 21 116

Ouanzar S., 2012 : Etude comparative de l'effet du semis direct et du labour conventionnel sur le comportement du blé dur (*Triticum durum* Desf.). thèse de magister, Université Ferhat Abbas Setif 7-70.

Oudjani W., 2009 : Diversité de 25 génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : étude des caractères de production et d'adaptation 13 -113 magister

Ramsey, J., and D. W. Schemske. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:467-501.

Ridgway P, Maison C, Almouzni G., 2006 : La chromatine : organisation fonctionnelle du génome. ARTICL P467 501

Saada A., 2009 : identification cytogénétique d'espèce annuelles du genre *Medicago* par les techniques de coloration au Feulgen et au Giemsa

Sarkar P. Stebbins G ., 1956. Morphological evidence concerning the origin of the B genome in wheat. *Amer. J. Bot.* **43**: 297-304. *aestivum*L., *Can, Genet, Cytol*; 25: 210-214

Schmid M ., 2015 : A Set of Cytogenetic Markers Allows the Precise Identification of All A-Genome Chromosomes in Diploid and Polyploid Wheat

Semcheddine N., 2015 : Evaluation de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum*

Venturini Y. Lavaud A., 2015 : Introduction à la génétique médicale et chromosomes humains 4 22

Véronique G .M : Contrôle épigénétique du risque de montaison chez une plante de grande culture : la betterave sucrière. Mise au point d'une stratégie de caractérisation d'épi allèles associés à la sensibilité à la montaison en vue de l'élaboration d'un test de sélection.

wheat. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, **69**.

world wheat book-A history of wheat breeding. Lavoisier Publishing; Paris; France. P.3- 55.

Zettal Y., 2017 : le blé : importance, santé et risq

Résumer

Dans le cadre d'une étude cytogénétiques portant sur l'analyse comparatives du génome A^m de *Triticum monococcum* L à ceux des génomes (A) des blés cultivé (*Triticum durum* Desf.) et (*Triticum aestivum* L.) nous Avon montré que le génome de *Triticum monococcum* L comparé avec ceux de blé dur (variété Oued-zneti , Cirta, et Boussalam) et avec de blé tendre (variété :Mahon demias, ziad et tessalah) revele de nombreuses variation dans la distribution des bandes hétérochromatique (intensité ,nombres et localisation des bandes C).

D'après les résultats on a pu observer des formes structurale particulière est important .dans le génome Am de *Triticum monococcum* L, le chromosome 2Am il est très riche en hétérochromatine constitutive, et le 6A m pauvre en bandes C, par rapport à leurs homologues de blé dur et blé tendre.

Toutes ces variations indiquent l'existence d'un polymorphisme interspécifique et intra spécifiques (inter-variétales).

On déduit que le *Triticum monococcum* L constituent des gènes importante dans l'amélioration des plantes.

Mots clés : *Triticum .monococcum* L ,*Triticum durum* Desf, *Triticum aestivum* L ,génome A, C-banding, chromosome.

Abstrat

In a heterochromatic polymorphism study, special attention was given to differential C-banding (or Giemsa) staining of all genome A chromosomes in *Triticum monococcum* L (AA), and some varieties of *Triticum durum* Desf (variety Oued-Zenati, Cirta and Boussalam), and *Triticum aestivum* L (varieties: Mahon demias, Ziad and Tessalah), grown in Algeria.

The results obtained show significant structural variations in the genome A of *triticum monococcum* L, and even in the A genomes of *triticum durum* Desf, and *triticum aestivum* L. The genomic analysis of each chromosome showed a great heterogeneity in the distribution of Heterochromatic bands. The genomes A of the Oued-Zenati, Cirta and Mahon demi varieties, compared with those of *Triticum monococcum*, reveal an overload of constitutive heterochromatin. Unlike the Boussalam variety, the Ziad and Tessalah varieties show less heterochromatin.

From the results obtained à particular case is important in the Am genome of *triticum monococcum* L, chromosome 2Am it is very rich in constitutive heterochromatin, and 6Am poor in C bands. Are different to their counterparts of durum wheat and soft.

All these variations indicate the existence of an interspecific heterochromatic polymorphism.

Key words: *Triticum L.monococcum* L, *Triticum durum* Desf, *Triticum aestivum* L, genome A, C-banding, chromosome.

الملخص

كجزء من الدراسة وفيما يتعلق بتعدد الاشكال اولينا اهتماما خاصا (Giemsa) c banding لكل كروموزومات الجينوم A عند *Triticum monococcum* L , وبعض اصناف النوع *Triticum durum* Desf (الانواع : سيرتا , واد زناتي , بوسالم) *Triticum aestivum* L (الانواع: مانهو ديمياس , زياد, تيسالا) التي انتجت في الجزائر .

تظهر النتائج المتحصل عليها اختلافات هيكلية كبيرة في الجينوم *Triticum monococcum* L وكذلك بالنسبة *Triticum durum* Desf و *Triticum aestivum* L , اظهر التحليل الجينومي لكل كروموزوم عدم التوافق في توزيع الاشرطة للجينوم A لكل من الانواع سيرتا , واد زناتي , ماهوديمياس , مقارنة مع تلك الموجودة في *Triticum monococcum* L , وتكشف عن وجود اشرطة إضافية علي عكس الانواع بوسالم زياد تيسالا التي تحوي عدد اقل.

من خلال هذه الدراسة لاحظنا ايضا وجود حالة خاصة ومهمة في الجينوم *Triticum monococcum* L للكروموزوم $6A^m$ يفتقر للأشرطة, اما بالنسبة للكروموزوم $2A^m$ فهو جد غني, وفي نفس الوقت يختلفون عن نظرائهم في القمح الصلب واللين .

كل هذه الاختلافات تشير الي وجود تعدد بين الانواع .

الكلمات المفتاحية : *Triticum monococcum* L *Triticum durum* , Desf *Triticum aestivum* L : كروموزوم , جينوم .

INTITULÉ : Comparaison chromosomique des génomes (A) de triticum monococcum et des blés polyploïdes

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

Résumer

Dans le cadre d'une étude cytogénétiques portant sur l'analyse comparatives du génome A^m de *Triticum monococcum* L à ceux des génomes (A) des blés cultivé (*Triticum durum* Desf.) et (*Triticum aestivum* L.) nous Avon montré que le génome de *Triticum monococcum* L comparé avec ceux de blé dur (variété Oued-zneti , Cirta, et Boussalam) et avec de blé tendre (variété :Mahon demias, ziad et tessalah) revele de nombreuses variation dans la distribution des bandes hétérochromatique (intensité ,nombres et localisation des bandes C).

D'après les résultats on a pu observer des formes structurale particulière est important .dans le génome Am de *Triticum monococcum* L, le chromosome 2Am il est très riche en hétérochromatine constitutive, et le 6A m pauvre en bandes C, par rapport à leurs homologues de blé dur et blé tendre.

Toutes ces variations indiquent l'existence d'un polymorphisme interspécifique et intra spécifiques (inter-variétales).

On déduit que le *Triticum monococcum* L constituent des gènes importante dans l'amélioration des plantes.

Mots clés : *Triticum .monococcum* L ,*Triticum durum* Desf, *Triticum aestivum* L ,génome A, C-banding, chromosome.

Mots clés : ... *Triticum .monococcum* L ,*Triticum durum* Desf, *Triticum aestivum* L ,génome A, C-banding, chromosome, hétérochromatine constitutive

Laboratoire de recherche : Génétique biochimie et biotechnologie végétale

Jury d'évaluation

Président du jury : Mr BENBELKACEM A. (D.R, I.N.R. A / CONSTANTINE)

Rapporteur : Mme. HAMOUDA.BOUSBIA D. (MCA-UFM CONSTANTINE 1)

Examineurs : Mr. KELLOU K. (MAA-UFM CONSTANTINE 1)

Date de soutenance : 28 juin 2018