



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم : بيولوجيا النبات **Département : Biologie Végétale**

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biotechnologies**

**Spécialité : Biotechnologie et Génomique Végétale**

**N° d'ordre :**

**N° de série :**

Intitulé :

Etude de la variabilité génétique de quelques variétés de blé dur  
(*Triticum durum*, Desf), par les microsatellites (SSR).

**Présenté par :** Habbeche Hind

**Le : 25/06/2025**

Benzaid Nour Faten

**Jury d'évaluation :**

**Président : Mme BOUSBAA R.** (Professeur - Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant : Mme KHENNAOUI .A** (MCB- Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examineur : Mme LOUALI.Y** (MCB- Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire  
2024 – 2025**

# Remerciements

بسم الله الرحمن الرحيم

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah, de nous avoir donné la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail et le terminer avec succès.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadrante de mémoire, **Mme Amina Khennaoui**, pour son accompagnement, sa patience et la confiance qu'elle nous a accordée tout au long de ce travail de recherche. Ses précieux conseils, son expertise et son soutien constant ont été d'une aide inestimable et ont grandement contribué à l'aboutissement de ce projet.

Nous adressons également nos sincères remerciements à **Mme Bousba Ratiba**, présidente du jury, pour l'honneur qu'elle nous a fait en présidant notre soutenance. Nous lui exprimons notre profonde reconnaissance.

Nous remercions aussi **Mme Louali Yamouna**, qui nous a fait l'honneur de juger ce travail en qualité d'examinatrice.

Enfin, nous remercions chaleureusement toute l'équipe du laboratoire de biologie moléculaire, biotechnologie et végétale, pour leur accueil, leur assistance et leur disponibilité tout au long de notre mémoire.



## **Dédicace**

Je dédie ce modeste moi premièrement, et mes chers parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils déçoient de me combler. Pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

Aux plus merveilleuses des sœurs,

Chehd et nouha, pour leurs encouragements permanents.

A mon frère Mehdi A mes grands-parents et toutes mes tantes et mes chers cousins.

A mes meilleures amies Randa, Yugen, Manar, Manel, Safa. Merci pour ces meilleures années d'aventures, de rire, et de souffrance parfois.

Je garderais des souvenirs gravés à jamais dans ma mémoire.

À ces amis de l'ombre, qui écoutent sans jamais parler, présents en silence, soutiens invisibles mais inestimables : Lucky, Lyly.

A tous ceux que j'aime,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible, Merci d'être toujours là pour moi.

**Hind**



# Dédicace

Je dédie ce modeste travail, fruit d'années d'efforts, de persévérance et de passion, à mes chers parents, piliers de ma vie, pour leur amour inconditionnel, leur présence constante, et leurs encouragements silencieux mais puissants. À ma précieuse et tendre maman, dont les sacrifices quotidiens et le dévouement inlassable ont tracé le chemin de ma réussite. Ses prières murmurées dans le silence des nuits, ses inquiétudes cachées derrière un sourire rassurant, ont toujours été pour moi une source de force, de protection et de sérénité. À mon père, qui m'aime en silence, avec une affection discrète mais infiniment profonde. Sa présence tranquille, ses sacrifices muets, et son amour sans mots mais toujours ressenti, ont été pour moi une force et un exemple. Merci d'être là, sans bruit, mais toujours avec tout ton cœur.

À mes sœurs Chaima, Selma, Chahinez, Belkis, qui ont chacune contribué, par leur amour, leur attention et leur présence. À Oumeima, ma petite étoile au cœur immense, celle qui a su m'entourer d'un amour rare et sincère. Par ta douceur, ta présence constante, et tes gestes pleins d'attention, tu as été bien plus qu'une sœur : tu as été comme une deuxième mère pour moi. Merci d'être dans ma vie, de m'aimer avec tant de générosité, et d'avoir toujours été là, sans jamais faillir.

À mes frères Fayçal, Nedjmeddine, Bassem et Chouaib

À mon amie Wissal, merci pour ton amitié sincère, ton soutien discret et ta présence apaisante

À toutes les personnes, proches ou lointaines, qui m'aiment d'un amour sincère, pur et sans attente, à celles et ceux qui ont su percevoir ce que je porte au fond de moi, comprendre mes silences, respecter mes combats intérieurs, et m'accompagner avec bienveillance et respect dans mon parcours.

**Feten**



# Résumé

---

## Résumé

### **Etude de la variabilité génétique de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum*, Desf) par les microsatellites (SSR).**

La caractérisation et l'évaluation des variétés cultivées de blé dur constituent des étapes fondamentales pour la conservation et la valorisation de ce patrimoine génétique. Dans ce contexte, et afin de contribuer à l'amélioration génétique ainsi qu'à la gestion durable de cette ressource, la présente étude a été menée. Elle porte sur l'évaluation moléculaire des nouvelles variétés Beni Mestina, Ouled Mostefa et Ain Lahma, à l'aide de marqueurs moléculaires SSR (WMC44, WMC161, GWM493, GWM533, Barc8, WMC25, WMS6, PSP2999), localisés respectivement sur les chromosomes 1B, 4A, 3B, 3B, 1B, 2A, 2B, 4B et 1A.

Les analyses ont révélé un taux de polymorphisme de 16,66 %, avec un total de 24 fragments amplifiés et 11 allèles détectés. La variété Ain Lehma se distingue par la richesse allélique la plus élevée (9 allèles), suivie de Beni Mestina (8 allèles) et Ouled Mostefa (7 allèles). Bien que modéré, ce niveau de polymorphisme atteste d'une variabilité génétique exploitable, offrant un potentiel significatif pour les programmes de sélection visant à l'amélioration de la Tolérance stress hydrique et de la résistance aux pathogènes chez le blé dur.

**Mots clés :** *Triticum durum*, stress hydrique, stress abiotique, SSR, amélioration.

# Abstract

---

## Abstract

### **Study of the genetic variability of some durum wheat varieties (*Triticum durum*, Desf), by SSR**

The characterization and evaluation of cultivated varieties of durum wheat constitute fundamental steps for the conservation and valorization of this genetic heritage. In this context, and in order to contribute to the genetic improvement as well as the sustainable management of this resource, the present study was carried out. It concerns the molecular evaluation of the new varieties Beni Mestina, Ouled Mostefa and Ain Lehma, using SSR molecular markers (WMC44, WMC161, GWM493, GWM533, Barc8, WMC25, WMS6, PSP2999), located respectively on chromosomes 1B, 4A, 3B, 3B, 1B, 2A, 2B, 4B and 1A. Analyzes revealed a polymorphism rate of 16.66%, with a total of 24 amplified fragments and 11 alleles detected. The Ain Lehma variety stands out for the highest allelic richness (9 alleles), followed by Beni Mestina (8 alleles) and Ouled Mostefa (7 alleles). Although moderate, this level of polymorphism demonstrates exploitable genetic variability, offering significant potential for breeding programs aimed at improving tolerance to water stress and resistance to pathogens in durum wheat.

Key word : *Triticum durum*, water stress, abiotic stress, SSR, improvement

### دراسة التباين الوراثي لبعض أصناف القمح الصلب (*Triticum durum*, Defs) بواسطة SSR

يشكل توصيف وتقييم الأصناف المزروعة من القمح القاسي خطوات أساسية للحفاظ على هذا التراث الوراثي وتثمينه. وفي هذا السياق، ومن أجل المساهمة في التحسين الوراثي وكذلك الإدارة المستدامة لهذا المورد، تم إجراء هذه الدراسة. يتعلق الأمر بالتقييم الجزيئي للأصناف ، GWM493 ، WMC161 ، WMC44) SSR الجديدة بني مستينة وأولاد مصطفى وعين لحمة، باستخدام الواسمات الجزيئية ، الموجودة على التوالي على الكروموسومات (PSP2999، WMS6، WMC25، Barc8، GWM533، 1B, 4A, 3B, 3B, 1B, 2A, 2B, 4B, 1A. كشفت التحليلات عن معدل تعدد الأشكال بنسبة 16.66%، مع إجمالي 24 قطعة مضخمة و 11 أليلاً تم اكتشافها. تتميز صنف عين لحمة بوفرة الأليلات (9 أليلات)، تليها بني مستينة (8 أليلات) وأولاد مصطفى (7 أليلات). وعلى الرغم من اعتداله، فإن هذا المستوى من تعدد الأشكال يوضح التباين الوراثي القابل للاستغلال، مما يوفر إمكانات كبيرة لبرامج التحسين التي تهدف إلى رفع كفاءة القمح الصلب للإجهاد المائي ومقاومة مسببات الأمراض.

**كلمات مفتاحية:** قمح صلب، التحسن، الإجهاد الحيوي، الإجهاد اللاحيائي، التحسن

# Liste des abréviations et des acronymes

## Liste des abréviations et des acronymes :

ABREVIATION/ ACRONYME	SIGNIFICATION
ADN	Acide Désoxyribonucléique
SSR	Simple Sequence Repeat
PCR	Polymerase Chain Rection (Réaction de polymérisation en chaîne)
MIX	Mix réactionnelle de la PCR
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
TE	Tris-EDTA (tampon de conservation de l'ADN)
ICARDA	International Center for Agricultural Research in the Dry Areas
CIMMYT	International Maize and Wheat Improvement Center
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
INRAE	Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement
CRBT	Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine
ITGC	Institut Technique des Grandes Culture
WMC	Wheat Microsatellite Consortium
WMS	Wheat Microsatellite
GWM	Gatersleben Wheat Microsatellite
BARC	Beltsville Agricultural Research Center (amorces SSR développée aux États-Unis)
PSP	Plant SSR Primer
RPM	Rotation per minute (vitesse de centrifugation)
Pb	Paires de bases (taille des fragments d'ADN)



# Liste des tableaux

## Liste des tableaux

Tableau 01 : Production, consommation et importation de blé dur en Algérie (1000 Tons en 2020-2023) (USDA, 2022) .....	6
Tableau 02 : L'origine de variétés étudiées de blé dur .....	19
Tableau 04 : Mélange réactionnelles .....	21
Tableau 03 : Noms de marqueurs SSR, leurs séquences et leurs températures. ....	21
I.2 Évaluation de la qualité des marqueurs étudiés : .....	25
Tableau 05 : évaluation de la quantité et de la quantité d'ADN extrait .....	26
Tableau 06 : Taille des allèles observés (Pb) de 3 primers microsatellites chez 3 variétés de Blé dur .....	28
Tableau 07 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce.....	29
WMC 44 .....	29
Tableau 08 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce WMC 161 .....	30
Tableau 09 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce GWM 493 .....	31
Tableau 10 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce GWM 533 .....	32
Tableau 11 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce Barc 8 ..	33
Tableau 13 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce.....	34
Tableau 13 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce.....	35

# Liste des figures

## Liste des figures

Figure01 : Blé dur ( <i>Triticum durum</i> Desf) (ARVALIS institut du végétale. 2024) .....	5
Figure 02 : Production du blé en Algérie (Ministre de l’agriculture et de développement rural en Algérie ; 2024) .....	6
Figure 03 : Rouille brune du blé dur (Adama., 2024) .....	8
Figure 04 : Fusariose de blé (Julie Guichon,2023) .....	9
Figure 05 : Oïdium de blé (Triple performance, 2025).....	9
Figure 06 : Septoriose de blé(les semences au cœur de la vie, 2020).....	10
Figure 07 : Polymorphisme de nombre d’unités de répétition (SSR) (Anonyme,2010). .....	15
Figure 8 : Profil électrophorétique sur gel d’agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l’amorce WMC 44 .....	29
Figure 9 : Profil électrophorétique sur gel d’agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l’amorces WMC 161 .....	30
Figure 10 : Profil électrophorétique sur gel d’agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l’amorces GWM 493 .....	31
Figure 11 : Profil électrophorétique sur gel d’agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l’amorces GWM 533 .....	32
Figure 12 : Profil électrophorétique sur gel d’agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l’amorces Barc 8 .....	33
Figure 13: Profil électrophorétique sur gel d’agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l’amorces WMS .....	34
Figure 14 : Profil électrophorétique sur gel d’agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l’amorce PSP2999 .....	35
Figure 15 : Profil électrophorétique sur gel d’agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l’amorce WMC 25 .....	36
Figure 16 : Valeurs totale, de nombre d'allèles par variétés pour l’ensemble des amorces SSR .....	39

## **Liste des annexes :**

---

### **Liste des annexes :**

**Annexe 01 :** Protocole d'extraction d'ADN

**Annexe 02 :** Programme PCR

**Annexe 03 :** Marqueur de taille 100 Pb

# Table des matières

# Table des matières

## Table des matières :

Remerciements	
Dédicace	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations et des acronymes	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des annexes	
Table des matières	
Introduction	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Revue bibliographique</b>	
I .Présentation du blé dur	<b>4</b>
I.1 Blé dur	<b>4</b>
I.1.2 Classification du blé dur	<b>4</b>
I.2 Importance du blé dur en Algérie	<b>5</b>
I .2.1. La production du blé dur en Algérie	<b>4</b>
II. La problématique liée a la production du blé dur en Algérie	<b>7</b>
II.1. Effet de la nature de l'environnement sur la culture du blé dur	<b>7</b>
II.1.1 Dépendance aux précipitations	<b>6</b>
II.1.2 Conditions pédoclimatiques difficiles	<b>6</b>
II.1.3 Faible développement de l'irrigation	<b>6</b>
II.1.4. Sécheresse	<b>6</b>
II.2. Les types de stress lié à la culture de blé dur	<b>7</b>
II.2.1 Stress biotique chez le blé dur	<b>7</b>
II.2.1.1 Les principales maladies du blé dur en Algérie	<b>8</b>
II.2.2 Le stress abiotique chez le blé dur	<b>10</b>
III. Programme d'amélioration de blé dur en Algérie	<b>12</b>
III.1 Importance de la caractérisation moléculaire par l'utilisation des marqueurs moléculaires	<b>12</b>
III.1.1 Pourquoi la caractérisation moléculaire est essentielle ?	<b>12</b>
III.2 La tolérance au stress hydrique	<b>13</b>
III.2.1 Les maladies	<b>13</b>
III.3 Les marqueurs moléculaires les plus utilisés pour le blé dur	<b>13</b>
III.3.1 Qu'est-ce qu'un marqueur moléculaire	<b>13</b>
III.3.2 Types de marqueurs moléculaires	<b>13</b>
III.3.2.1 Marqueur de type SSRs	<b>14</b>
III.4 Quelques travaux de Caractérisation moléculaire de variétés de blé dur (Triticum durum) par l'utilisation des microsatellites	<b>15</b>
<b>Chapitre II : Matériel et méthode</b>	
I.1 Matériel végétale	<b>19</b>

# Table des matières

I.2 Mise en place de l'essai	19
I.3 La germination des graines en mise de culture	19
I.4 Extraction de l'ADN	19
I.5 Évaluation de la qualité et de quantité d'ADN extraite	20
I.5.1 Dosage de l'ADN génomique	20
I.6 Analyse moléculaire par les marqueurs SSRs	20
I.6.1 Amplification par la technique PCR	20
I.6.2 Les amorces SSR utilisées	20
I.7 Mélange réactionnelle	20
I.8 Préparation des amorces	22
I.9 Amplification par PCR	22
I.10 Vérification de l'amplification par électrophorèse sur gel d'agarose de concentration 3 %	22
I.10 Analyse de résultats	22
I.11 Le pourcentage de bandes polymorphes (P)	22
<b>Chapitre III : Résultats et discussions</b>	
I.1 Évaluation de la qualité de la quantité de l'ADN extrait	25
I.2 Évaluation de la qualité des marqueurs étudiés	25
I.3 Le pourcentage de bandes polymorphes (P)	27
I.4 Évaluation de la variation de présence et absence de bande chez les trois variétés	28
I.4.1 Amorces WMC44	28
I.4.2 Amorces WMC 161	29
I.4.3 Amorces GWM 493	30
I.4.4 Amorces GWM 533	31
I.4.5 Amorces Barc 8	32
I.4.6 Amorces WMS 6	33
I.4.7 Amorces PSP299	34
I.4.8 L'amorce non retenue dans notre étude	35
I.5 Nombre totale d'allèles par variétés	37
Conclusion	41
Perspectives suggérées	42
Références bibliographiques	44
Annexe	46

# Introduction

# Introduction

---

## Introduction

Le blé dur (*Triticum durum*) occupe une place prépondérante parmi les cultures céréalières du bassin méditerranéen, notamment en Afrique du Nord, où il constitue un aliment de base. À l'échelle mondiale, il représente environ 5 % des superficies cultivées en blé, avec une production estimée à 38 millions de tonnes par an (**Kirouani et al., 2019**). En Algérie, les céréales couvrent près de 3,6 millions d'hectares chaque année, et le blé dur y joue un rôle crucial dans la sécurité alimentaire nationale (**Baddou et al., 2021**). Pourtant, la production nationale reste insuffisante pour satisfaire les besoins de consommation, ce qui pousse le pays à importer des quantités croissantes de blé, au cours de ces années.

Plusieurs facteurs freinent la productivité de cette culture stratégique. Les conditions climatiques, marquées par des précipitations irrégulières et des périodes de sécheresse prolongées, constituent l'une des principales contraintes. Le stress hydrique, en particulier en fin de cycle, nuit gravement au rendement. À cela s'ajoutent des stress biotiques, tels que les maladies fongiques – notamment les rouilles (*Puccinia spp.*) et la septoriose (*Zymoseptoria tritici*) qui causent des dégâts considérables sur le feuillage et affectent directement la physiologie des plantes (**Royo et Villegas Benseghir, 2014. Guedmime et Hassani, 2016**), des maladies bactérienne et virale.

Ces contraintes sont aggravées par d'autres facteurs structurels : dépendance à la pluie, faiblesse de l'irrigation, infrastructures agricoles limitées, et recours insuffisant à des variétés adaptées (Kabbaj et al., 2017 ; Adel, 2017).

L'amélioration génétique constitue un levier essentiel pour accroître les performances du blé dur en Algérie. Une des étapes clés dans tout programme d'amélioration repose sur la caractérisation moléculaire, qui permet de mieux comprendre la diversité génétique disponible et de cibler les génotypes les plus prometteurs. Les marqueurs moléculaires, en particulier les SSR (Simple Sequence Repeats), se distinguent par leur capacité à détecter avec précision les variations génétiques, grâce à leur codominance, leur haut niveau de polymorphisme et leur bonne répartition sur l'ensemble du génome (Maccaferri et al., 2015 ; Tadesse et al., 2019).

Notre étude a pour objectif d'évaluer la diversité génétique de différents génotypes de blé dur nouvellement créés en Algérie à l'aide de marqueurs SSR. Cette démarche vise à faciliter la sélection de variétés résistantes aux conditions climatiques défavorables et aux maladies, contribuant ainsi à l'amélioration de la production céréalière dans la région.

Notre mémoire s'articule en trois chapitres :



# Introduction

---

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

Chapitre II : Il détaille les principales méthodologies utilisées pour l'étude de la diversité moléculaire du blé dur. Il décrit le matériel végétal utilisé ainsi que la démarche expérimentale mise en œuvre pour l'analyse et la caractérisation des variétés étudiées.

Chapitre III : Ce dernier chapitre présente les résultats obtenus. Ceux-ci sont interprétés et discutés au regard des objectifs de l'étude.

# **Chapitre I : Revue bibliographique**

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

## Chapitre I : Revue bibliographique

### I. Présentation du blé dur :

#### I.1 Blé dur :

Le blé dur est exclusivement destiné à l'alimentation humaine. C'est la céréale de base de l'Afrique du Nord et du proche et moyen Orient. **(Figure 01)** Les céréales présentent l'avantage important de constituer des provisions pouvant se conserver sous formes de grains de grande valeur nutritionnelle et constituées par des substances amylacées d'environ 10% de protéines. Elles sont de transformation aisée et variée par cuisson **(Houairi, 2019)**

#### I.1.2 Classification du blé dur :

Le blé dur (*Triticum durum*) est une plante de la classe de Monocotylédones de la famille des Graminées, c'est-à-dire à un groupe de végétaux dont le nom, étymologiquement, signifie "producteur de grains".

A cette définition assez vague, les botanistes préfèrent le terme plus précis de Poacées, par référence à un genre très commun dans la nature **(Zegrargi, 2014)**, le blé dur est une monocotylédone classée de la manière suivante:

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Ordre : Poales

Famille : Poacea

Genre : Triticum

Espèce : *Triticum durum* Desf

# Chapitre I : Revue bibliographique

---



**Figure01 : Blé dur (Triticum durum Desf) (ARVALIS institut du végétale. 2024)**

## **I.2 Importance du blé dur en Algérie :**

L'Algérie affiche une forte autosuffisance en matière de production de blé dur, avec une couverture estimée entre 90 et 95 % des besoins nationaux, selon les propos du Ministre de l'agriculture, La production annuelle s'élève à 41 millions de quintaux, dont une part significative (environ 65 %) est utilisée pour fabriquer des pâtes alimentaires, un aliment de base dans le régime alimentaire des Algériens. Cette réussite dans la production de blé dur joue un rôle clé dans la sécurité alimentaire du pays et réduit considérablement la dépendance aux importations. Par ailleurs, le secteur céréalier ambitionne de couvrir au moins 50 % des besoins globaux en céréales, tandis que la production d'orge est également décrite comme « très abondante. (Algérie Presse Service, .2023)

### **I.2.1. La production du blé dur en Algérie :**

Selon le Ministère de l'Agriculture et du Développement rural de l'Algérie, et en s'appuyant sur les données issues de la carte étudiée présente la répartition spatiale de la production de blé dur en Algérie sur une moyenne triennale couvrant les années 2017 à 2019.

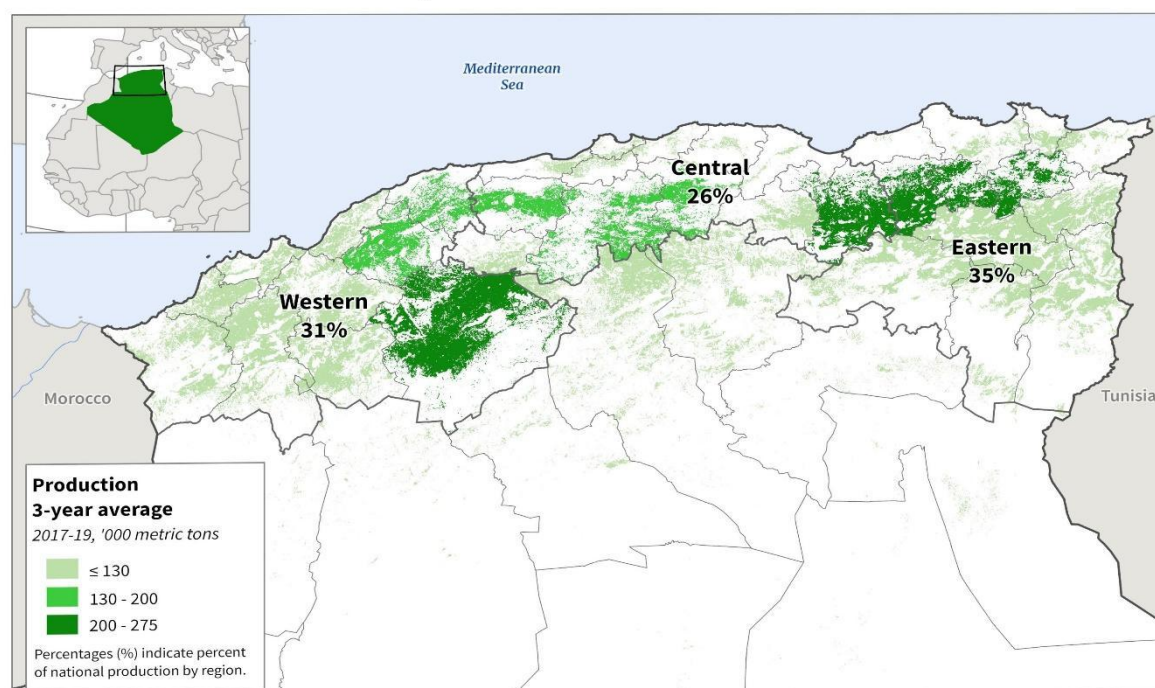
L'analyse des résultats met en évidence une forte concentration de la production céréalière dans le nord du pays, ce qui s'explique principalement par des conditions climatiques modérées et des sols fertiles favorables à la culture du blé. La production nationale est répartie entre trois grandes régions : l'Est, qui représente 35 % de la production totale, l'Ouest avec 31 %, et enfin le Centre avec 26 %.(Figure 02)

Par ailleurs, les zones en vert foncé sur la carte correspondent aux régions les plus productives, avec des rendements estimés entre 200 000 et 275 000 tonnes. En revanche, le sud algérien, caractérisé par un climat désertique et des ressources hydriques limitées, reste marginal dans la production de blé dur en Algérie

# Chapitre I : Revue bibliographique

Ainsi, cette cartographie confirme que la variabilité de la production céréalière en Algérie est étroitement liée aux facteurs climatiques et édaphiques, montrant l'importance stratégique du nord pour la sécurité alimentaire du pays.

## Algeria: Wheat Production



**Figure 02 : Production du blé en Algérie (Ministre de l’agriculture et de développement rural en Algérie ; 2024)**

Selon les données fournies par United States Department Agriculture, la production de blé en Algérie a connu des variations au cours des campagnes agricoles récentes. En 2020/2021, la production s'élevait à 3 107 milliers de tonnes, avant de diminuer à 2 500 milliers de tonnes en 2021/2022. Toutefois, une hausse a été enregistrée en 2022/2023 avec une production atteignant 3 300 milliers de tonnes (**Tableau 01**). Concernant la consommation, elle est restée relativement stable, passant de 11 050 milliers de tonnes en 2020/2021 à 11 100 milliers de tonnes en 2021/2022, puis à 11 150 milliers de tonnes en 2022/2023. En parallèle, les importations de blé ont augmenté, passant de 7 600 milliers de tonnes en 2020/2021 à 8 100 milliers de tonnes en 2021/2022, pour atteindre 8 300 milliers de tonnes en 2022/2023. Ces chiffres montrent une forte dépendance de l'Algérie aux importations pour satisfaire ses besoins en blé.

**Tableau 01 : Production, consommation et importation de blé dur en Algérie (1000 Tons en2020-2023) (USDA, 2022)**

	2020/2021	2021/2022	2022/2023
--	-----------	-----------	-----------

# Chapitre I : Revue bibliographique

Production	3107	2500	3300
Consommation	11050	11100	11150
Importation	7600	8100	8300

## II La problématique liée à la production de blé dur en Algérie :

L'article de Tout Sur Algérie intitulé L'autosuffisance de l'Algérie en blé dur sous la loupe des États-Unis met en lumière plusieurs obstacles majeurs qui freinent la production de blé dur en Algérie :

### II.1. Effet de la nature de l'environnement sur la culture du blé dur :

II.1.1 Dépendance aux précipitations : la culture du blé dur en Algérie repose principalement sur les pluies, ce qui rend les rendements très sensibles aux aléas climatiques. Par exemple, les régions de l'ouest du pays ont connu des niveaux de précipitations inférieurs à la moyenne, entraînant une baisse significative de la production.

II.1.2 Conditions pédoclimatiques difficiles : Les températures relativement élevées en Algérie ne sont pas optimales pour la culture du blé panifiable, restreignant ainsi les zones géographiques adaptées à la production du blé dur.

II.1.3 Faible développement de l'irrigation : Bien que les rendements dans le sud du pays surpassent la moyenne nationale, cette région contribue à moins de 10 % de la production agricole totale, en raison d'une irrigation insuffisamment développée et d'une faible exploitation des terres arables.

II.1.4. Sécheresse : Malgré quelques précipitations récentes, certaines zones, notamment à l'ouest, demeurent confrontées à des épisodes de sécheresse persistante. Cela affecte directement l'humidité des sols et compromet la croissance du blé dur.

Ces défis soulignent l'urgence pour l'Algérie de renforcer ses infrastructures d'irrigation, d'adapter ses techniques agricoles aux spécificités locales et d'élargir les zones cultivables pour atteindre son objectif d'autosuffisance en blé dur.

Le manque d'eau, déficit hydrique ou la sécheresse 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 (**Chennafi et al, 2006**).

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

## II.2. Les types de stress lié à la culture de blé dur :

### II.2.1 Stress biotique chez le blé dur :

Le stress biotique, par contre, est dû aux attaques vivantes qui le conduisent à la maladie des plantes. Ils proviennent de différentes sources, principalement des pathogènes et ravageurs. Les principales sortes de stress biotiques qui frappent le blé dur sont : Les maladies fongiques, bactérienne, virale (INRA ,2021)

#### II.2.1.1 Les principales maladies du blé dur en Algérie :

La production de blé dur en Algérie est particulièrement sensible à diverses maladies causées par des champignons, ce qui représente un véritable frein à la productivité. Ces maladies, souvent favorisées par des pratiques agricoles traditionnelles et un climat capricieux, demandent une action plus forte dans les zones céréalières du pays.

##### 1. Rouille brune (*Puccinia triticina*) :

La rouille brune est très présente dans les régions céréalières du nord de l'Algérie. Elle se reconnaît à ses pustules orangées sur les feuilles (**Figure 03**), qui réduisent fortement la photosynthèse, avec un impact direct sur le rendement. Cette maladie est surtout virulente par temps modérément chaud et humide, surtout au printemps (Bayer Crop Science Algérie, 2023).



**Figure 03 : Rouille brune du blé dur (Adama., 2024)**

##### 2. Fusariose (*Fusarium spp.*) :



# Chapitre I : Revue bibliographique

La fusariose est l'une des principales menaces pour la culture du blé dur algérien. Elle peut toucher divers organes de la plante, causant des pourritures racinaires, des échaudages des épis, et parfois une contamination des grains par des mycotoxines (**Figure 04**)

Les espèces les plus souvent répertoriées dans les régions céréalières algériennes sont *F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. chlamydosporum* (Agrichem Algérie, 2021). Ces champignons se développent bien dans des sols humides et en l'absence de rotation des cultures (**Guedmime et Hassani, 2016**).



**Figure 04 : Fusariose de blé (Julie Guichon,.2023)**

### 3. Oïdium (*Blumeria graminis f. sp. tritici*) :

L'oïdium du blé se manifeste par une sorte de feutrage blanc qui recouvre les feuilles et empêche la plante de bien faire sa photosynthèse (**Figure 05**). Cette maladie est souvent observée dans les régions où alternent sécheresse et humidité, et où la fertilisation azotée est trop importante (Agrichem Algérie, 2021).

**Figure 05 : Oïdium de blé (Triple performance, 2025)**



### 4. Septoriose (*Zymoseptoria tritici*) :



# Chapitre I : Revue bibliographique

Une maladie foliaire très courante dans les zones céréalières à climat tempéré. Elle se manifeste par l'apparition de taches brun-nécrotiques sur les feuilles (**Figure 06**), associées à des pycnides noirs caractéristiques. Elle affecte considérablement les rendements, surtout dans les systèmes de culture sans labour avec des semis à forte densité (**Benseghir, 2013**).



**Figure 06 : Septoriose de blé(les semences au cœur de la vie, 2020)**

## 5. Les maladies bactériennes :

Bien qu'elles soient moins fréquentes que les infections fongiques, peuvent aussi affecter le blé dur, en particulier sous des conditions chaudes et humides. Des pathogènes comme ceux causant la pourriture molle ou le flétrissement bactérien peuvent compromettre la santé des racines et des tiges (**INRAE, 2021**).

### II.2.2 Le stress abiotique chez le blé dur :

Stress abiotique inclut les aspects non vivants qui sont présents de l'impact de la charge des plantes. Pour le cas du blé dur (*Triticum durum*), les stress peuvent faire du travail en modification de son croissance, son production et qualités de grains. Les éléments majeurs suivants sont des stress abiotiques :

Le stress hydrique, salin, oxydatif, thermique, lumineux, nutritionnel, oxydatif

**Stress salin** : engendré par le dépôt de sels dans les sols, empêche la plante d'ingérer efficacement l'eau. Le phénomène engendre des déséquilibres physiologiques qui déterminent les croissances des racines et les productions des graines. Le stress est particulièrement préoccupant en zones irriguées où l'eau est de mauvaise qualité (Ben Hebirech et Djafour, 2011).

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

**Stress thermique** : attribuable à des températures extrêmes (chaleur excessive ou gel), trouble les processus enzymatiques des cellules végétales. Quand les températures sont trop élevées, la fertilité des épis est affectée et la plante peut se trouver en difficulté pour se développer normalement (Haichour, 2009).

**Le stress lumineux** : est dû à une lumière excessive ou insuffisante, ce qui trouble le processus de photosynthèse et ralentit la croissance de la plante.

**Stress nutritionnel** : est causée par une carence ou un excès de certains composants minéraux tels que l'azote, le potassium ou le phosphore. Ces déséquilibres servent à limiter la croissance des racines et la qualité du grain.

**Le stress oxydatif** : est visible lorsque la plante est dégradée par des radicaux libres, souvent à la suite d'une synergie de facteurs abiotiques, qui endommagent les cellules et réduise

**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 d'eau du sol accessible par son système racinaire (**Laberche, 2004**). La demande en eau de la plante est quant à elle déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration, ce qui inclut les pertes d'eau tant au niveau des feuilles qu'au niveau du sol.

Les tensions causées par le manque d'eau représentent une menace persistante pour la survie des plantes. L'ampleur de cet impact dépend de plusieurs facteurs, notamment l'intensité et la durée du stress hydrique, le stade de développement de la plante, son génotype ainsi que ses interactions avec l'environnement (**Amoumen et Benhebireche., 2013**)

Tous les processus végétaux, qu'il s'agisse du métabolisme ou de la morphogenèse (processus de différenciation et de croissance à l'origine de la formation des organes matures), sont affectés par un déficit hydrique

Lorsque la disponibilité en eau diminue, cela perturbe le métabolisme ainsi que les fonctions physiologiques essentielles qui contrôlent la croissance et le développement des plantes. Ces déséquilibres se traduisent inévitablement par une baisse du rendement, de ses composantes, et de la qualité globale des cultures. Le stress hydrique altère également divers processus biochimiques cruciaux au fonctionnement des plantes, tels que le potentiel foliaire, la résistance stomatique, la transpiration et la photosynthèse nette. Un indicateur couramment utilisé pour détecter le début du stress hydrique est le seuil critique du potentiel foliaire, qui marque l'augmentation de la résistance stomatique. En outre, ce type de stress influence les caractéristiques physiques des plantes, comme le diamètre des tiges, la température de surface des feuilles et la structure du

# Chapitre I : Revue bibliographique

couvert végétal. Par exemple, chez les céréales, il peut provoquer des variations journalières de la surface foliaire en modifiant la position des feuilles, telles que leur enroulement (Hamadi et rebai., 2024)

## III. Programme d'amélioration de blé dur en Algérie :

En Algérie, les programmes d'amélioration du blé dur visent à répondre aux défis posés par les changements climatiques et la variabilité des rendements en milieu semi-aride. Ces efforts se concentrent sur l'amélioration de la tolérance au stress hydrique, la résistance aux maladies et l'optimisation du potentiel agronomique. La recherche nationale met l'accent sur l'exploitation de la diversité génétique existante à travers des approches intégrées combinant sélection traditionnelle et outils moléculaires modernes (Touati et al., 2024).

### III.1 Importance de la caractérisation moléculaire par l'utilisation des marqueurs moléculaires :

L'amélioration génétique du blé dur (*Triticum Durum*) repose sur la caractérisation précise de la diversité génétique existante. L'utilisation des marqueurs moléculaires est une approche clé qui permet de mieux comprendre la variabilité génétique, d'identifier les gènes d'intérêt et de faciliter la sélection des variétés les plus performantes, notamment en réponse aux contraintes abiotiques et biotiques (Kabbaj et al., 2017).

#### III.1.1 Pourquoi la caractérisation moléculaire est essentielle ?

La caractérisation moléculaire à l'aide des marqueurs génétiques joue un rôle fondamental dans les programmes d'amélioration variétale. Parmi ses applications principales :

##### 1. L'évaluation de la diversité génétique :

L'analyse de la variabilité génétique est primordiale pour comprendre l'adaptabilité des variétés et sélectionner les lignées les plus résistantes aux conditions climatiques extrêmes

(El-Basyoni et al., 2017).

##### 2. La sélection assistée par marqueurs (MAS) :

Grâce aux marqueurs moléculaires, les sélectionneurs peuvent cibler des gènes spécifiques liés à des traits d'intérêt, ce qui accélère le processus de sélection et améliore l'efficacité de l'amélioration variétale (Tadesse et al., 2019).

##### 3. Identification et conservation des ressources génétiques :

L'analyse moléculaire permet de préserver et d'utiliser efficacement la diversité génétique des variétés locales et des lignées sauvages du blé dur (Royo, et Villegas, 2014).

##### 4. Création de nouvelles variétés avec des caractères agronomiques améliorés :

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

L'intégration de la sélection assistée par marqueurs dans les programmes de sélection a permis le développement de nouvelles variétés de blé dur présentant une productivité accrue et une meilleure adaptation aux conditions climatiques changeantes (Zaïm et *al.*, 2020).

## 5. Cartographie génétique et détection des QTLs liés à la tolérance au stress :

La cartographie génétique est une approche essentielle pour identifier les loci de caractères quantitatifs (QTLs) associés à la tolérance au stress hydrique chez le blé dur. Elle permet de localiser des régions génomiques impliquées dans des caractères adaptatifs, tels que l'indice de rendement sous stress ou l'indice de tolérance, ce qui facilite leur intégration dans les programmes de sélection assistée par marqueurs (Abou-Elwafa et Shehzad, 2022).

### III.2 La tolérance au stress hydrique :

L'identification d'allèles conférant une résistance au stress hydrique est essentielle pour développer des variétés de blé dur adaptées aux environnements arides et semi-arides. Des études ont mis en évidence des régions génomiques associées à la productivité en eau, offrant des perspectives pour l'amélioration de la tolérance à la sécheresse (Blanco et *al.*, 2023).

#### III.2.1 Les maladies :

Les maladies fongiques, notamment la rouille et la fusariose, représentent des défis majeurs pour la production de blé dur en Algérie. Ces pathologies peuvent réduire les rendements et altérer la qualité des grains. La sélection de variétés résistantes, soutenue par l'utilisation de marqueurs moléculaires pour détecter les gènes de résistance, est essentielle pour lutter efficacement contre ces maladies et améliorer la productivité. (Abdellaoui, et Hachimi, A. 2016).

### III.3 Les marqueurs moléculaires les plus utilisés pour le blé dur :

#### III.3.1 Qu'est-ce qu'un marqueur moléculaire :

Un marqueur moléculaire est un fragment spécifique d'ADN, facilement détectable et transmissible, qui permet de localiser ou d'identifier un locus génétique particulier dans le génome. Ces marqueurs sont utilisés pour étudier la diversité génétique, cartographier des gènes d'intérêt, ou encore pour la sélection assistée par marqueurs en amélioration des plantes. (Varshney, 2005)

#### III.3.2 Types de marqueurs moléculaires :

De nombreuses techniques de marquage moléculaire sont aujourd'hui disponibles, et de nouvelles continuent d'être développées régulièrement. Ces méthodes se regroupent principalement en deux grandes catégories : les marqueurs de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et ceux basés sur la PCR

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

(Polymerase Chain Reaction). Le choix du système de marquage dépend de l'objectif visé, des moyens techniques et des compétences disponibles au sein du laboratoire (Reddy *et al.*, 2021).

Parmi les marqueurs moléculaires basés sur la PCR, les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeats) sont largement utilisés dans les études de diversité génétique des plantes, l'analyse du déséquilibre de liaison, la construction de cartes génétiques et les programmes de sélection assistée par marqueurs. Leur popularité s'explique par leur reproductibilité, leur haut niveau de polymorphisme et leur fort pouvoir discriminant. Ces caractéristiques permettent une évaluation précise de la diversité intra- et inter-populationnelle, ainsi qu'un typage moléculaire rapide et sans ambiguïté. De plus, les SSR présentent un degré élevé de polymorphisme et une forte hétérozygotie, ce qui en fait des marqueurs de choix pour les études génétiques (Hu *et al.*, 2024).

Les microsatellites répondent à la définition typique d'un bon marqueur puisqu'ils sont codominants, multialléliques, en nombre illimité, et remarquablement abondants dans les génomes des Eucaryotes, transférables et très polymorphes. En raison de leur niveau élevé de polymorphisme, Ils constituent un outil très puissant dans la détermination de la parenté et l'évaluation de la variabilité Intra et inter-population. Ils sont considérés comme l'un des systèmes de marqueur les plus connus (Toth, et Jurka., 2000)

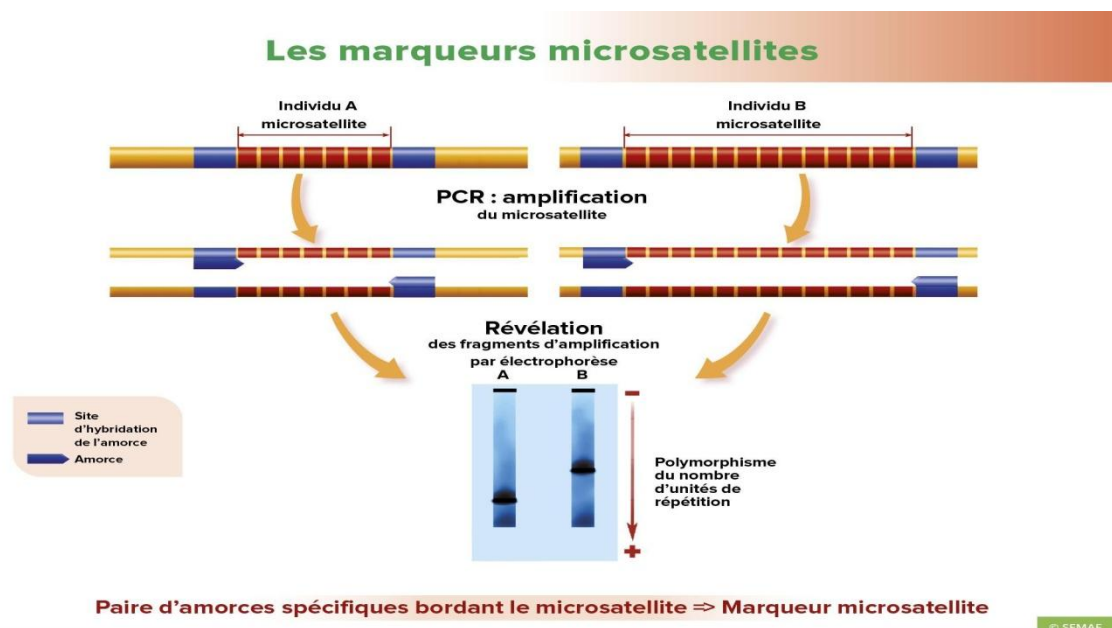
## III.3.2.1 Marqueur de type SSRs (Simple Sequence Repeats) ou Microsatellites :

Le terme microsatellite a été inventé par Litt et Luty (1989), également appelé Séquences simples répétées (SSR). Ce sont des éléments d'ADN qui se répètent plusieurs fois A 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 .Les microsatellites présentent un taux de polymorphisme élevé, qui repose sur la Variation du nombre d'unités de répétition constituant ces derniers

Les polymorphismes sont identifiés en construisant des amorces PCR dans la région Adjacente de la région microsatellite. 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 (**Figure07**). Ces marqueurs ont été utilisés pour des études de la diversité génétique de nombreux agents phytopathogènes. Ainsi que dans l'élaboration des cartes génétiques des plantes. 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. (Boumana, 2017)

# Chapitre I : Revue bibliographique



**Figure 07 : Polymorphisme de nombre d'unités de répétition (SSR) (Anonyme,2010).**

## III.4 Quelques travaux de Caractérisation moléculaire de variétés de blé dur (*Triticum durum*) par l'utilisation des microsatellites :

### 1/ Utilisation des marqueurs SSR pour l'étude de la diversité génétique du blé dur :

Plusieurs études ont été menées pour évaluer la diversité génétique du blé dur (*Triticum durum* Desf.) à l'aide de marqueurs microsatellites (SSR), qui sont largement utilisés pour leur haut pouvoir de polymorphisme et leur reproductibilité. **Asmamaw et al. (2019)** ont analysé un ensemble de génotypes éthiopiens de blé dur à l'aide de 14 marqueurs SSR répartis sur l'ensemble du génome. Leur étude a révélé une diversité génétique significative parmi les génotypes, avec une moyenne de 4 allèles par locus et une valeur moyenne de polymorphisme (PIC) de 0,50, indiquant une variabilité génétique substantielle au sein des accessions étudiées. Ces résultats soulignent l'importance de la diversité génétique présente dans les variétés locales éthiopiennes, offrant un potentiel précieux pour les programmes de sélection visant à améliorer les caractéristiques agronomiques du blé dur.

De leur côté, **Dreisigacker et al. (2004)** ont utilisé 99 marqueurs SSR pour analyser la diversité de 68 lignées avancées de blé dur issues du programme du CIMMYT. Ils ont identifié une diversité génétique significative, avec une moyenne de 4,5 allèles par locus. Cette étude a confirmé que les SSR sont des outils puissants pour caractériser les collections de ressources génétiques et pour identifier les génotypes les plus prometteurs à des fins de sélection.

Par ailleurs, **Mazzucotelli et al. (2020)** ont examiné la diversité génétique d'un ensemble de génotypes de blé dur européens à l'aide de marqueurs SSR, en mettant l'accent sur la structure génétique des variétés locales et

# Chapitre I : Revue bibliographique

---

modernes. Leur analyse a mis en évidence une différenciation claire entre les groupes géographiques, ce qui souligne l'importance de la diversité régionale dans les stratégies de conservation et d'amélioration variétale.

Ces études illustrent l'importance des marqueurs SSR comme outils fiables pour la caractérisation génétique et la sélection de variétés de blé dur, contribuant ainsi à l'amélioration durable des ressources génétiques agricoles.

## 2/ Utilisation des marqueurs SSR pour l'évaluation de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur :

Plusieurs recherches ont mis en évidence l'efficacité des marqueurs SSR dans l'identification de géotypes de blé dur tolérants à la sécheresse. **Yildirim et al. (2011)** a évalué la diversité génétique de 20 variétés locales de blé dur collectées dans différentes régions de Turquie. L'analyse a utilisé 12 marqueurs microsatellites (SSR) hautement polymorphes pour caractériser la diversité génétique. Le nombre d'allèles polymorphes par locus variait de 4 à 9, avec les loci Wms18, Wms155, Xgwm166 et Stm578 présentant la plus grande diversité. Cette approche a permis de différencier efficacement les géotypes étudiés, fournissant des informations précieuses pour les programmes de sélection et de conservation du blé dur en Turquie

**Rehman et al. (2020)** ont analysé la tolérance à la sécheresse chez le blé dur en utilisant une carte génétique basée sur 265 marqueurs SSR et en évaluant la performance des lignées recombinantes sous conditions de stress hydrique. Leur étude a mis en évidence plusieurs QTLs liés à des traits de rendement sous sécheresse, notamment sur les chromosomes 2A et 7B, confirmant l'efficacité des marqueurs SSR pour la sélection assistée et l'amélioration des variétés adaptées aux environnements arides.

Ces études illustrent l'importance des marqueurs SSR comme outils fiables pour la caractérisation génétique et la sélection de variétés de blé dur adaptées aux conditions de stress hydrique, contribuant ainsi à l'amélioration de la résilience des cultures face aux défis climatiques.

**El-Hendawy et al. (2017)** ont utilisé des marqueurs SSR pour analyser la variabilité génétique de différentes lignées de blé dur. Leur étude a permis d'identifier certains marqueurs fortement liés à des traits de tolérance à la sécheresse, tels que la profondeur racinaire et la résistance au stress, facilitant ainsi la sélection de géotypes résistants.

De son côté, **Maccaferri et al. (2014)** ont adopté une approche de cartographie par association à l'échelle du génome pour repérer les régions génétiques impliquées dans la tolérance au stress hydrique. En utilisant un panel de géotypes de blé dur et des marqueurs SSR et SNP, ils ont identifié plusieurs QTL (loci quantitatifs) associés à des traits clés comme la biomasse et la conductivité électrique. Ces résultats offrent des outils précieux pour la sélection assistée par marqueurs dans les programmes de développement de variétés résistantes.

## Chapitre I : Revue bibliographique

---

Par ailleurs, **Ragab et al. (2018)** ont concentré leurs travaux sur la caractérisation moléculaire et l'association entre marqueurs SSR et traits phénotypiques de tolérance à la sécheresse. Leur étude a permis d'identifier plusieurs marqueurs SSR significativement liés à la résistance au stress hydrique, ce qui constitue une étape importante pour accélérer la sélection génétique. Enfin, **Bousslama et al. (2004)** ont analysé la base génétique de la tolérance à la sécheresse en combinant l'analyse de la diversité génétique avec des tests de performance sous stress hydrique, mettant en évidence des marqueurs SSR potentiellement utiles pour la sélection.

Ces travaux illustrent l'intérêt croissant de l'utilisation de la génétique moléculaire pour améliorer la tolérance au stress hydrique chez le blé dur, en permettant une sélection plus précise et efficace des génotypes résistan



## **Chapitre II : Matériel et méthode**

## Chapitre II : Matériel et méthode

### I.1 Matériel végétale :

Le matériel végétal étudié est composé de trois variétés de blé dur (*Triticum durum Desf.*) (**Tableau 2**). Elles nous ont été fournies de manière très généreuse par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) (station El Khroub de Constantine).

**Tableau 02 : L'origine de variétés étudiées de blé dur**

Nom de la variété	Origine
Beni Mestina	CIMMYT
Ouled Mostafa	ICARDA (Syrie)
Ain Lahma	ICARDA (Syrie)

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

La germination a été commencée dans le laboratoire de biologie moléculaire -Chaab Ressas Université Constantine 1 Frères Mentouri et la partie moléculaire on a la continué au laboratoire de l'électrophorèse au CRBT (Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine)

### I.3 La germination des graines en mise de culture :

Les graines des trois génotypes ont été stérilisées et désinfectées dans une solution d'eau de javel pendant 15 minutes, suivie de plusieurs lavages à l'eau distillée. Elles ont ensuite été placées pour germer sur du papier absorbant disposé dans des récipients en plastique, lesquels ont été mis à l'obscurité dans une chambre de culture maintenue à une température de 25°C. Après la germination, les plantules ont été transplantées dans des pots en plastique remplis de terreau, avec dix graines par pot. Les plantes ont été arrosées au besoin avec de l'eau tout au long de l'expérience, depuis le début de la germination jusqu'à atteindre le stade de trois feuilles.

### I.4 Extraction de l'ADN :

Au bout de 21 jours de culture (stade de trois feuilles), la troisième feuille de chaque variété, a été prélevé à l'aide d'un ciseau stérilisé, environ 150 mg ont été broyés dans un mortier avec l'azote liquide (manipuler Avec les gants) puis transférer le broyat dans un tube à vis (mettez les tube dans l'azote liquide, bien fermer les tubes), puis stockées à -80°C en attendant leur utilisation ultérieure. (**Annexe 01**)

Préchauffer le tampon CTAB 2X dans un bain marie à 65°C pendant 1h. Ensuite, Ajouter 700 µl de tampon CTAB 2X préchauffé à 65°C et Homogénéiser au vortex puis Incuber 60 min dans un bain marie à 65°C avec agitation. Centrifuger 15min a 10000 rpm à 4°C et récupérer Environ 600 µl de surnageant dans un

## Chapitre II : Matériel et méthode

nouveau tube Eppendorf de 2ml. Ajouter 700 µl (1vol) de chloroforme/Alcool isoamylique (24 :1).On laisse en agitation dans la roue pendant 45 min à vitesse lente (100 à 150rpm)

Centrifuger 15 min à 10000 rpm à 4°C et récupérer la phase aqueuse supérieure l'aide de micropipette P1000 et la mettre dans un nouveau tube Eppendorf de 2 ml puis ajouter 700 µl (1vol) de chloroforme/Alcool Iso amylique (24 :1).Agiter pendant 10 min manuellement. Après centrifuger 10min a 10000rpm a 4°C et ajouter 600 µl (2/3vol) d'isopropanol froid (-20°C).Stocker l'ADN pendant une nuit à (-20°C)

Centrifuge à 15min à 10000rpm à 4°C et inverser les tubes doucement jusqu'à l'apparition d'une pelote blanche puis laisser précipiter a -20°C pendant 20 min. Puis Ajouter 1000 µl de solution de lavage. On laisse en agitation dans la roue pendant 30 min. Centrifuger pendant 7 min à 8000 rpm à 4 °C. Ensuite éliminer le surnageant et sécher l'ADN a l'air libre pendant 2h.suspendre le culot d'ADN dans 100 µl de TE X1. Incuber pendant 15min à 65%. Ajouter 1 µlRNase (10mg/ml). Incuber pendant 30min à 37°C

### **I.5 Évaluation de la qualité et de quantité d'ADN extraite :**

#### **I.5.1 Dosage de l'ADN génomique :**

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

### **I.6 Analyse moléculaire par les marqueurs SSRs :**

#### **I.6.1 Amplification par la technique PCR :**

Le développement de la technique PCR présente l'avantage de permettre l'analyse des marqueurs moléculaires en un temps réduit, tout en nécessitant de faibles concentrations d'ADN.

#### **I.6.2 Les amorces SSR utilisées :**

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

Les noms des huit marqueurs SSR utilisé dans cette étude ainsi que leurs séquences et leurs températures, sont répertoriées dans le tableau (**Tableau 03**)

### **I.7 Mélange réactionnelle :**

La réaction d'amplification par PCR sont réalisées dans un volume réactionnel de 25 µl appelé MIX, chaque mix contient : contenant 10-50 ng d'ADN génomique, 0.2 mM dNTPs, 0.25 µM d'amorces et 1 unité de Taq polymérase et son tampon concentré une fois, contenant 1,5 mM MgCl2 (**Tableau 04**)

## Chapitre II : Matériel et méthode

**Tableau 04 : Mélange réactionnelles**

Le mix	Pour 1 réaction	Pour 4 réactions
Ampli taq polymérase	0,25 µl	1 µl
Tampon	2,5 µl	10 µl
DNTP	0,5 µl	1,25 µl
Mgcl	1 ,5 µl	6µl
Amorce	1,25 µl	5 µl
H2OH up	17 µl	68 µl

**Tableau 03 : Noms de marqueurs SSR, leurs séquences et leurs températures.**

Marqueur	Séquence	Emplacement dans le chromosome	T °C
WMC 44 F	5'-GGTCTTCTGGGCTTTGATCCTG-3	1 B	61
WMC 44 R	5'-TGTTGCTAGGGACCCGTAGTGG-3'		
WMC 161 F	5'-ACCTTCTTTGGGATGGAAGTAA-3'	4 A	61
WMC 161 R	5'-GTACTGAACCACTTGTAACGCA-3		
GWM 493 F	5' TTCCCATAACTAAAACCGCG 3'	3 B	61
GWM 493 R	5'GGAACATCATTTCTGGACTTTG 3'		
GWM 533 F	5' AAGGCGAATCAAACGGAATA 3'	3 B	61

## Chapitre II : Matériel et méthode

GWM 533 R	5' GTTGCTTTAGGGGAAAAGCC 3'		
Barc 8 F	5'GCGGGAATCATGCATAGGAAAACAGAA 3'	1 B	61
Barc 8 R	5'GCGGGGGCGAAACATACACATAAAAACA 3'		
WMC 25 F	5'-TCTGGCCAGGATCAATATTACT-3'	2 A, 2 B	51
WMC 25 R	5'-TAAGATACATAGATCCAACACC-3		
WMS 6 F	5'-CGT ATC ACC TCC TAG CTA AAC TAG-3'	4 B	55
WMC 6 R	5'-AGC CTT ATC ATG ACC CTA CCTT-3		
PSP 2999 F	5'TCCCGCCATGAGTCAATC 3'	1A	55
PSP 2999 R	5'TTGGGAGACACATTGGCC 3'		

### I.8 Préparation des amorces :

Pour chaque amorce on a préparé un total de 100µl (10µl d'amorce+ 90µl H<sub>2</sub>O)

### I.9 Amplification par PCR :

Les plaques contenant le mélange réactionnelles (Mix) et l'ADN de chaque variété sont placées dans un thermocycleur (**Figure 09**), les réactions d'amplifications (PCR) ont été réalisées dans le thermocycleur (Veritti applied Biosystems). (**Programme détaillé dans l'Annexe 02**)

### I.10 Vérification de l'amplification par électrophorèse sur gel d'agarose de concentration 3 % :

La confirmation de l'amplification et la vérification de présence et absence de bande est révélées par électrophorèse sur gel d'agarose 3% dans une solution (10 ml tampon et 90ml du l'eau distillé TBE1X.) avec une solution de syber safe (12 µl).

On a déposé 12 µl de chaque produit de PCR tour à tour dans les puits du gel, et 4 µl de marqueur de taille 100 Pb (**Annexe 03**). Après une migration environ 1 h 30 à 250 V, la visualisation des fragments D'ADN amplifiés, les gels sont photographiés sous UV à l'aide d'une caméra numérique grâce à Gel Doc XR Biorad.

### I.10 Analyse de résultats :

La photographie de chaque gel PCR/SSR, est transférée vers le logiciel image lab version 5 (Biorad) pour le traitement. Les profils de chaque variété générés par différentes amorces, sont directement comparés entre eux par marquage ou sélection de leurs bandes respectives et de celles du marqueur moléculaire dont les tailles

## **Chapitre II : Matériel et méthode**

---

sont connues. La présence des fragments a été déterminée visuellement et introduite dans un tableau de données binaires 0/1 (présence de la bande représentée par 1/absence représenté par 0).

# **Chapitre III : Résultat et discussion**

## Chapitre III : Résultat et discussion

---

### I.11 Le pourcentage de bandes polymorphes (P) :

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

Est calculé selon la formule :

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

### I.1 Évaluation de la qualité de la quantité de l'ADN extrait :

Les données du (**Tableau5**) illustrent la concentration, la quantité et la pureté de l'ADN extrait pour trois échantillons (Beni Mestina, Ouled Mostafa, Ain Lahma). Les concentrations en acide nucléique sont élevées, allant de 546.8 µg/µl (Beni Mestina) à 410,7 µg/µl (Ouled Mostafa) à 557,7 µg/µl (Ain Lahma), avec des quantités d'ADN correspondantes comprises entre 8,214 µg et 11,15 µg. Les ratios 260/280, qui reflètent la pureté de l'ADN vis-à-vis des protéines, sont proches de la valeur idéale de 2,0 pour Beni Mestina (1,97) et Ouled Mostafa (1,94), indiquant une excellente qualité d'extraction. Pour Ain Lahma (1,83), le ratio reste dans une plage acceptable selon plusieurs normes de laboratoire, notamment pour des échantillons complexes ou des méthodes d'extraction spécifiques. Les ratios 260/230, associés à la pureté vis-à-vis des sels ou des glucides, sont tous supérieurs à 1,7 confirmant l'absence de contamination significative par ces composés et la pureté de notre ADN

Ces résultats démontrent que les protocoles d'extraction utilisés ont permis d'obtenir des quantités suffisantes d'ADN de haute qualité, adaptées à des analyses moléculaires exigeantes comme la PCR ou le séquençage. Par exemple, la concentration élevée chez Beni Mestina (546,8 µg/µl) est idéale pour des réactions d'amplification robustes, tandis que les volumes d'élution (Volume H<sub>2</sub>O) ajustés entre 94 et 96 µl optimisent la concentration finale sans dilution excessive.

Une évaluation précise de la concentration en acide nucléique constitue une étape primordiale pour assurer la fiabilité des résultats obtenus lors des analyses moléculaires telles que la PCR, le séquençage ou l'analyse enzymatique. Le respect strict des normes de qualité est indispensable afin de minimiser les risques de contamination et d'erreurs expérimentales. Ainsi, une manipulation soigneuse des échantillons et l'application de protocoles d'extraction d'ADN adaptés sont essentielles pour obtenir un acide nucléique de qualité optimale. Par ailleurs, il est important de souligner que la concentration en acide nucléique peut fluctuer selon la nature des échantillons et les procédés d'extraction employés, ce qui doit être pris en considération lors l'interprétation des données expérimentales (Green et Sambrook, 2020).

### I.2 Évaluation de la qualité des marqueurs étudiés :

Dans cette étude, huit amorces ont été testées sur les échantillons d'ADN génomique de trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostafa, Ain Lahma).



## Chapitre III : Résultat et discussion

Sept amorces retenues se sont avérées reproductibles, présentant des profils lisibles, une de ces amorces a été éliminée à cause de l'absence totale de l'amplification et des bandes obtenues qui sont mal déterminées.

**Tableau 05 : évaluation de la quantité et de la quantité d'ADN extrait**

V	Nuclei c Acid	Unit	Qté ADN	Volum e H2O	A260	A280	260/280	260/230
<b>Beni Mestina</b>	546.8	ng/μl	10.94	95	10.94	5.548	1.97	2.17
<b>Ouled Mostefa</b>	410.7	ng/μl	8.214	94	8.214	4.223	1.94	2.05
<b>Ain Lahma</b>	557.7	ng/μl	11.15	96	11.15	6.089	1.83	1.74

Le nombre total d'allèles révélés par les amorces est **11** allèles et **24** bandes ont été amplifiées. L'amorce WMC 44 a amplifié un allèle, tout comme WMC 161 et GWM 493 qui ont respectivement généré un allèle chacun. L'amorce GWM 533 a produit deux allèles, de même que Barc8, WMS 6 et PSP2999, chacune générant deux allèles. En moyenne, chaque amorce a donné 2,18 allèles. **(Tableau 06).**

Dans l'étude menée par Kara et *al.* (2020), ont utilisé 16 amorces SSR. Les amorces ont révélé un total de 77 allèles, avec une moyenne de 4,8 allèles par amorce.

Gezgin et *al.* (2014) ont utilisé 7 amorces SSR. Les amorces ont révélé un total de 23 allèles, avec une moyenne de 3,3 allèles par amorce.

L'étude de Kirouani et *al.* (2018), menée sur neuf amorces SSR appliquées à une collection de blé dur algérien, a permis d'identifier 39 allèles, avec une moyenne de 4,3 allèles par amorce.

Naggar et Anany (2020), ont utilisé 10 amorces SSR pour évaluer la diversité génétique chez 20 génotypes de blé égyptien. Les amorces ont détecté un total de 27 allèles, avec une moyenne de 2,7 allèles par amorce.

## Chapitre III : Résultat et discussion

---

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

La taille des bandes produites par les amorces entre 546.2 Pb et 100 Pb généré par l'amorce PSP2999 et WMS 6 respectivement.

En effet, plusieurs études ont montré une grande variation dans la taille des bandes produites par les amorces SSR utilisées pour étudier différentes accessions de blé. Par exemple, dans l'étude d'Elshafei et al. (2019), la taille des bandes obtenues varie entre 100 Pb et 350 Pb, tandis que dans l'étude de Al-Doss et al. (2009), la taille des bandes amplifiées oscille entre 120 Pb et 320 Pb. Ces variations peuvent être dues à des différences dans les amorces utilisées, les conditions de PCR, ou encore les différences génétiques entre les accessions étudiées.

### **I.3 Le pourcentage de bandes polymorphes (P) :**

On a enregistré un taux de polymorphisme de 16.66 % pour l'ensemble des amorces testées le taux de polymorphisme que nous avons obtenu (16.66 %) est plutôt faible, et cela peut s'expliquer par la nature des variétés que nous avons étudiées. En effet, les trois géotypes que nous avons analysés sont des variétés récentes, très proches sur le plan génétique, et sélectionnées pour des caractéristiques agronomiques similaires.

Cette homogénéité génétique limite naturellement la diversité que l'on peut détecter avec les marqueurs SSR, surtout ceux qui ciblent des régions qui sont conservées sous pression de sélection. Une étude menée par Midoun et Boualbani (2018) a révélé un faible taux de polymorphisme, évalué à 10 %, lors de l'analyse de la diversité génétique de 41 géotypes de blé dur (*Triticum durum Desf.*) à l'aide de marqueurs SSR. Ce faible niveau de polymorphisme a été attribué à l'étroite base génétique des variétés étudiées, conséquence d'une sélection intensive et prolongée. Ces résultats mettent en évidence les limites de la variabilité génétique disponible dans certaines collections, ce qui pourrait freiner les progrès réalisés dans les programmes d'amélioration génétique si de nouvelles sources de diversité ne sont pas intégrées.

Une autre étude menée par Kacem et al. (2017) a révélé un taux de polymorphisme de 21,74 % lors de l'analyse de la diversité génétique de 26 variété de blé dur (*Triticum durum Desf.*) obtenus sous conditions de stress osmotique, à l'aide de marqueurs SSR. Ce niveau de polymorphisme a été attribué à la variation induite par le stress, entraînant l'apparition de nouveaux allèles non présents chez les plantes mères.

## Chapitre III : Résultat et discussion

**Tableau 06 : Taille des allèles observés (Pb) de 3 primes microsatellites chez 3 variétés de Blé dur**

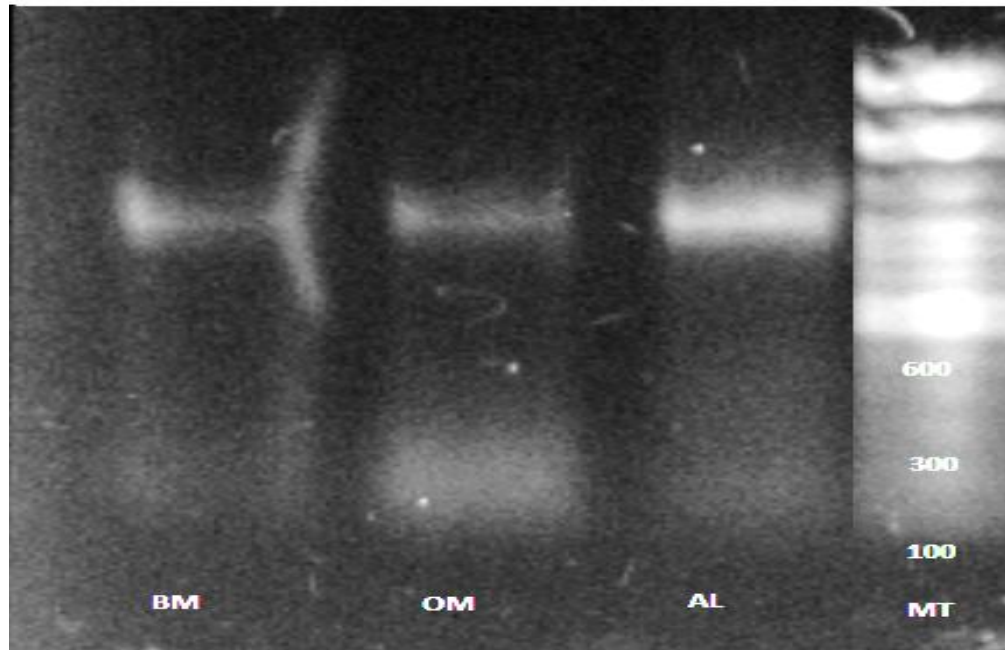
Amorces	1	2
WMC 44	152.3	
WMC 161	109.1	
GWM 493	123	
GWM 533	409.3	265.5
Barc 8	335.5	156.5
WMS 6	185.7	100
PSP 2999	546.2	235
Nombre total	11	
La moyenne des allèles /locus	2.18	
Nombre total des bandes générées	24	

### **I.4 Évaluation de la variation de présence et absence de bande chez les trois variétés :**

#### **I.4.1 Amorce WMC44 :**

L'amorce WMC44 a permis de détecter, chez la variété Ouled Mostefa, une bande spécifique d'une taille de 152,3 pb. En revanche, aucune amplification n'a été observée chez les variétés Ain Lahma et Beni Mestina (Tableau 07). Cette bande de 152,3 Pb peut ainsi être considérée comme un allèle spécifique à la variété Ouled Mostefa.(Figure 10)

## Chapitre III : Résultat et discussion



**Figure 8 : Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l'amorce WMC 44**

**Tableau 07 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été généré par l'amorce WMC 44**

Amorce	Variété	152.3 Pb
WMC 44	Beni Mestina	0
	Ouled Mostafa	1
	Ain Lahma	0

### I.4.2 Amorce WMC161 :

Pour l'amorce WMC161 (**Figure 11**) on a noté pour les trois variétés Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma la présence d'une seule bande de la taille 109.1 Pb (**Tableau 08**).

## Chapitre III : Résultat et discussion



**Figure 9 : Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l'amorce WMC 161**

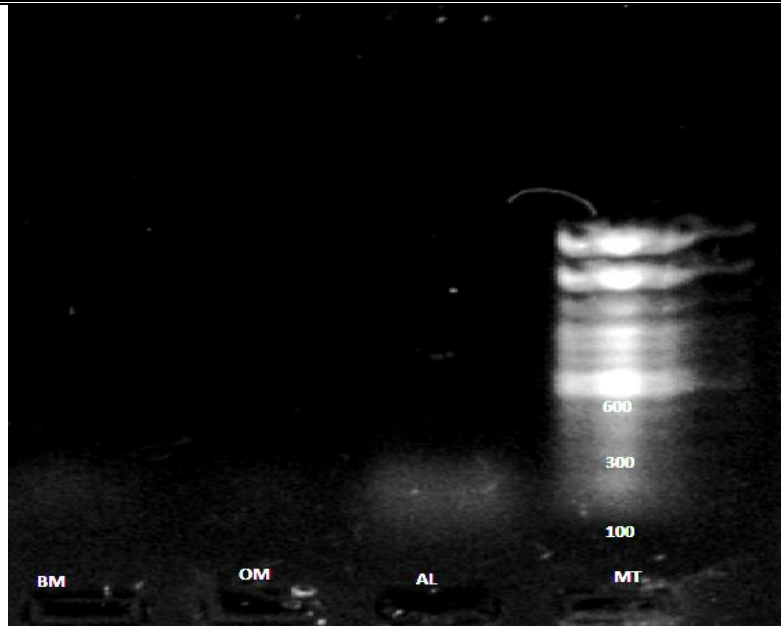
**Tableau 08 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce WMC 161**

Amorce	Variété	109.1 Pb
WMC161	Beni Mestina	1
	Ouled Mostefa	1
	Ain Lahma	1

### **I.4.3 Amorce GWM 493 :**

L'amorce GWM a montré une absence totale d'amplification chez les variétés Beni Mestina et Ouled Mostefa, tandis qu'une seule bande de 123,3 pb a été détectée chez la variété Ain Lahma (Tableau 09). Cette bande, peut être considérée comme un allèle spécifique à la variété Ain Lahma. **(Figure 12)**

## Chapitre III : Résultat et discussion



**Figure 10 : Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l'amorce GWM 493**

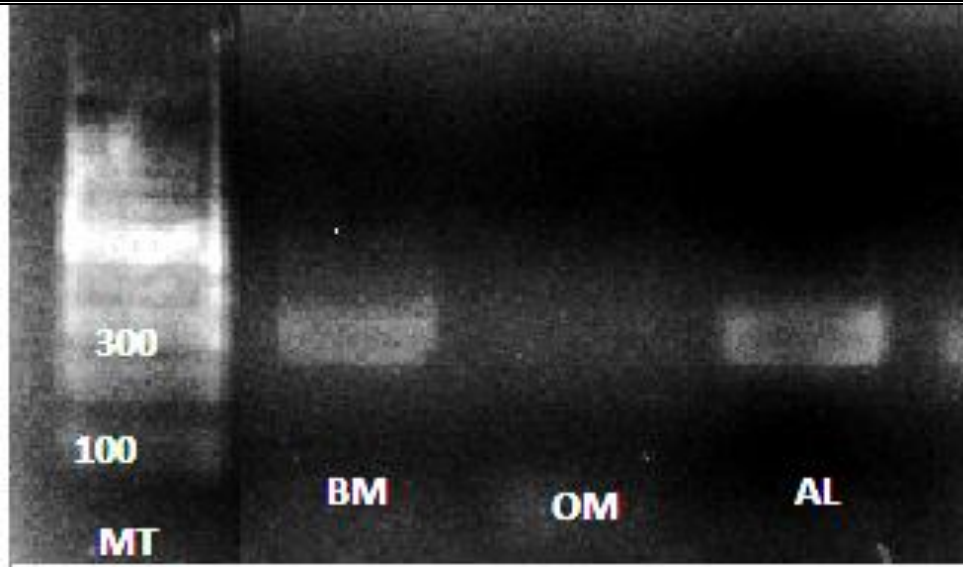
**Tableau 09 : Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été généré par l'amorce GWM 493**

Amorce	Variété	123.3 Pb
GMW 493	Beni Mestina	0
	Ouled Mostefa	0
	Ain Lahma	1

### I.4.4 Amorce GWM 533 :

L'amplification par l'amorce GWM553 a révélé la présence de deux fragments d'ADN de tailles 409,3 Pb et 265,5 Pb chez les variétés Beni Mestina et Ain Lahma (Figure 12). En revanche, aucune amplification n'a été détectée chez la variété Ouled Mostefa. Ces deux fragments peuvent être considérés comme des allèles spécifiques associés aux variétés Beni Mestina et Ain Lahma (**Tableau 10**).

## Chapitre III : Résultat et discussion



**Figure 11 :** Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiées avec l'amorce GWM 533

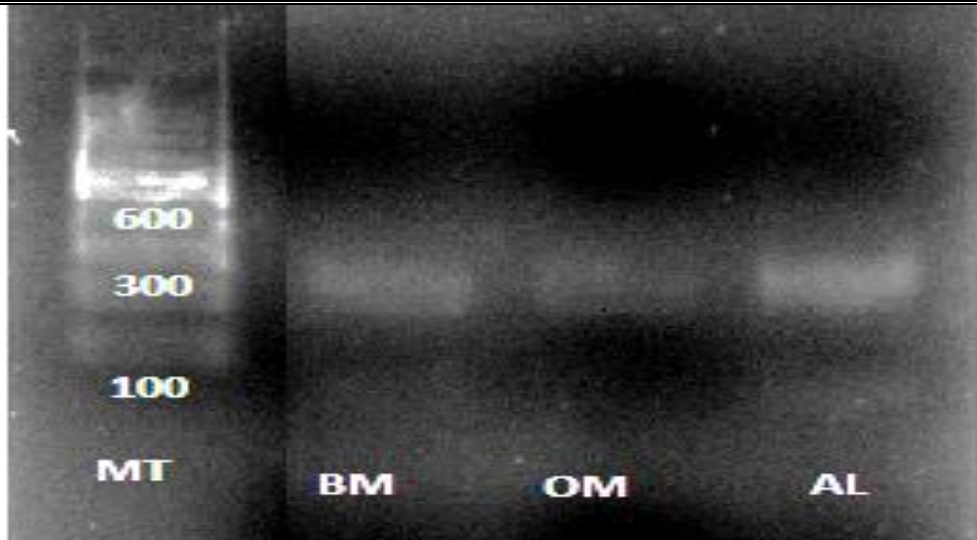
**Tableau 10 :** Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce GWM 533

Amorce	Variété	409.3 Pb	265.5 Pb
GWM 533	Beni Mestina	1	1
	Ouled Mostefa	0	0
	Ain Lahma	1	1

### I.4.5 Amorce Barc 8 :

La présence des deux bandes (335,5 Pb et 156,5 Pb) chez toutes les variétés testées (Beni Mestina, Ouled Mostefa et Ain Lahma) montre que ces fragments ne sont pas spécifiques à une seule variété. Autrement dit, ils sont partagés par toutes les variétés analysées. (**Tableau 11**). La détection de ces deux fragments chez toutes les variétés indique qu'ils ne sont pas spécifiques à une seule variété, mais communs à l'ensemble des géotypes étudiés. Par conséquent, ils ne permettent pas de différencier les variétés entre elles.

## Chapitre III : Résultat et discussion



**Figure 12 :** Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l'amorce Barc 8

**Tableau 11 :** Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce Barc 8

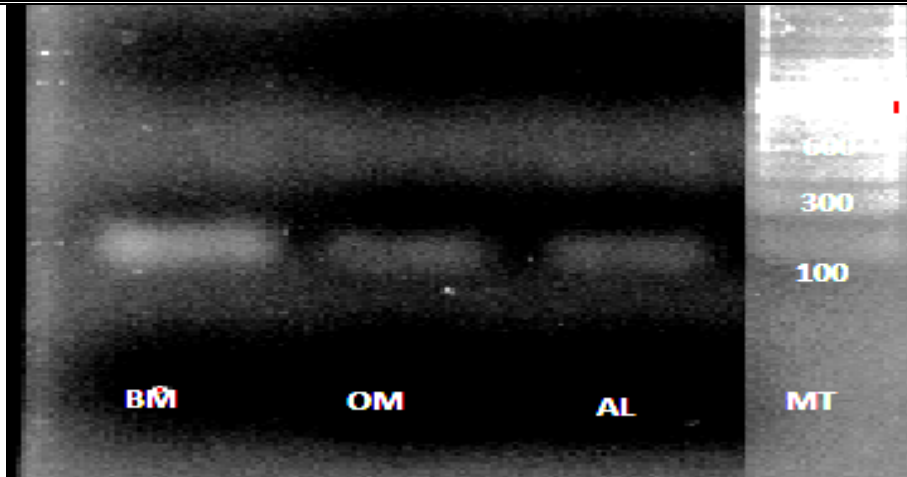
Amorce	Variété	335.5 Pb	156.5 Pb
Barc 8	Beni Mestina	1	1
	Ouled Mostefa	1	1
	Ain Lahma	1	1

### I.4.6 Amorce WMS 6 :

L'amplification réalisée avec l'amorce WMS6 a permis la détection d'un fragment unique d'ADN d'environ 100 Pb chez les trois variétés Beni Mestina, Ouled Mostefa et Ain Lahma (**Figure 15, Tableau 13**). Ce fragment constitue un allèle commun aux géotypes analysés.



## Chapitre III : Résultat et discussion



**Figure 13:** Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l'amorce WMS

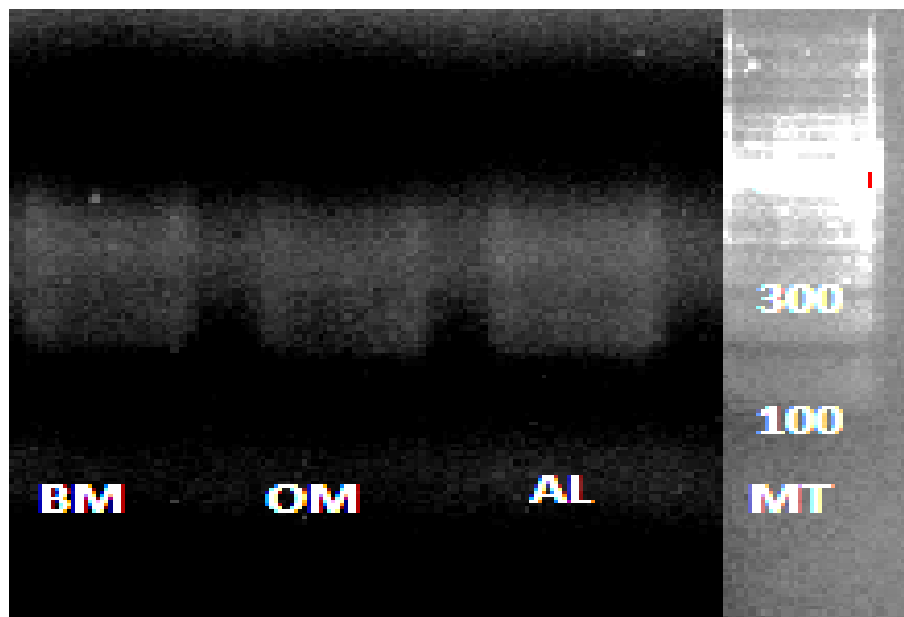
**Tableau 13 :** Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce WMS 6

Amorce	Variété	100 Pb
WMS 6	Beni Mestina	1
	Ouled Mostefa	1
	Ain Lahma	1

### I.4.7 Amorce PSP299 :

L'analyse par PCR utilisant l'amorce PSP2999 a permis la détection concomitante de deux fragments d'ADN distincts, de tailles 546,2 pb et 235 pb, au sein des génotypes Beni Mestina, Ouled Mostafa et Ain Lahma, indiquant la conservation de ces allèles dans l'ensemble des variétés étudiées. (**Tableau 13**)

## Chapitre III : Résultat et discussion



**Figure 14 :** Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiés avec l'amorce PSP2999

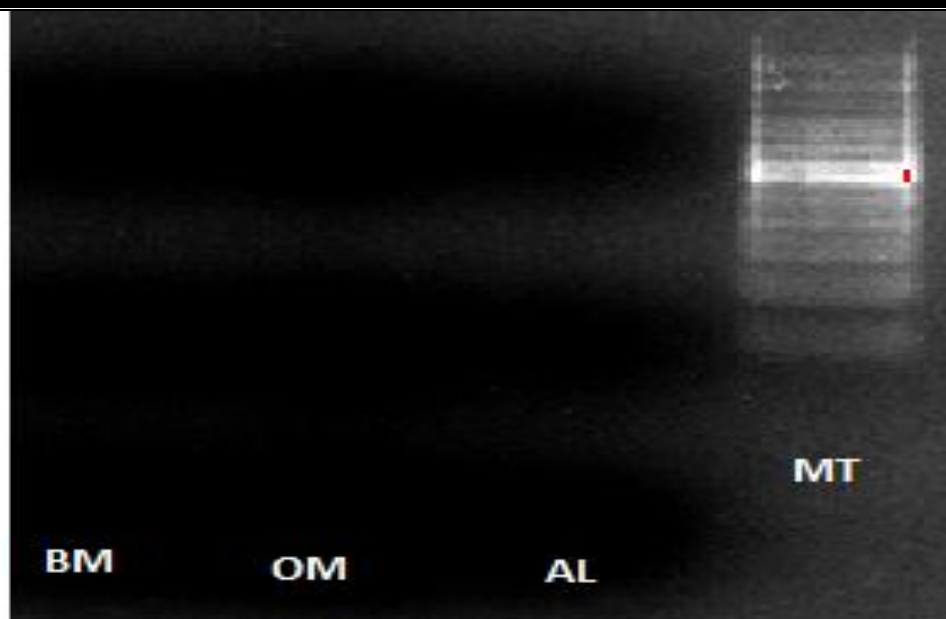
**Tableau 13 :** Présence (1) /Absence (0) des bandes qu'ont été générées par l'amorce PSP 2999

Amorce	Variété	546.2 Pb	235 Pb
PSP 2999	Beni Mestina	1	1
	Ouled Mostefa	1	1
	Ain Lahma	1	1

### I.4.8 L'amorce non retenue dans notre étude :

L'amorce WMC25 n'a généré aucune amplification significative ni polymorphisme détectable au sein des génotypes étudiés (**Figure 17**). Cette absence d'amplification suggère soit une inefficacité de l'amorce dans les variétés locales de blé dur, soit une faible conservation de la séquence cible dans ces génotypes.

## Chapitre III : Résultat et discussion



**Figure 15** : Profil électrophorétique sur gel d'agarose 3 % des trois variétés (Beni Mestina, Ouled Mostefa, Ain Lahma) amplifiées avec l'amorce WMC 25

Dans cette étude, huit amorces microsatellites (SSR) ont été utilisées pour évaluer la diversité génétique et la tolérance au stress biotique et abiotique chez le blé dur. Les amorces WMC44 et WMC161, localisées respectivement sur les chromosomes 2A et 4A, ont montré une pertinence certaine, en cohérence partielle avec les travaux de Barakat et al. (2015), qui les avaient associées à des QTL influençant le remplissage du grain sous stress thermique. Cette similarité dans les réponses physiologiques aux stress abiotiques justifie leur intérêt dans la sélection de génotypes tolérants à la sécheresse. Par ailleurs, les amorces GWM493 et GWM533, situées sur le chromosome 3B, sont liées au locus *Fhb1*, un facteur majeur de résistance à la fusariose de l'épi, comme rapporté par Löffler et al. (2019) et Ma et al. (2006). Bien que ces travaux concernent principalement le blé tendre, la conservation des loci entre les génomes du blé tendre et du blé dur suggère que ces marqueurs peuvent également être mobilisés dans un contexte de stress hydrique, où la synergie entre stress biotiques et abiotiques peut compromettre le rendement. Le marqueur Barc 8, localisé sur le chromosome 1B, est idéal pour distinguer les types résistants à la rouille jaune (Singh et al., 2020), montrant qu'il faut divers critères de résistance lors du choix. De même, l'amorce WMS6 sur le chromosome 4B a été corrélée à des caractères agronomiques favorables sous stress hydrique, notamment la stabilité du rendement et la durée de remplissage du grain (Benmoussa et al., 2013).

Enfin, selon Torada, et Tsujimoto, (2005) le marqueur PSP2999, situé sur le chromosome 1A et associé au locus *Glu-A3*, influence des traits qualitatifs tels que la teneur en protéines, un facteur crucial pour la qualité du grain. Ces résultats confirment ainsi le potentiel des marqueurs SSR étudiés pour appuyer la sélection

## Chapitre III : Résultat et discussion

assistée et l'amélioration génétique du blé dur face aux contraintes croissantes du stress hydrique et ce explique le choix des amorces étudiés dans notre travail.

Les amorces WMC44, WMC161 et GWM533 ont permis l'identification d'allèles spécifiques, exclusifs à certaines variétés de blé dur étudiées, corroborant leur statut de marqueurs privés à haute résolution. L'analyse SSR a démontré que ces allèles privés, représentés par des fragments d'ADN amplifiés de manière unique, constituent des marqueurs moléculaires discriminants, étroitement corrélés à l'adaptation génotypique à des environnements particuliers ainsi qu'à l'expression de traits phénotypiques spécifiques, renforçant leur potentiel d'utilisation dans les programmes de sélection ciblée.

Dans une recherche réalisée par Lachhab et al (2024), quatre variétés de blé dur, exposées à des conditions de sécheresse et de salinité, ont montré la présence d'au moins un allèle unique pour chaque variété, identifié grâce à l'étude de 11 marqueurs SSR. Ces allèles, qui sont propres à chaque variété, proviennent sans doute de mutations naturelles, d'un isolement génétique des variétés locales ou d'une pression sélective spécifique liée à l'adaptation des racines aux difficiles conditions environnementales. Leur particularité est soulignée par l'amplification d'une bande distinctive, suggérant une variation évolutive récente ou une réponse adaptative, ce qui en fait des marqueurs essentiels pour la sélection et la préservation adaptative. Dans le cadre de la sélection assistée par marqueurs, ces allèles uniques offrent un suivi précis des traits racinaires liés à la tolérance, sans risque de confusion avec d'autres variétés, renforçant ainsi leur importance dans les programmes d'amélioration du blé dur.

### **I.5 Nombre totale d'allèles par variétés :**

Les résultats de notre étude ont révélé que la variété Ain Lahma présente le nombre le plus élevé d'allèles, avec 9 allèles, suivie de la variété Beni Mestina 8 allèles, et enfin la variété Ouled Mostefa 7allèles. **(Figure 18)**

Selon les données fournies par l'INRA Ouled Mostefa est adaptée aux zones arides avec un rendement stable et une bonne qualité, issue d'un croisement entre **Sooty\_9/Rascon\_37//jupare c 2001/3/Sooty\_9/g - 37//camayo**

Selon Laouar et Lanani. (2022) expliquent que la variété locale Ouled Mostefa se caractérise par son adaptation aux conditions semi-arides en raison de son système racinaire profond et de sa hauteur de tige élevée. Cette forme plusieurs tiges donne une meilleure capacité d'utilisation des réserves hydriques du sol et garantit une stabilité du rendement malgré le stress hydrique.

Cependant la variété Ain Lahma est tolérante à la sécheresse, avec une bonne adaptation aux zones arides, et un rendement stable, elle est le résultat d'un croisement **Bcr/Gro1//Mgnl1ICD97-0396-T-1AP-0AP--5AP--0AP--16AP--0AP**

## Chapitre III : Résultat et discussion

---

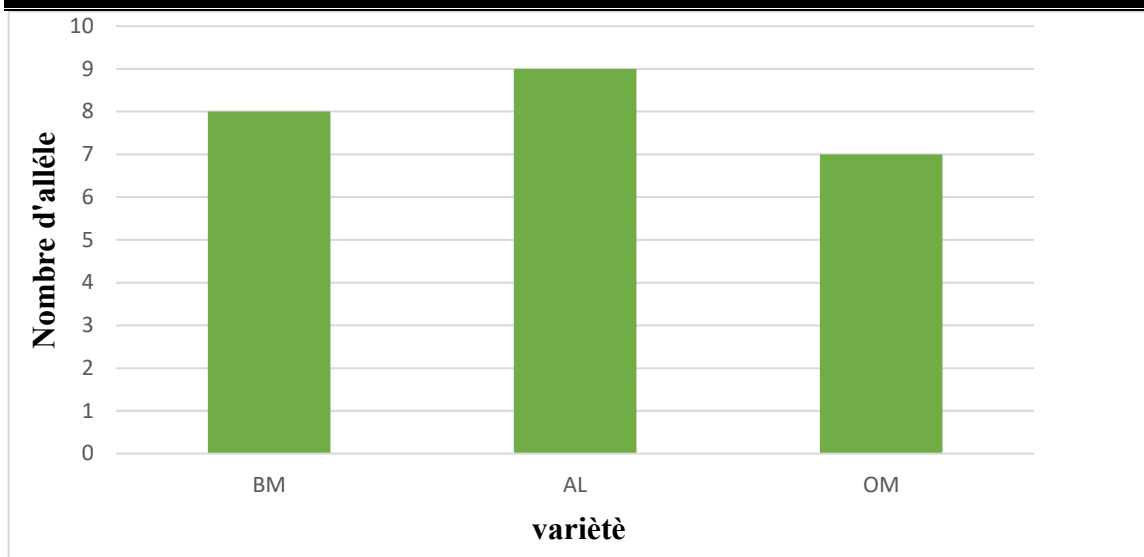
La recherche menée par Beddar ; 2019 a noté une grande variabilité technologique pour la variété Ain Lahma. En effet, cette variabilité touchait d'abord des indicateurs comme un taux de mitadinage élevé de 45,48 % et un faible poids des mille grains de 30,36 g, ce qui la place parmi les petits blés. En outre, la densité mesurée à 79,08 kg/hL la positionne dans la seconde catégorie de qualité technologique. Ces données montrent une importante plasticité phénotypique, surtout en conditions de stress, rendant la variété Ain Lahma une bonne candidate pour les programmes de sélection visant à améliorer la tolérance à la sécheresse et la qualité industrielle du blé dur.

Par ailleurs, la variété Beni Mestina est résistante aux maladies, avec un rendement stable et une bonne qualité, obtenue par croisement entre **Lahn/ch1 2003**. Saidi (2018) a démontré que la variété Beni Mestina présente une accumulation significative de proline sous stress hydrique, soulignant ainsi son rôle clé dans la tolérance au stress. Cette capacité physiologique confère à Beni Mestina un avantage adaptatif important, car l'accumulation de proline protège efficacement les cellules végétales contre les effets délétères du stress hydrique et permet le maintien des fonctions physiologiques normales, renforçant ainsi son potentiel pour les programmes d'amélioration des cultures en conditions arides.

Nos résultats soulignent l'importance de la variabilité génétique révélée par les marqueurs SSR au sein des variétés étudiées. L'intégration de cette diversité moléculaire dans les programmes de sélection pourrait significativement contribuer à l'amélioration de la tolérance aux stress hydrique ainsi qu'à la résistance aux maladies chez les nouvelles lignées de blé dur. Ce progrès génétique est essentiel pour assurer une production céréalière stable et durable, particulièrement dans les zones caractérisées par des conditions climatiques arides et semi-arides.

L'intégration de traits liés à la résistance aux maladies et à la tolérance au stress hydrique dans les programmes d'amélioration génétique représente un enjeu majeur pour assurer la sécurité alimentaire dans un contexte de changement climatique. Selon Gupta et al. (2020), les avancées en sélection assistée par marqueurs permettent de cibler efficacement les gènes impliqués dans la résistance à des pathogènes majeurs ainsi que ceux conférant une meilleure adaptation à la sécheresse. Ces approches combinent des techniques moléculaires et phénotypiques pour améliorer la productivité et la stabilité des rendements dans des environnements contraignants. De plus, l'utilisation de diversités génétiques et la sélection génomique accélèrent le développement de variétés durables, capables de résister à la fois aux stress biotiques et abiotiques (Mondal et al, 2021). Ces stratégies novatrices favorisent la création de cultivars adaptés aux conditions actuelles et futures, contribuant ainsi à la résilience des systèmes agricoles.

## Chapitre III : Résultat et discussion



**Figure 16 :** Valeurs totale, de nombre d'allèles par variétés pour l'ensemble des amorces SSR

# Conclusion

# Conclusion

---

## Conclusion et perspectives

Nous avons entrepris ce travail afin d'étudier la variabilité génétique existante entre trois variétés locales de blé dur (Beni Mestina, Ain Lahma, Ouled Mostefa), en recourant à des marqueurs microsatellites (SSRs). Cette recherche s'inscrit dans un contexte marqué par les changements climatiques, la réduction progressive des ressources hydriques, et la nécessité de disposer de génotypes plus tolérants et mieux adaptés aux conditions environnementales locales.

Ce mémoire a pour objectif de répondre à cette problématique en appliquant des approches de biologie moléculaire, notamment l'amplification de huit loci spécifiques par PCR, suivie d'une analyse par électrophorèse.

Les résultats obtenus ont permis l'identification de 11 allèles au total, avec un polymorphisme global de 16,66 %, indiquant une diversité génétique modérée mais exploitable. Ain Lahma a présenté 9 allèles, suivie de Beni Mestina (8 allèles) et Ouled Mostefa (7 allèles). Cette proximité dans le nombre d'allèles suggère un potentiel génétique équivalent entre les variétés, méritant d'être valorisé dans les programmes de sélection.

Les résultats obtenus indiquent que les variétés étudiées pourraient être exploitées pour améliorer la résistance à certaines pathologies, optimiser la qualité et renforcer la tolérance au stress hydrique.

Par ailleurs, cette étude confirme l'intérêt des marqueurs SSR dans la caractérisation moléculaire du blé dur. Grâce à leur co-dominance, leur haut pouvoir de discrimination ; les amorces SSR étudiées sont des outils clés pour la sélection génétique du blé dur face aux contraintes abiotiques et biotiques. Les amorces **WMC44** et **WMC161**, localisées respectivement sur les chromosomes 2A et 4A, sont associées à des QTL influençant la tolérance à la sécheresse, en particulier lors du remplissage du grain sous stress thermique. Les amorces **GWM493** et **GWM533**, situées sur le chromosome 3B, sont liées au locus **Fhb1**, conférant une résistance à la fusariose et une réponse positive au stress hydrique. Le marqueur **Barc 8** sur le chromosome 1B permet de différencier les génotypes résistants à la rouille jaune, tandis que **WMS6** sur le chromosome 4B est associé à des caractères agronomiques favorables sous stress hydrique, tels que la stabilité du rendement. Enfin, **PSP2999**, localisé sur le chromosome 1A et lié au locus **Glu-A3**, influence la teneur en protéines, un facteur crucial pour la qualité du grain. Ces marqueurs sont donc essentiels pour l'amélioration génétique du blé dur face aux défis environnementaux.

La diversité génétique révélée dans cette étude constitue donc une ressource stratégique pour orienter les futurs croisements vers des génotypes à la fois productifs, tolérants aux stress climatiques et résistants aux pathogènes.



# Conclusion

---

## Perspective suggérée :

- ✚ Il serait pertinent d'approfondir l'analyse génétique des nouvelles variétés de blé dur en utilisant un plus grand nombre de marqueurs microsatellites (SSR), afin d'obtenir une vision plus complète de leur diversité génétique. Il est également important d'examiner les interactions entre les génotypes et les conditions environnementales, notamment pour identifier les combinaisons génétiques les plus stables et performantes face aux variations climatiques. Une attention particulière devrait être accordée aux génotypes porteurs d'allèles rares ou spécifiques, tels que celui d'Aïn Lahma, en raison de leur intérêt potentiel pour le développement de variétés élites, mieux adaptées aux conditions agro climatiques ciblées."

# **Références bibliographiques**

# Références bibliographiques

---

## Références bibliographiques

1. Abdellaoui, A., & Hachimi, A. (2016). Diseases affecting durum wheat production in Algeria : A review. *Agricultural Research & Technology*, 45(2), 204-212.
2. Adel, M. (2017). Étude de la diversité génétique du blé dur par les marqueurs SSR. Université d'Alger.
3. Al-Naggar, A. M. M., Abd El-Shafi, M. A. E., El-Shal, M. H., & Anany, A. H. (2020). Molecular Assessment of Genetic Diversity among Egyptian Landraces of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Using Microsatellite Markers. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. <https://doi.org/10.9734/AJBGMB/2020/v3i430094>
4. -BADDOU Mohamed et BOUDJEMAOU Abdelhamid (2022). Étude de l'effet du stress hydrique sur la croissance du blé. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Agronomiques, spécialité Systèmes de production agroécologiques. Université d'Adrar.
5. Barakat, M. N., Al-Doss, A. A., Elshafei, A. A., et Moustafa, K. A. (2015). Bulk segregant analysis to detect quantitative trait loci (QTL) related to heat tolerance at grain filling rate in wheat using simple sequence repeat (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*.
6. Beddar, W. (2019). Caractérisation, identification et étude de la thermorésistance de souches de *Bacillus cereus* isolées de semoule de couscous. Mémoire de Master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Biologiques, spécialité : Qualité des produits et sécurité des aliments, Bordj Bou Arréridj, Algérie. 90 p.
7. Benmoussa, M., et al. (2013). Caractérisation moléculaire et association marqueur SSR-phénotype pour la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). *European Scientific Journal*.
8. Blanco, A., Gadaleta, A., Mangini, G., et al. (2023). Genomic regions of durum wheat involved in water productivity. *Frontiers in Plant Science*, 14, 10735558. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.10735558>
9. BOUMANA Meriem. (2017) « Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration Du blé dur pour la tolérance au stress biotique et abiotique »
10. -Chennafi H., Aidaoui A., Bouzerzour H., Saci A. 2006. Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Sciences*
11. Dagnaw, T.; Mulugeta, B.; Haileselassie, T.; Geleta, M.; Ortiz, R.; Tesfaye, K.
12. Genetic Diversity of Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. durum, Desf) Germplasm as Revealed by Morphological and SSR Markers.
13. Gupta, P.K., Jaiswal, V., et Kumar, A. (2020). Marker-assisted breeding for disease resistance and drought tolerance in wheat : Progress and prospects. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1234. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01234>.
14. -Houairi Bachra (2020). Étude de la situation de la culture de blé dur (*Triticum durum*) dans la région de Bordj Bou Arréridj. Mémoire de master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi,
15. Hu, L., Wang, J., Wang, X., Zhang, D., Sun, Y., Lu, Shi, W. (2024). Development of SSR Markers and Evaluation of Genetic Diversity of Endangered Plant *Saussurea involucreata*. *Biomolecules*, 14(8), 1010.

## Références bibliographiques

16. Kabbaj, H., et al. (2017). « Genomic Advances in Durum Wheat Breeding for Adaptation to Climate Change. » *Frontiers in Genetics*.
17. Kabbaj, H., et al. (2017). Genomic insights into the drought tolerance of durum wheat. *Scientific Reports*.
18. Kirouani, A., Ould Kiar, Boukhalfoun, Fellahi, Z. E. A. (2019). Caractérisation de quelques variétés Algériennes de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. durum) par le biais des marqueurs phénotypiques. *Journal of Applied Biosciences*.
19. Laouar W et Lanani A (2022), Effet de stress salin sur la croissance de deux génotypes de blé dur (*Triticum Durum Desf*)
20. Löffler, M., et al. (2019). QTL mapping and successful introgression of the spring wheat-derived QTL Fhb1 for Fusarium head blight resistance in three European triticale populations. *Theoretical and Applied Genetics*, p132
21. Maccaferri, M., et al. (2015). Durum wheat genome diversity and population structure. *Theoretical and Applied Genetics*.
22. Maccaferri, M., Ricci, A., Salvi, S., (2015). « A High-Density, SNP-Based Consensus Map of Tetraploid Wheat as a Bridge to Integrate Durum and Bread Wheat Genomics and Breeding. » *The Plant Genome*
23. Mohammadi, S. A., et Prasanna, B. M. (2003). « Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants—Salient Statistical Tools and Considerations. »
24. Mondal, S., Rutkoski, J., Velu, G., et al. (2021). Harnessing genomic selection to accelerate genetic gains in wheat breeding for disease resistance and drought tolerance. *Theoretical and Applied Genetics*.
25. Reddy, M. P., Sarla, N., Siddiq, E. A. (2021). Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. *Heliyon*, 7(10), e08093. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08093>
26. Royo, C., Nazco, R., et Villegas, D. (2014). « The Role of Durum Wheat Landraces in the Improvement of Adaptation to Dryland Conditions. » *Journal of Experimental Botany*, p 65
27. Royo, C., Nazco, R., et Villegas, D. (2014). The climate of the Mediterranean region and its influence on durum wheat performance. *Agronomy*.
28. Singh, R., Kumar, J., et Sharma, P. (2020). Molecular mapping of resistance genes to stripe rust in durum wheat using SSR markers. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*.
29. Tadesse, W., Amri, A., Sanchez-Garcia, M., et al. (2019). « Durum Wheat Breeding : Progress, Challenges, and Opportunities in the Face of Climate Change. » *Crop Breeding, Genetics and Genomics*,
30. -Tadesse, W., et al. (2019). Breeding progress and future prospects for durum wheat improvement. *Euphytica*
31. Torada, A. et Tsujimoto, H. (2005). Development of PCR-based markers to identify grain hardness genotype in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*,
32. Toth, Z. G. and Jurka, J. (2000) Microsatellites in different eukaryotic genome, survey and analysis, *Genome Res*.
33. Touati, A., Khelifi, L., Bouzerzour, H., et Labar, H. (2024). Agro-morphological and molecular characterization of durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. Durum) genotypes under semi-arid conditions. *Plants*,
34. Varshney, R. K., Graner, A. Sorrells, M. E. (2005). Genomics-assisted breeding for crop improvement. *Trends in Plant Science*, 10(12), 621–630.
35. Zaïm, M., Kabbaj, H., Kehel, Z., et al. (2020). Combining QTL analysis and genomic predictions for four durum wheat populations under drought conditions. *Frontiers in Genetics*, 11, 316.

# Références bibliographiques

---

## Sites internet

36. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2023> consulté le 11/03/2025
37. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00316> consulté le 16/03/2025
38. <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000545> 20/ 03/ 2025
39. -<https://www.aps.dz/regions/172667-cereales-vers-l-autosuffisance-en-ble-dur-d-ici-a-2027><https://doi.org/10.1007/s00122-019-03476-0> consulté le 07/04/2025
40. . <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03824-7> consulté le 15/05/2025
41. . <https://doi.org/10.3390/genes14061155> consulter le 17/05/2025
42. . <https://doi.org/10.3390/plants13070934> consulté le 18:05/2025

# **Annexe**

# Annexe

---

## Annexe 01 : Protocole d'extraction d'ADN

### 1. Extraction de L'ADN

L'extraction selon la méthode de (Saghai *et al*, 1984) à partir du broyat de la troisième feuille de chaque variété.

Broyer le matériel végétal (environ 150mg) dans un mortier avec l'azote liquide (manipuler avec les gants) puis transférer le broyat dans un tube à vis (mettez les tubes contenant le broyat dans l'azote liquide, bien fermer les tubes).

2. - Préchauffer le tampon CTAB 2x dans un bain marie à 65°C.
3. - Broyer le matériel végétal (environ 150 mg) dans un mortier avec d'azote liquide.
4. - Transférer le broyat dans un tube à vis.
5. - Ajouter 900 µl de Tampon CTAB 2x additionné de Beta-mercaptoéthanol préchauffé à 65°C.
6. - Homogénéiser au vortex.
7. - Incuber 60 min dans un bain marie à 65°C avec agitation.
8. - Centrifuger 15 min à 10000 rpm à 4°C.
9. - Récupérer le surnageant (~800µl) dans un nouveau tube d'ependorf de 2 ml (stocker le culot à 4°C à l'abri de la lumière).
10. - Ajouter 800µl (1vol) Chloroforme/Alcool isoamylique (24:1) 11.- Agiter pendant 45 min à vitesse lente (100 à 150 rpm) sur une table.
12. - Centrifuger 15 min à 10000 rpm à 4°C.
13. - Récupérer la phase aqueuse supérieure à l'aide de micropipette P1000 et la mettre dans un nouveau tube d'ependorf. (Éviter de prendre la couche blanche au milieu)
14. - Ajouter 3 à 5 µl de RNase A (10mg/ml), agiter par inversion et incuber 30 min à 37°C.
15. - Ajouter 540 µl (2/3Vol) d'Isopropanol froid (-20°C)
16. - Inverser les tubes doucement jusqu'à l'apparition d'une pelote blanche.
17. - Laisser précipiter à -20°C pendant 5 à 10 min.
18. - Centrifuger 10min à 10000 rpm à 4°C.
19. - Eliminer le surnageant très délicatement.
20. - Ajouter 500 µL de solution de lavage 1.
21. - Incuber pendant 15 min à température ambiante.
22. - Centrifuger 5 min à 10000 rpm à 4°C.

## Annexe

23. - Eliminer le surnageant et ajouter 500µL de de solution de lavage 2.
24. - Ne pas incuber plus de 5 min.
25. - Centrifuger 5 min à 10000 rpm à 4°C.
26. - Eliminer le surnageant et sécher l'ADN à l'air libre pendant 10 à 20 min
27. -Suspendre le culot d'ADN dans 100 µl de TE 0.1X
28. - Stocker l'ADN pendant une nuit à 4°C avant dosage.

### 29. Evaluation de la qualité et de quantité d'ADN extraite

#### Dosage de l'ADN génomique

La concentration et la pureté d'ADN est déterminé grâce à la lecture de la densité optique avec un Nano drop. L'absorbance est mesurée dans la longueur d'onde 260 nm et 280 nm Un rapport

- (DO260/DO280) entre 1.8 et 2 caractérise l'ADN pure. La concentration de l'ADN est à 50 µg/ml.

#### Préparation des solutions pour l'extraction d'ADN

##### a) Tampon CTAB 1X (pH 8)

	Concentration finale	PM (g/mol)	1 litre	200 ml	100 ml
<b>CTAB</b>	2% (P/V)	364,45	20g	4g	2g
<b>Tris de base</b>	100 mM	121,14	12,11 g	2.42g	1.21g
<b>Na<sub>2</sub>EDTA</b>	20 mM	372,24	7,44 g	1.49g	0.75g
<b>NaCl</b>	1.4M	58,44	81.8g	16.36g	8.18g
<b>PVP 40</b>	1% (P/V)		10 g	2g	1g
<b>H2O up</b>			Qsp 1litre	Qsp	Qsp
				200ml	100ml

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

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

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



# Annexe

## c) Solution lavage 1

	Concentration finale	PM (g/mol)	1 litre	200 ml	100 ml
Acétate de Sodium	200 mM	82.03	16.46g	1.6g	0.8g
H2O distillée			240 ml	24 ml	12 ml
Dissoudre l'acétate de sodium avant d'ajouter l'éthanol					
Ethanol 100 % 76%			760 ml	76 ml	38 ml

## d) Solution lavage 2

	Concentration finale	PM (g/mol)	1 litre	200 ml	100 ml
Acétate d'ammonium	10 mM	77,08	0.8g	0.08g	0.04g
H2O distillée			240 ml	24 ml	12 ml
Dissoudre l'acétate de sodium avant d'ajouter l'éthanol					
Ethanol 100 % 76%			760 ml	76 ml	38 ml

## e) TE 1X (pH 8)

	Concentration finale	PM (g/mol)	1 litre	200 ml	100 ml
<b>Tris de base</b>	10 mM	121.14	1.21g	0.6g	0.12g
<b>Na2EDTA</b>	1mM	372.24	0.38g	0.19g	0.04g
<b>H2O up</b>			Qsp	Qsp	Qsp
			1 litre	500 ml	100 ml

## f) TE 0.1X (pH 8)

	Concentration finale	PM (g/mol)	1 litre	200 ml	100 ml
<b>Tris de base</b>	10 mM	121.14	1.21g	0.6g	0.12g

## Annexe

H2O up			1 litre	500 ml	100 ml
--------	--	--	---------	--------	--------

### Annexe 02 : Le PROGRAMME PCR

Préparation du mélange réactionnel 25 µl

Le mix	Pour 1 réaction
<b>Ampli Taq polymérase</b>	<b>0,25 µl</b>
<b>Tampon</b>	<b>2,5 µl</b>
<b>DNTP</b>	<b>0,5 µl</b>
<b>Mgcl</b>	<b>1,5 µl</b>
<b>Amorce</b>	<b>1,25 µl</b>
<b>ADN</b>	<b>2 µl</b>
<b>H2OH up</b>	<b>17 µ</b>

**Tableau 1 :** programme PCR pour Les amorces WMC 44/ WMC 161

Etape	Température	Temps	
<b>Dénaturation initiale</b>	95°C	5min	<b>1 cycle</b>
<b>Dénaturation 2</b>	94°C	1min	<b>35 cycles</b>
<b>Hybridation</b>	61°C	1min	
<b>Extension</b>	72°C	2min	
<b>Extension final</b>	72°C	10min	<b>1 cycle</b>

**Tableau 2 :** programme PCR amorce WMC 25

## Annexe

Etape	Température	Temps	
<b>Dénaturation initiale</b>	95°C	5min	<b>1 cycle</b>
<b>Dénaturation 2</b>	94°C	1min	<b>35 cycles</b>
<b>Hybridation</b>	51°C	1min	
<b>Extension</b>	72°C	2min	
<b>Extension final</b>	72°C	10min	<b>1 cycle</b>

**Tableau 3 : programme PCR pour les amorces GWM 493/GWM 533/ Barc 8**

Etape	Température	Temps	
<b>Dénaturation initiale</b>	95°C	5min	<b>1 cycle</b>
<b>Dénaturation 2</b>	94°C	1min	<b>35 cycles</b>
<b>Hybridation</b>	61°C	1min	
<b>Extension</b>	72°C	2min	
<b>Extension final</b>	72°C	10min	<b>1 cycle</b>

**Tableau 4 : programme PCR pour l'amorce WMS 6 /PSP 2999**

Etape	Température	Temps	
-------	-------------	-------	--

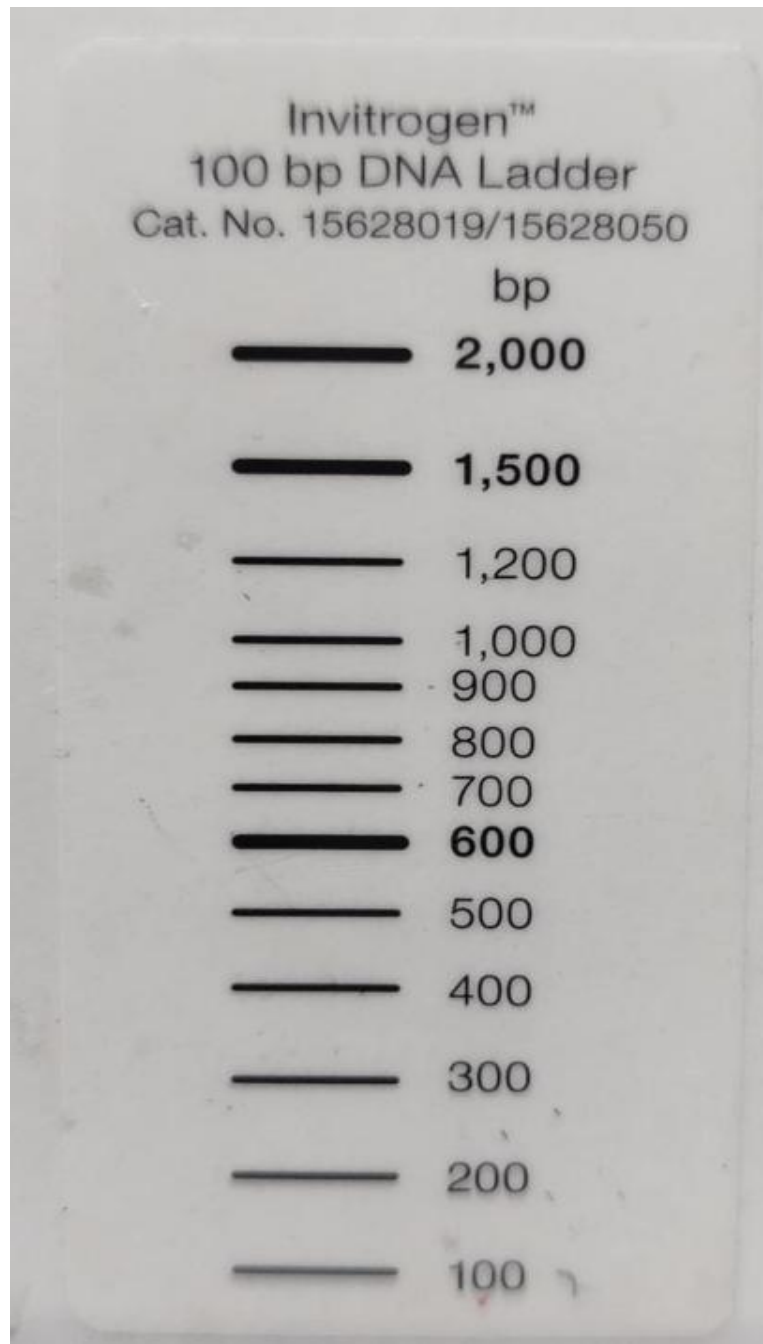
## Annexe

<b>Dénaturation initiale</b>	95°C	5min	<b>1 cycle</b>
<b>Dénaturation 2</b>	94°C	1min	<b>35 cycles</b>
<b>Hybridation</b>	55°C	1min	
<b>Extension</b>	72°C	2min	
<b>Extension final</b>	72°C	10min	<b>1 cycle</b>

### Annexe 03: Marqueur de taille 100 Pb

## Annexe

---



# Annexe

<b>Année universitaire : 2024-2025</b>	<b>Présenté par : Habbeche Hind</b>  <b>Benzaid Nour Faten</b>
<b>Etude de la variabilité génétique du blé dur (<i>Triticum durum</i> DESF) pour la tolérance au stress hydrique.</b>	
<b>Mémoire pour obtenir du diplôme de Master en Biotechnologie et génomique végétale</b>	
<p align="center"><b>Résumé</b></p> <p>La caractérisation et l'évaluation des variétés cultivées de blé dur permettent la sauvegarde et la réhabilitation de ce patrimoine génétique. C'est dans ce contexte, et en vue de contribuer à l'amélioration et à la gestion de cette importante ressource génétique, que notre étude est menée. Notre objectif porte sur l'évaluation et la caractérisation des variétés nouvellement créées Beni Mestina, Ouled Mostefa et Ain Lehma, par l'utilisation des marqueurs moléculaires SSR de type WMC44, WMC161, GWM493, GWM533, Barc8, WMC25, WMS6, PSP2999. situés respectivement sur les chromosomes 1B, 4A, 3B, 3B, 1B, 2A, 2B, 4B, 1A associés à la résistance à la sécheresse dans de nombreuses études antérieures.</p> <p>Les résultats obtenus révèlent un taux de polymorphisme de 16.66%. Le nombre total de bandes amplifiées est de 24, et les amorces ont permis de détecter 11 allèles. La variété se distingue par Ain Lehma le nombre le plus élevé d'allèles 9 allèles, suivie Beni Mestina avec 8 allèles, tandis qu'Ouled Mostefa 7 allèle. Ce niveau de polymorphisme, bien que modéré, reflète une variabilité génétique exploitable, notamment pour les programmes de sélection et d'amélioration du blé dur visant une meilleure résistance au stress hydrique et tolérance aux maladies</p>	
<b>Mots-clefs :</b> <i>Triticum durum</i> , stress hydrique, stress abiotique, SSR, amélioration,	
<p><b>Laboratoire de recherche :</b></p> <p>Laboratoire de la Biologie Moléculaire Chaabet- Ressa Université Frères Mentouri 1</p> <p>Laboratoire d'électrophorèse CRBT (Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine)</p>	
<p><b>Jury d'évaluation :</b></p> <p><b>Encadrant :</b> MCB. KHENNAOUI. A (Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p> <p><b>Président :</b> Mme BOUSBAA R. (Professeur - Université Constantine 1 Frères Mentouri).</p> <p><b>Examineur :</b> Mme LOUALI. Y (MCB- Université Constantine 1 Frères Mentouri).</p>	