



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

Département de : Biologie Végétale

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتورى

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم : بиولوجيا النبات

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Génomique Végétale

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Variabilité des marqueurs génétiques type SSR liés à la résistance aux maladies fongiques chez les variétés de blé tendre

Présenté par : BOUSSENDEL Dalal

BOUYAHIA Salma

Jury d'évaluation :

Président : Mr. KELLOU Kamel, M.A.A Univ. Constantine 1, Frères Mentouri.

Encadrant : Mr. TEMAGOULT Mahmoud, M.A.A Univ. Constantine 1, Frères Mentouri.

Examinateuse : Mlle. MOUELLEF Adra, M.C.B Univ. Constantine 1, Frères Mentouri.

Année Universitaire : 2024-2025

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à Dieu Tout-Puissant, source de toute force et de toute réussite, pour nous avoir permis d'atteindre cet important jalon de notre parcours académique. Nous remercions sincèrement Monsieur **KELLOU Kamel**, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider notre soutenance, ainsi que pour son regard bienveillant et ses remarques enrichissantes.

Nos remerciements vont également à Monsieur **TEMAGOULT Mahmoud**, Encadrant de cette étude, pour le temps consacré à l'évaluation de notre travail, la pertinence de ses observations, et la rigueur scientifique de ses commentaires.

Nous adressons aussi notre vive reconnaissance à Madame **MOUELLEF Adra**, Examinatrice de ce mémoire, Maître de conférences à l'Université Constantine 1 Frères Mentouri, pour son implication dans l'évaluation de ce mémoire et pour ses suggestions constructives.

Enfin, nous remercions chaleureusement tous les enseignants, encadrants, personnels de laboratoire et camarades qui nous ont soutenus, encouragés ou accompagnés d'une manière ou d'une autre tout au long de ce projet.

Dédicace

Alhamdoulillah, louange à Dieu qui nous a guidés, soutenus et permis d'arriver jusqu'ici. Sans Sa volonté et Sa bénédiction, rien n'aurait été possible. Nous dédions ce travail à nous-mêmes, en reconnaissance des efforts, du courage et de la persévérance que nous avons déployés, ma collègue et moi, tout au long de ce parcours. À nos chers parents, pour leur amour inépuisable, leurs prières, leur patience et leur soutien moral indéfectible. À nos frères et sœurs, pour leur affection, leurs encouragements constants et leur présence bienveillante. À nos amis fidèles, pour leurs mots réconfortants, leur accompagnement sincère et leur soutien précieux. À toutes ces personnes chères à notre cœur, nous adressons notre reconnaissance la plus sincère

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer la variabilité génétique et le potentiel de résistance aux maladies fongiques de onze génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum* L.), par l'utilisation de marqueurs microsatellites SSR. Huit marqueurs microsatellites ciblant des gènes de résistance (Yr15, Yr29, Yr36, Fhb1, Pm3g) BARC8, BARC113, WMC44, WMC405, GWM425, PSP3000, PSP2999 et CFA2040, ont été utilisés. Les résultats révèlent un fort polymorphisme génétique entre les variétés, avec des indices PIC (*Polymorphic Information Content*) souvent supérieurs à 0,75, témoignant de leur haut pouvoir discriminant. Certaines variétés, telles que *Courtot*, *Ain Abid* et *Tidis*, se démarquent par la présence de plusieurs allèles liés à la résistance. En revanche, d'autres comme *Massine* ou *Chinese Spring* présentent des profils génétiques moins intéressants. Pour analyser la structure génétique des génotypes, un dendrogramme a été construit à partir d'une matrice binaire (présence/absence des allèles), en utilisant la distance euclidienne et la méthode d'agrégation de Ward (minimisation de la variance intra-cluster). Cette étude met en évidence la richesse génétique du blé tendre cultivé en Algérie et confirme l'intérêt des marqueurs SSR dans les programmes de sélection assistée, en vue d'améliorer la résistance aux maladies fongiques et d'assurer une agriculture plus durable.

Mots clés : Blé tendre, marqueurs SSR, résistance aux maladies et polymorphisme.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the genetic variability and potential resistance to fungal diseases of eleven genotypes of bread wheat (*Triticum aestivum* L.), using *SSR* (*Simple Sequence Repeat*) microsatellite markers. Eight microsatellite markers targeting resistance genes (Yr15, Yr29, Yr36, Fhb1, Pm3g), namely BARC8, BARC113, WMC44, WMC405, GWM425, PSP3000, PSP2999, and CFA2040 were used. The results reveal a high level of genetic polymorphism among the varieties, with *PIC* (*Polymorphic Information Content*) indices often exceeding 0.75, reflecting their high discriminatory power. Certain varieties, such as *Courtot*, *Ain Abid*, and *Tidis*, stand out for having several alleles associated with resistance. In contrast, others like *Massine* or *Chinese Spring* show less promising genetic profiles. To analyze the genetic structure of genotypes, a dendrogram was built from a binary matrix (presence/absence of alleles), using the Euclidean distance and the Ward aggregation method (minimization of the intra-cluster variance). This study highlights the genetic richness of bread wheat cultivated in Algeria and confirms the value of SSR markers in marker-assisted selection programs, with the aim of improving resistance to fungal diseases and ensuring more sustainable agriculture.

Keywords: Bread wheat, SSR markers, diseases resistance and polymorphism.

الملخص

يهدف هذا البحث إلى تقييم التنوع الوراثي والإمكانات المقاومة للأمراض الفطرية لدى أحد عشر صنفًا وراثيًّا من القمح اللين (*Triticum aestivum* L.), باستخدام معالم السلالات البسيطة المتكررة *SSR*. تم استخدام ثمانية مؤشرات ميكروساتلية تستهدف جينات المقاومة (Yr15، Yr29، Yr36، Fhb1، Pm3g) وهي: BARC113، BARC8، CFA2040 و PSP2999، PSP3000، GWM425، WMC405، WMC44 و Rht-B1b. أظهرت النتائج وجود تعددية شكلية وراثية عالية بين الأصناف، مع قيم مؤشر *PIC* غالباً ما تتجاوز 0.75، مما يدل على قدرتها التمييزية العالية. وقد تميزت بعض الأصناف، مثل *Tidis* و *Ain Abid* و *Courtot*، بوجود عدة أليلات مرتبطة بالمقاومة. بينما أظهرت أصناف أخرى، مثل *Chinese Spring* و *Massine*، تغيرات وراثية أقل أهمية. لتحليل التركيب الوراثي للأنماط الوراثية، تم بناء *dendrogram* من مصفوفة ثنائية (وجود/عدم وجود أليلات)، باستخدام المسافة الإقليلية وطريقة تجميع الجناح (تضليل التباين داخل الكتلة). ثُبَرَت هذه الدراسة الغنى الوراثي للقمح الطري المزروع في الجزائر، وتؤكد أهمية مؤشرات *SSR* في برامج الانتقاء المساعد، بهدف تحسين مقاومة الأمراض الفطرية وتحقيق زراعة أكثر استدامة.

الكلمات المفتاحية: القمح اللين، معالم *SSR*، مقاومة الأمراض والتنوع الوراثي.

Liste des abréviations

ADN :	Acide désoxyribonucléique
AFLP :	Amplified Fragment Length Polymorphism
BARC :	Beltsville Agricultural Research Center
CFA :	Clermont Ferrand Génome A
CIMMYT :	International Maize and Wheat Improvement Center
CsLV34 :	Chinese Spring latent virus
Cssfr4 :	Chinese Spring stripe rust resistance factor 4
DaRT :	Diversity Arrays Technology
EHD/ECD :	Extremely Hot Days / Extremely Cold Days (Jours de chaleur/froid extrêmes)
Fhb :	Fusarium head blight resistance gene (gène de résistance à la fusariose de l'épi)
GWM :	Gatersleben Wheat Microsatellite
INRA :	Institut National de la Recherche Agronomique (France)
ITGC :	Institut Technique des Grandes Cultures (Algérie)
Kb :	Kilobase (1000 paires de bases)
Lr :	Leaf rust resistance gene (gène de résistance à la rouille brune)
MAS :	Marker-Assisted Selection (Sélection assistée par marqueurs)
ONS :	Office National des Statistiques (Algérie)
Pb :	Paires de bases (unités de mesure de la taille des fragments d'ADN)
PCR :	Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)
PIC :	Polymorphism Information Content (Contenu informatif sur le polymorphisme)
Pm :	Powdery mildew resistance gene (gène de résistance à l'oïdium)
PSP :	Public SSR Project
QTL :	Quantitative Trait Loci (Locus de caractère quantitatif)
RAPD :	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP :	Restriction Fragment Length Polymorphism
SNP :	Single Nucleotide Polymorphism
SSR :	Simple Sequence Repeat (Microsatellite)
STS :	Sequence-Tagged Site
Tri Mv :	Triticum mosaic virus
UV :	Ultraviolet
WMC :	Wheat Microsatellite Consortium
WSMV :	Wheat streak mosaic virus
Yr :	Yellow rust resistance gene (gène de résistance à la rouille jaune)

Liste des figures

<u>Figure 1: L'origine géographique des blés cultivés (Dubcovsky et Dvorak, 2007).</u>	2
<u>Figure 2: Schéma de L'origine génétique du blé tendre (<i>Triticum aestivum L.</i>) À partir de l'hybridation de plusieurs espèces de blés.</u>	4
<u>Figure 3: Les principaux états d'Afrique producteurs de blé en 2021 .par ATLASOCIO.COM .2023</u>	6
<u>Figure 4: Le graphique présente l'évolution de la production de blé tendre (données des rapports de l'ONS.dz .2025).</u>	7
<u>Figure 5: La rouille jaune sur les feuilles de blé tendre</u>	9
<u>Figure 6: La rouille brune sur les feuilles de blé tendre</u>	9
<u>Figure 7: La rouille noire sur la tige et les feuilles de blé tendre</u>	10
<u>Figure 8: La fusariose sur l'épi de blé tendre</u>	11
<u>Figure 9: L'oïdium sur les feuilles de blé tendre</u>	11
<u>Figure 10: La septoriose sur les feuilles de blé tendre</u>	12
<u>Figure 11: Techniques de marqueurs moléculaires (RESSOURCES PÉDAGOGIQUES DE LA FILIÈRE SEMENCES) : (A) RAPD ; (B) RFLP ; (C) AFLP ; (D) SSR.</u>	15
<u>Figure 12: La culture in vitro des graines de blé tendre</u>	20
<u>Figure 13: Analyse de la qualité d'extraction des ADN de 11 génotypes de blé tendre par électrophorèse sur gel d'agarose à 0.8%. /30min à 100 V.</u>	26
<u>Figure 14: Vérification de l'amplification du locus Barc8 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pondent 45min</u>	27
<u>Figure 15: Vérification de l'amplification du locus WMC44 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pondent 45min</u>	28
<u>Figure 16: Vérification de l'amplification du locus WMC405 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pondent 45min</u>	30
<u>Figure 17: Vérification de l'amplification du locus GWM425 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pondent 45min</u>	31
<u>Figure 18: Vérification de l'amplification du locus PSP2999de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pondent 45min</u>	32
<u>Figure 19: Vérification de l'amplification du locus PSP3000 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pondent 45min</u>	33
<u>Figure 20: Vérification de l'amplification du locus Barc133 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pondent 45 min</u>	34
<u>Figure 21: Vérification de l'amplification du locus CFA2040de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pondent 45min.</u>	35
<u>Figure 22: Dendrogramme montrant la relation de similarité entre 11 variétés de blé tendre (établi à l'aide du logiciel Python)</u>	36

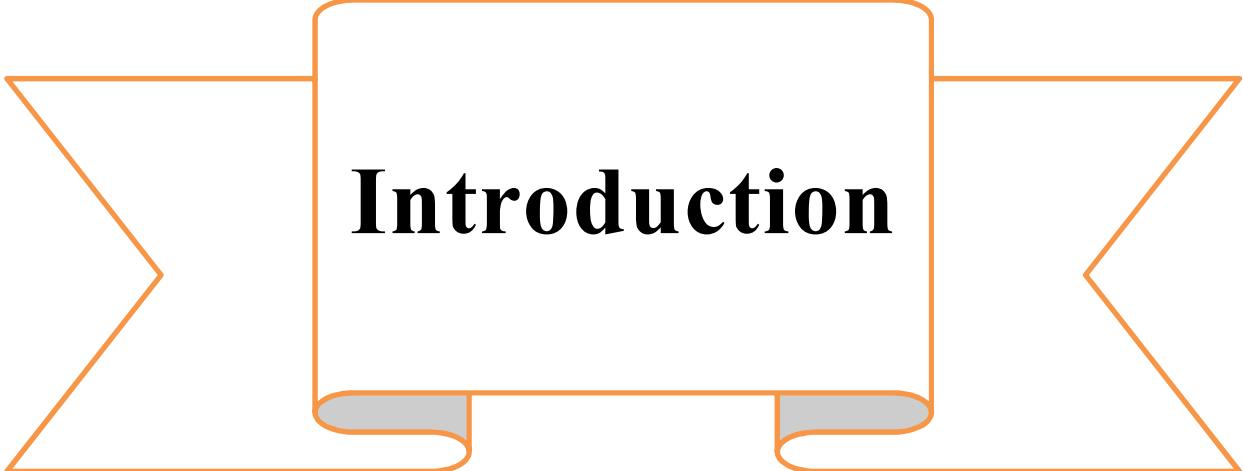
Liste des tableaux

Tableau 1: le marché mondial de blé millions de tonnes à 2020/2025 (FAO 2025).....	5
Tableau 2: Les variétés de blé tendre étudié.....	19
Tableau 3: Les microsatellites utilisés pour estimer le potentiel génétiques de face aux maladies fongiques chez le blé tendre.....	21
Tableau 4: Quantités d'ADN extraites des 11 génotypes étudiés et rapports de pureté.....	24
Tableau 5: Trois niveaux de regroupement observés.....	37

Sommaire

Titre	Page
Introduction	1
CHAPITRE I : Revue bibliographique	
1. Historique et génétique du blé tendre	2
1 .1 Origine géographique	2
1.2 Origine génétique	3
2. Importance économique de la culture du blé tendre	4
2.1 Production du blé tendre dans le monde	5
2.2 Production du blé tendre en Afrique	5
2.3 Production du blé tendre en Algérie	6
3. Effets de stresss abiotiques et stresss biotiques à la production de blé tendre	7
3.1 Les stresss abiotiques	7
3.2 Les Stresss biotiques	8
3.2.1 Les Maladies fongiques	8
4. Méthodes de lutte contre les maladies fongiques	13
4 .1 Lutte chimique	13
4.2 Lutte génétique	13
4.2.1 Résistance génétique	13
4.2.2Amélioration variétale	13
5. Sélection assistée par marqueurs (MAS)	13
5.1 Les marqueurs moléculaires	14
5.2 Avantages de l'utilisation de marqueurs moléculaires	14
5.3 Types de marqueurs moléculaires	14
5 .4 Applications des SSR dans l'amélioration des installations	16
CHAPITRE II : Matériel et Méthodes	
1. Matériel végétal	19
2. Méthodes	20
2.1. Germination des graines	20
2.2. Extraction de l'ADN génomique	20
2.3. Quantification d'ADN	21
2.4. Évaluation de la qualité de l'ADN	21
2.5. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	21
2.5.1 Mélange réactionnel	21
2. 6. La vérification de l'amplicon PCR	22
2. 7. Analyse la qualité de l'extraction	22
2.8. Méthodologie et principe du Python (clustering hiérarchique)	23
CHAPITRE III : Résultats et discussion	
1. Analyse de la quantification d'ADN	24
1.1 Concentration d'ADN (ng/µL)	24
1.2 Rapport d'absorbance 260/280	25
1.3 Rapport d'absorbance 260/230	25
2. Contrôle de la qualité d'ADN extrait	25
3. Analyse et interprétation des résultats d'électrophorèse	26
3.1 Résultats de l'amplification de Barc8	27
3.2 Résultats de l'amplification deWMC44	28
3.3 Résultats de l'amplification deWMC405	29

3.4 Résultats de l'amplification de GWM425	30
3.5 Résultats de l'amplification de PSP2999	31
3.6 Résultats de l'amplification de PSP3000	32
3.7 Résultats de l'amplification de BARC133	33
3.8 Résultats de l'amplification de CFA2040	34
4. Classification hiérarchique ascendante (Dendrogram)	36
CONCLUSION	38
Références bibliographiques	39
Annexes	I



Introduction

Le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) est l'une des principales cultures céralières dans le monde, constituant une source alimentaire de base pour des milliards de personnes. Il joue un rôle crucial dans la sécurité alimentaire mondiale en raison de sa grande valeur nutritive et de son adaptabilité à divers environnements agro-climatiques (**Curtis et al., 2002**).

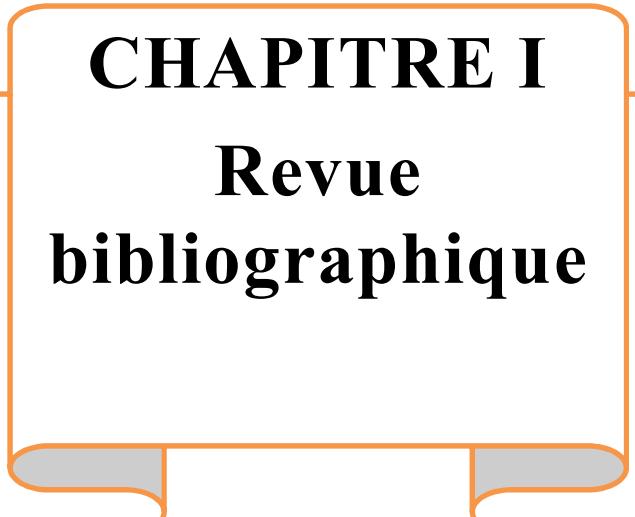
Cependant, la production du blé est continuellement menacée par divers stress biotiques, notamment les maladies fongiques telles que la rouille jaune (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*), la rouille brune (*Puccinia triticina*), la rouille noire (*Puccinia graminis*), et l'oïdium (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*), qui peuvent entraîner des pertes de rendement significatives, dépassant parfois 50 % en cas d'épidémie sévère (**Singh et al., 2016**).

La lutte contre ces maladies repose principalement sur l'utilisation de variétés génétiquement résistantes. La résistance génétique constitue une stratégie durable, économique et respectueuse de l'environnement comparée à l'usage intensif de fongicides. Toutefois, l'efficacité de cette résistance peut être compromise par l'évolution rapide des pathogènes, ce qui rend indispensable l'identification et l'introduction continue de nouvelles sources de résistance dans les programmes de sélection (**McIntosh et al., 2013**).

Dans ce contexte, l'utilisation des marqueurs moléculaires, notamment les microsatellites ou *SSR* (*Simple Sequence Repeats*), s'est imposée comme un outil puissant pour la caractérisation génétique des variétés de blé et pour la détection des gènes de résistance. Ces marqueurs sont codominants, hautement polymorphes et bien répartis dans le génome, ce qui en fait des candidats idéaux pour l'analyse de la diversité génétique, la cartographie des gènes d'intérêt et la sélection assistée par marqueurs (**Roder et al., 1998**).

L'analyse du polymorphisme génétique au sein d'une collection de génotypes de blé tendre permet d'estimer la variabilité génétique disponible, de détecter les allèles favorables liés à la résistance, et d'identifier les variétés pouvant être utilisées comme géniteurs dans les programmes d'amélioration génétique. Elle permet également de mieux comprendre les relations génétiques entre les variétés locales et introduites, ainsi que leur potentiel adaptatif face aux maladies fongiques .

Ainsi, le but de cette étude est de réaliser une analyse moléculaire d'une collection de variétés de blé tendre à l'aide de marqueurs *SSR* afin d'étudier le polymorphisme génétique existant entre les génotypes et d'estimer leur potentiel génétique de résistance aux maladies fongiques. Cette approche intégrée permettra de valoriser les ressources génétiques locales et introduites et de contribuer à la mise en place de stratégies de sélection durable contre les agents pathogènes fongiques.



CHAPITRE I

Revue bibliographique

1. Historique et génétique du blé tendre

1.1. Origine géographique

L'origine géographique du blé tendre (*Triticum aestivum L.*) se situe principalement dans le Croissant fertile, une région qui englobe des parties de l'actuelle Turquie, de la Syrie, du Liban, de la Jordanie, de Palestine et de l'Irak. Cette région est considérée comme l'un des principaux centres d'origine de l'agriculture, où la domestication des céréales, y compris le blé, a eu lieu entre la fin de l'Épipaléolithique et le début du Néolithique, il y a environ 10 000 ans. Le blé tendre est le résultat de l'hybridation et de la sélection de plusieurs espèces de blés, notamment des blés diploïdes et tétraploïdes, qui ont évolué dans cette région. Les archéologues estiment que la culture du blé dans le Croissant fertile a commencé entre 8900 et 7000 av. J.-C., ce qui a permis l'émergence de l'agriculture et, par conséquent, le développement des premières civilisations. Au fil du temps, le blé tendre s'est diffusé vers d'autres régions, notamment l'Eurasie et l'Afrique, et a été introduit en Amérique par les colonisateurs européens au XVI^e siècle. Cette expansion géographique a contribué à la diversité des variétés de blé cultivées dans le monde aujourd'hui (Bonjean, 2002).

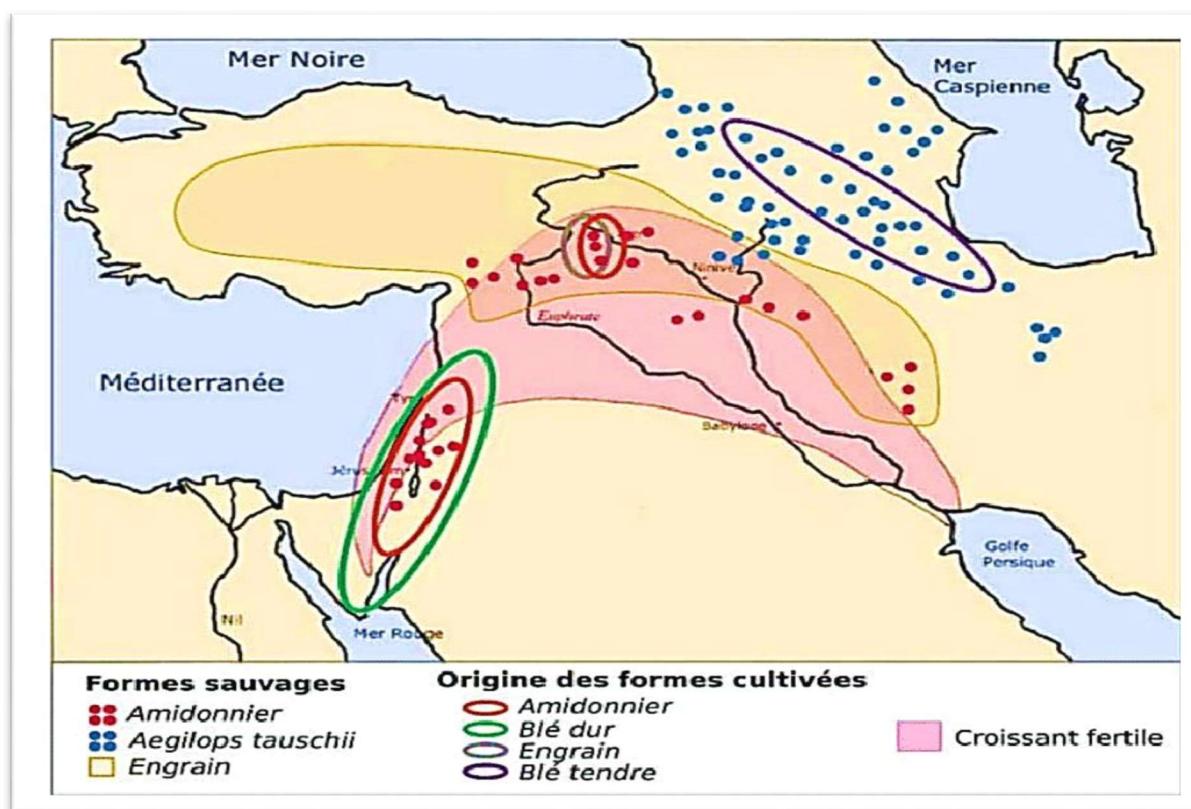


Figure 1 : L'origine géographique des blés cultivés (Dubcovsky et Dvorak, 2007).

La figure 01 montre la distribution approximative des formes sauvages d'amidonner

(*T. turgidum* spp *dicoccoïdes*) et d'*Aegilops tauschii* est représentée par des points et celle d'engrain est représentée par la zone jaune. Les zones cerclées correspondent aux régions putatives d'origine des formes cultivées d'amidonner, de blé dur, d'engrain et de blé tendre. Adapté de **Dubcovsky et Dvorak (2007)**.

➤ **En Algérie**

Le blé tendre (*Triticum vulgare*) est cultivé depuis longtemps en Algérie, sa croissance étant attestée depuis plusieurs siècles. Les principales régions de culture du blé tendre se situent dans le nord, notamment dans les plaines de la Mitidja et de l'Ouarsenis, où le climat humide est propice à la production céréalière. Les variétés locales de blé tendre se sont adaptées à la diversité des conditions climatiques et pédologiques du pays, influencées par les pratiques agricoles traditionnelles et les échanges commerciaux avec d'autres régions méditerranéennes, contribuant ainsi à la diversité génétique et à la durabilité de la production de blé en Algérie. (**Abdeguerfi et L'amour, 2000**).

1.2. Origine génétique

L'origine génétique du blé tendre (*Triticum aestivum* L.) est complexe et résulte de l'hybridation de plusieurs espèces de blés au cours de l'histoire.

Espèces ancestrales : Le blé tendre est une espèce hexaploïde, ce qui signifie qu'il possède six ensembles de chromosomes. Il est dérivé de l'hybridation entre deux espèces de blés plus anciennes : le blé dur (*Triticum turgidum*) et le blé sauvage (*Aegilops tauschii*). Cette hybridation a permis l'acquisition de caractéristiques génétiques favorables à la culture.

. **Domestication** : La domestication du blé tendre a eu lieu dans le Croissant fertile, où les ancêtres sauvages des blés cultivés étaient présents. Les premières formes de blé cultivé étaient principalement des blés diploïdes et tétraploïdes, qui ont ensuite évolué pour donner naissance au blé tendre. Les recherches archéologiques et génétiques montrent que les ancêtres du blé tendre ont été domestiqués entre 8900 et 7000 av. J.-C.

. **Hybridation et polyploidie** : Le blé tendre est le résultat d'un processus d'hybridation complexe, impliquant des événements de polyploidie (duplication des ensembles de chromosomes) qui ont permis l'accumulation de traits bénéfiques. Ce processus a favorisé la diversité génétique et l'adaptabilité du blé tendre à différents environnements.

. **Sélection et amélioration** : Au fil des siècles, le blé tendre a été soumis à des pratiques de sélection par les agriculteurs, qui ont favorisé les variétés présentant des rendements plus élevés, une résistance aux maladies et une meilleure qualité de grain. Ces pratiques

ont contribué à façonner le patrimoine génétique du blé tendre tel que nous le connaissons aujourd’hui. (**Bonjean, 2002**).

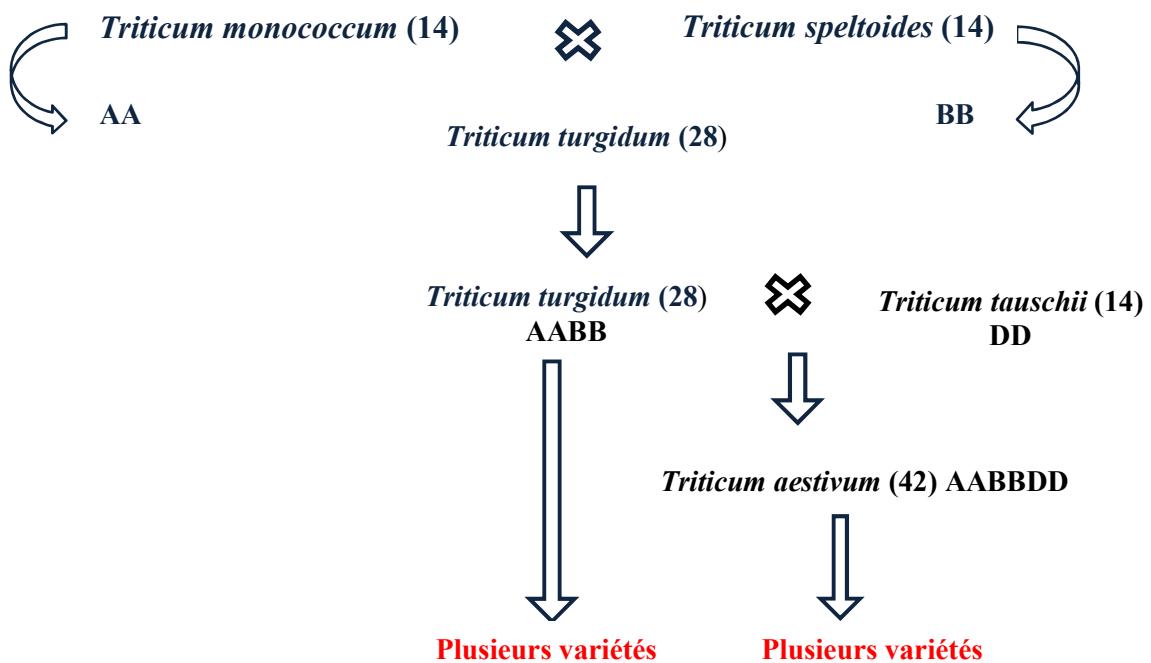


Figure 2 : Schéma de l'origine génétique du blé tendre (*Triticum aestivum* L.) À partir de l'hybridation de plusieurs espèces de blés.

2. Importance économique de la culture du blé tendre

Le blé est un élément fondamental de l'alimentation humaine et joue un rôle crucial dans l'agriculture mondiale. Aliment de base pour des milliards de personnes, il est également un ingrédient essentiel de divers produits alimentaires comme le pain et les pâtes. Sa culture répandue sous divers climats et types de sols contribue significativement aux revenus des agriculteurs et au commerce agricole international. Les progrès de la recherche génétique, notamment grâce au séquençage du génome, renforcent la résilience du blé aux maladies et aux défis climatiques, favorisant ainsi la sécurité alimentaire et des pratiques agricoles durables, essentielles pour répondre aux besoins d'une population mondiale croissante. . (**Appels et al., 2023**).

2.1. Production du blé tendre dans le monde

Le blé tendre est l'une des céréales les plus cultivées à l'échelle mondiale. Il a évolué au fil des ans pour répondre à la demande croissante due à l'augmentation de la population mondiale et à l'évolution des habitudes alimentaires. En 2015/2016, la production mondiale de blé tendre a atteint 731,8 millions de tonnes, enregistrant une augmentation de 5 % par rapport à la campagne précédente. (**Zettal, 2017**).

Tableau 1: le marché mondial de blé millions de tonnes à 2020/2025 (**FAO. 2025**)

Années	Production	Disponibilités	Utilisation	Commerce
2020/2021	775,1	1057,7	763,0	190,6
2021/2022	780,8	1070,2	773,0	197,9
2022/2023	807,0	1100,2	772,8	202,0
2023/2024	789,0	1112,3	797,2	209,6
2024/2025 (prévision)				
<u>_Précédente (6déc-2024)</u>	788.9	1105.4	796.3	198.3
<u>_dernière (7févr-2025)</u>	788.6	1106.2	797.2	196.7

Les principaux producteurs mondiaux de blé tendre sont principalement situés dans des régions où le climat et les pratiques agricoles sont favorables.

- 1. Chine :** Avec une production annuelle de plus de 130 millions de tonnes
- 2. Inde :** Environ 100 millions de tonnes par an
- 3. Russie :** Environ 72 millions de tonnes par an
- 4. États-Unis :** Environ 51 millions de tonnes par an
- 5. France :** Le plus grand producteur de blé en Europe avec environ 39 millions de tonnes par an. (**Escale de nuit, 2024**).

2.2. Production du blé tendre en Afrique

L'Afrique, bien qu'étant un grand consommateur de blé, reste déficitaire en matière de production. Le blé a été introduit en Afrique par différentes voies, notamment par l'Égypte il y a plus de 6000 ans, puis s'est répandu vers d'autres régions comme le Soudan, l'Éthiopie, la Libye et l'Algérie. Toutefois, en raison des conditions climatiques et du manque d'infrastructures agricoles modernes, la production locale reste insuffisante pour répondre à la demande croissante. L'Afrique est donc un importateur majeur de blé, notamment de l'Union européenne et de la Russie (**Ghiti, 2020**).

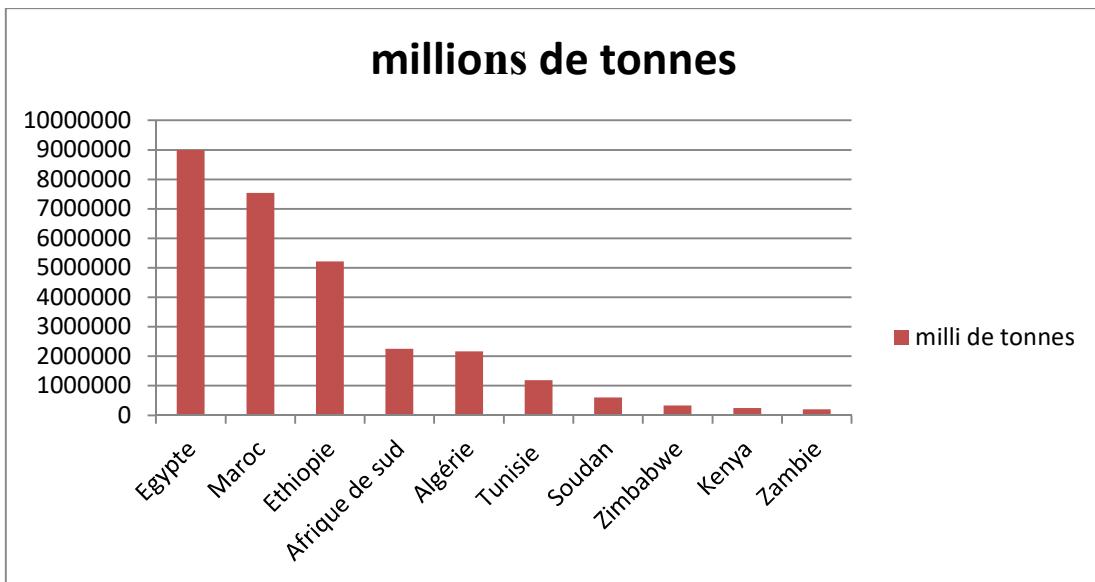


Figure 3 : Les principaux états d'Afrique producteurs de blé en 2021 .par ATLASOCIO.COM .2023

2.3. Production du blé tendre en Algérie

Le blé tendre (*Triticum aestivum*) est essentiel à l'économie et à la nutrition Algériennes. Il constitue un aliment de base, principalement pour la fabrication du pain, source essentielle de glucides. Sa culture soutient les économies rurales et la sécurité alimentaire, bénéficiant aux agriculteurs et aux activités agricoles. Par ailleurs, la recherche sur les variétés de blé tendre et leurs composés bénéfiques pour la santé gagne en importance, tandis que la production locale contribue à réduire la dépendance aux importations, renforçant ainsi la souveraineté alimentaire et la stabilité face aux fluctuations des marchés mondiaux. **(Meziani et al., 2020).**

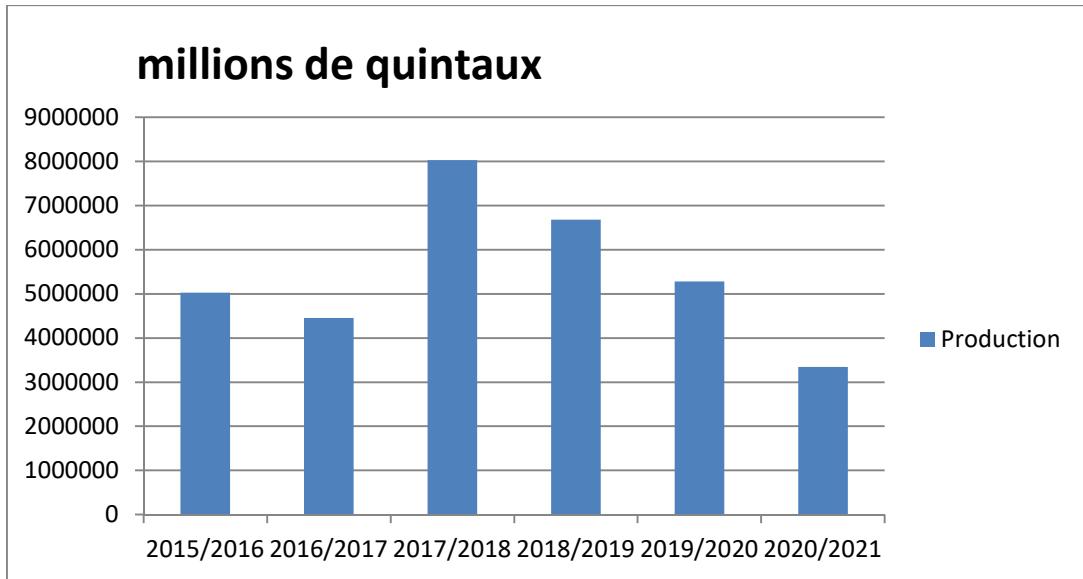


Figure 4 : Le graphique présente l'évolution de la production de blé tendre (**données des rapports de l'ONS.dz .2025**).

3. Effets de stress abiotiques et stress biotiques à la production de blé tendre

3.1. Les stress abiotiques

Le stress abiotique désigne les facteurs environnementaux non biologiques qui exercent une influence néfaste sur la croissance, le développement et la productivité des plantes. Ces facteurs comprennent notamment la sécheresse, la salinité du sol, la température extrême (chaud ou froid), la lumière excessive ou insuffisante, la pollution, et la toxicité des métaux. Ces stress peuvent entraîner des perturbations physiologiques, structurelles et biochimiques chez la plante, affectant ainsi ses capacités à croître et à se reproduire efficacement, (Abhinandan et al., 2018).

- **La sécheresse** a un impact important sur le rendement du blé tendre, car le manque d'eau constitue l'un des principaux freins à sa production dans les régions arides et semi-arides. En provoquant un stress hydrique, elle perturbe les différentes phases de développement de la plante, ce qui réduit la photosynthèse, freine la croissance des racines et diminue la taille des grains, entraînant ainsi une baisse du rendement. (Monneveux et al., 2020).
- **La salinité** désigne l'accumulation excessive de sels solubles dans le sol, principalement des ions sodium (Na^+) et chlorure (Cl^-), mais aussi d'autres ions comme le magnésium (Mg^{2+}) et le sulfate (SO_4^{2-}). Ce stress abiotique altère les propriétés physico-chimiques du sol, réduisant le potentiel hydrique et provoquant une toxicité ionique, ce qui perturbe les processus physiologiques et biochimiques des plantes. (El Sabagh et al., 2021).

- **Stress thermique (chaud/froid)** : Les extrêmes climatiques, tels que les journées de chaleur intense (EHD) et de grand froid (ECD), ont un impact négatif sur le rendement du blé d'hiver. Une augmentation du nombre de journées extrêmement chaudes est fortement corrélée à une baisse du rendement, notamment durant la phase de croissance hivernale, période particulièrement sensible à ce type de stress thermique. De la même manière, une hausse des journées de froid intense entraîne également une diminution du rendement. Donc les températures extrêmes, qu'elles soient élevées ou très basses, peuvent sérieusement compromettre la production du blé d'hiver. (**Yu et al., 2023**).

3.2. Les Stresses biotiques

Le stress biotique désigne les effets négatifs exercés sur les plantes par des organismes vivants tels que les insectes, les champignons, les bactéries et les virus. Ces agents pathogènes peuvent attaquer les plantes, provoquant des symptômes visibles comme le flétrissement, la décoloration et une réduction de la croissance. Dans le cas du blé, ce type de stress peut être causé par des infestations d'insectes comme les pucerons ou par des infections virales, notamment le virus de la mosaïque striée du blé (WSMV) et le virus de la mosaïque du *Triticum* (TriMV). Ce stress biotique compromet la santé des plantes et peut réduire significativement les rendements agricoles, entraînant ainsi des pertes économiques majeures et représentant une menace pour la sécurité alimentaire. (**Higgins et al., 2022**).

3.2.1. Les Maladies fongiques

Les maladies fongiques chez le blé tendre sont des troubles phytopathologiques causés par divers champignons pathogènes qui infectent différentes parties de la plante, telles que les grains, les tiges, les feuilles et les racines. Ces maladies se manifestent généralement par des taches, la nécrose, la brunification, la pourriture ou d'autres lésions, entraînant une détérioration de la croissance, de la qualité des grains, et éventuellement des pertes de rendement importantes. La nature spécifique de chaque maladie dépend du champignon impliqué, comme *Fusarium*, *Alternaria*, ou *Helminthosporium*, dont chacun a ses propres caractéristiques d'infection et de progression. (**Galina LUPAŞCU et al., 2022**).

A. La rouille jaune : est une maladie fongique redoutable causée par *Puccinia striiformis*, qui affecte gravement les cultures de blé à travers le monde. Cette maladie peut entraîner des pertes de rendement significatives, atteignant en moyenne 50 %, et allant jusqu'à 100 % dans les cas les plus graves chez les variétés sensibles.



Figure 5 : La rouille jaune sur les feuilles de blé tendre

Elle s'attaque principalement aux feuilles, aux gaines foliaires, aux arêtes et aux glumes. Les premiers signes de l'infection apparaissent sous forme de taches chlorotiques sur les feuilles, qui évoluent ensuite en pustules de couleur jaune à orange contenant des spores, généralement visibles entre 6 et 8 jours après l'infection. Dans les cas sévères, l'ensemble de la plante peut être touché, entraînant une réduction marquée de la croissance et du rendement. (**Feodorova-Fedotova et Bankina, 2018**).

B. La rouille brune, également connue sous le nom de rouille de la tige (stem rust), est une maladie fongique causée par *Puccinia graminis* qui touche le blé. Elle se manifeste par l'apparition de pustules de couleur orange-brun sur les tiges, les feuilles ou les épillets, lesquelles libèrent des *urediniospores* favorisant une propagation rapide de la maladie.



Figure 6 : La rouille brune sur les feuilles de blé tendre

Cette infection compromet la structure de la plante, entraînant une dégradation de ses fonctions vitales et des pertes de rendement importantes si elle n'est pas rapidement maîtrisée. Les symptômes apparaissent fréquemment sur les tiges, pouvant provoquer leur rupture prématuée, ce qui limite le transport de la sève et affecte directement la production de grains. En plus de réduire la vigueur de la plante, la rouille brune altère également la

qualité de la récolte. (Genaev et al., 2021).

C. La rouille noire, également appelée rouille de la tige, est une maladie fongique grave du blé causée par *Puccinia graminis f. sp. tritici*, un pathogène redouté pour sa capacité à provoquer d'importantes pertes de rendement. Elle se manifeste par des pustules allongées, appelées urédies, qui ressemblent à des cloques et apparaissent principalement sur les gaines foliaires, mais aussi sur les tiges, les feuilles, les glumes et les arêtes des plants de blé. Ces pustules se rompent au fil du temps, libérant des spores rouge brunâtre facilement dispersées, puis deviennent brun foncé à noires à mesure que la plante atteint sa maturité, d'où le nom de « rouille noire ». Historiquement,



Figure 7 : La rouille noire sur la tige et les feuilles de blé tendre

Cette maladie a provoqué des épidémies dévastatrices dans de nombreuses régions productrices de blé, étant capable de ruiner complètement des cultures qui semblaient en bonne santé, réduisant les plantes à un enchevêtrement de tiges cassées et de grains ratatinés peu de temps avant la récolte. (Singh et al., 2008).

D. La fusariose : est une maladie des plantes causée par des champignons du genre *Fusarium*, qui touchent un large éventail de cultures, notamment les céréales comme le blé. Cette infection peut entraîner une baisse importante du rendement et de la qualité des grains. Les principales espèces responsables de la fusariose envahissent les tissus végétaux et produisent des mycotoxines, substances toxiques nuisibles aussi bien pour les plantes que pour les animaux. Les symptômes incluent une décoloration, un flétrissement et une pourriture des tissus. Chez le blé, la maladie se manifeste notamment par la fusariose de l'épi, qui détériore les épis et réduit la qualité des grains récoltés. En plus de l'impact agronomique,



Figure 8 : La fusariose sur l'épi de blé tendre

La fusariose altère fortement les caractéristiques biochimiques et rhéologiques du blé, provoquant une diminution de la teneur en gluten humide, de la teneur en protéines et de l'indice de chute, des paramètres essentiels pour la qualité de la farine et ses performances en boulangerie. (**Beli et al., 2017**).

E. L'oïdium : est une maladie fongique courante qui affecte le blé tendre, provoquée par le champignon *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Bgt*). Elle se manifeste par une croissance poudreuse blanche à la surface des feuilles, des tiges et parfois des épis, rendant les symptômes facilement observables à l'œil nu. Au fur et à mesure que l'infection progresse, ces taches blanches s'étendent, entraînant un jaunissement, un flétrissement foliaire, et dans les cas sévères, la mort prématuée des plants, surtout lorsque l'infection survient à un stade juvénile.



Figure 9 : L'oïdium sur les feuilles de blé tendre

Le Développement de la maladie est favorisé par des conditions climatiques spécifiques, notamment les environnements chauds et secs, bien qu'elle puisse également proliférer dans les régions froides et humides. Des facteurs agronomiques tels qu'une forte densité de semis, une fertilisation azotée excessive et une mauvaise aération des parcelles contribuent également à la gravité de l'infection. Le champignon se dissémine principalement par voie aérienne, ce qui facilite sa propagation rapide à travers les cultures.

L'impact de l'oïdium est significatif, car il réduit la surface photosynthétique active, limitant ainsi la production d'assimilats, ce qui conduit à une baisse du rendement en grains ainsi qu'à une diminution de leur qualité nutritionnelle. (**Gao et al., 2018**).

F. La septoriose : est une maladie fongique qui affecte le blé, spécifiquement causée par le pathogène *Septoria tritici*. Il est connu pour prospérer dans les zones de haute altitude pendant la saison des pluies,



Figure 10 : La septoriose sur les feuilles de blé tendre

La maladie peut entraîner des pertes de rendement importantes dans les cultures de blé. Elle affecte les feuilles, ce qui peut réduire la capacité de la plante à effectuer une photosynthèse efficace, ce qui a finalement un impact sur la production de céréales. (**Rodríguez Contreras et al., 2010**).

4. Méthodes de lutte contre les maladies fongiques

4 .1. Lutte chimique

La lutte chimique désigne l'utilisation de produits chimiques, tels que les fongicides, insecticides et herbicides, pour contrôler les maladies, les ravageurs et les mauvaises herbes dans les cultures. Dans le cadre de la culture du blé, la lutte chimique est particulièrement importante en raison des pertes économiques potentiellement élevées causées par les maladies fongiques

Efficacité des fongicides Les fongicides sont conçus pour cibler divers champignons pathogènes, comme ceux causant des maladies de la racine, de la tige et de la tête du blé. Par exemple, les fongicides évalués dans l'étude comprennent Carboxin + Thiram, Diniconazole, Iprodione, et Tolclofos-méthyl + Thiram, chacun ayant montré une efficacité variable contre les agents pathogènes (**El-Ballat et al., 2016**).

Bien que les fongicides soient efficaces, leur utilisation prolongée peut entraîner la résistance des pathogènes, ainsi que des préoccupations écologiques et économiques. Par conséquent, il est recommandé d'intégrer des méthodes alternatives, comme le contrôle

biologique avec des agents tels que *Trichoderma* et *Bacillus subtilis*, afin de réduire la dépendance aux solutions chimiques (**Sameer, 2019**).

4.1. Lutte génétique

La lutte génétique contre les maladies fongiques chez le blé tendre repose sur l'utilisation de variétés résistantes et de techniques modernes pour réduire les impacts des pathogènes

4.1.1. Résistance génétique

Les variétés de blé tendre sont sélectionnées pour leur capacité à résister aux maladies comme la rouille brune, la septoriose ou le fusarium. Ces résistances sont souvent basées sur des gènes spécifiques identifiés grâce à des marqueurs moléculaires (**ARVALIS, 2015**).

4.1.2. Amélioration variétale

Les programmes de sélection assistée par marqueurs permettent de développer des variétés adaptées aux conditions locales et aux pressions pathogènes. (**ARVALIS, 2015**).

5. Sélection assistée par marqueurs (MAS)

La sélection assistée par marqueurs (MAS) est une technique de sélection moderne qui utilise des marqueurs d'ADN spécifiques pour sélectionner des plantes présentant des caractéristiques souhaitables, plutôt que de se fier uniquement à des caractéristiques observables. Cette méthode améliore l'efficacité et la précision des programmes de sélection

Dans le MAS, les sélectionneurs identifient d'abord les loci de caractères quantitatifs (QTL) associés à des caractères importants, tels que la qualité et le rendement. Une fois ces marqueurs établis, ils peuvent être utilisés pour sélectionner des plantes qui possèdent les traits génétiques souhaités, accélérant ainsi le processus de sélection (**Khoshro et Abdi, 2023**).

5.1. Les marqueurs moléculaires

Les marqueurs moléculaires sont des séquences spécifiques d'ADN qui peuvent être utilisées pour identifier des gènes ou des traits particuliers chez les plantes. Ils servent d'outils aux sélectionneurs de plantes pour sélectionner plus efficacement les plantes présentant les caractéristiques souhaitables. (**Yadav, 2022**).

5.2. Avantages de l'utilisation de marqueurs moléculaires

- **Précision** : elles fournissent un moyen plus précis de sélectionner les caractères par rapport aux méthodes de sélection traditionnelles, qui reposent sur des observations phénotypiques.
- **Rapidité** : Les techniques moléculaires peuvent réduire considérablement le temps

nécessaire au développement de nouvelles variétés en permettant une sélection précoce dans le processus de sélection.

- **Diversité** : ils aident à explorer la diversité génétique présente dans les collections de matériel génétique, qui peut être cruciale pour améliorer les caractéristiques du blé (**Yadav, 2022**).

5.3 .Types de marqueurs moléculaires

Plusieurs types de marqueurs moléculaires sont utilisés dans la sélection du blé, notamment :

- _ **RAPD (ADN polymorphique amplifié au hasard)** : un type de marqueur précoce qui a été largement remplacé en raison de problèmes de reproductibilité.
- _ **RFLP (Les polymorphismes de longueur des fragments de restriction)** : sont un type de marqueur moléculaire utilisé dans l'analyse génétique. Ils impliquent des variations de la longueur des fragments d'ADN produits par la digestion de l'ADN avec des enzymes de restriction spécifiques. (**Assiri et al., 2024**).
- _ **AFLP (signifie Polymorphisme de longueur de fragment amplifié)** : il s'agit d'une technique de marquage moléculaire qui combine deux méthodes clés : l'analyse des fragments de restriction et la réaction en chaîne par polymérase (PCR). Cette combinaison permet aux chercheurs de détecter des variations dans les séquences d'ADN chez différents
- _ **SSR (Simple Sequence Repeats)** : elles sont hautement polymorphes et peuvent détecter directement la diversité génétique. Cependant, leur reproduction pratique est limitée en raison de leur distribution inégale dans le génome.
- _ **SNP (polymorphismes nucléotidiques uniques)** : type de variation génétique le plus courant, les SNP sont très stables et peuvent être détectés facilement. Ils sont aujourd'hui largement utilisés dans les études génétiques et les programmes de sélection. (**Song et al., 2023**).
- _ **STS (Sequence-Tagged Sites)** : Ces marqueurs sont développés à partir de séquences spécifiques du génome et peuvent être utilisés pour identifier des gènes particuliers. (**Song et al., 2023**).
- _ **Diversity-Array Technology (DaRT)** : un type spécifique de marqueur moléculaire connu sous le nom de DaRT a été utilisé. Cette technologie permet le génotypage d'un grand nombre de variantes génétiques du génome du blé, ce qui facilite l'identification de marqueurs associés à des caractéristiques importantes telles que le rendement et la résistance à la sécheresse. (**Hashem et al., 2023**).

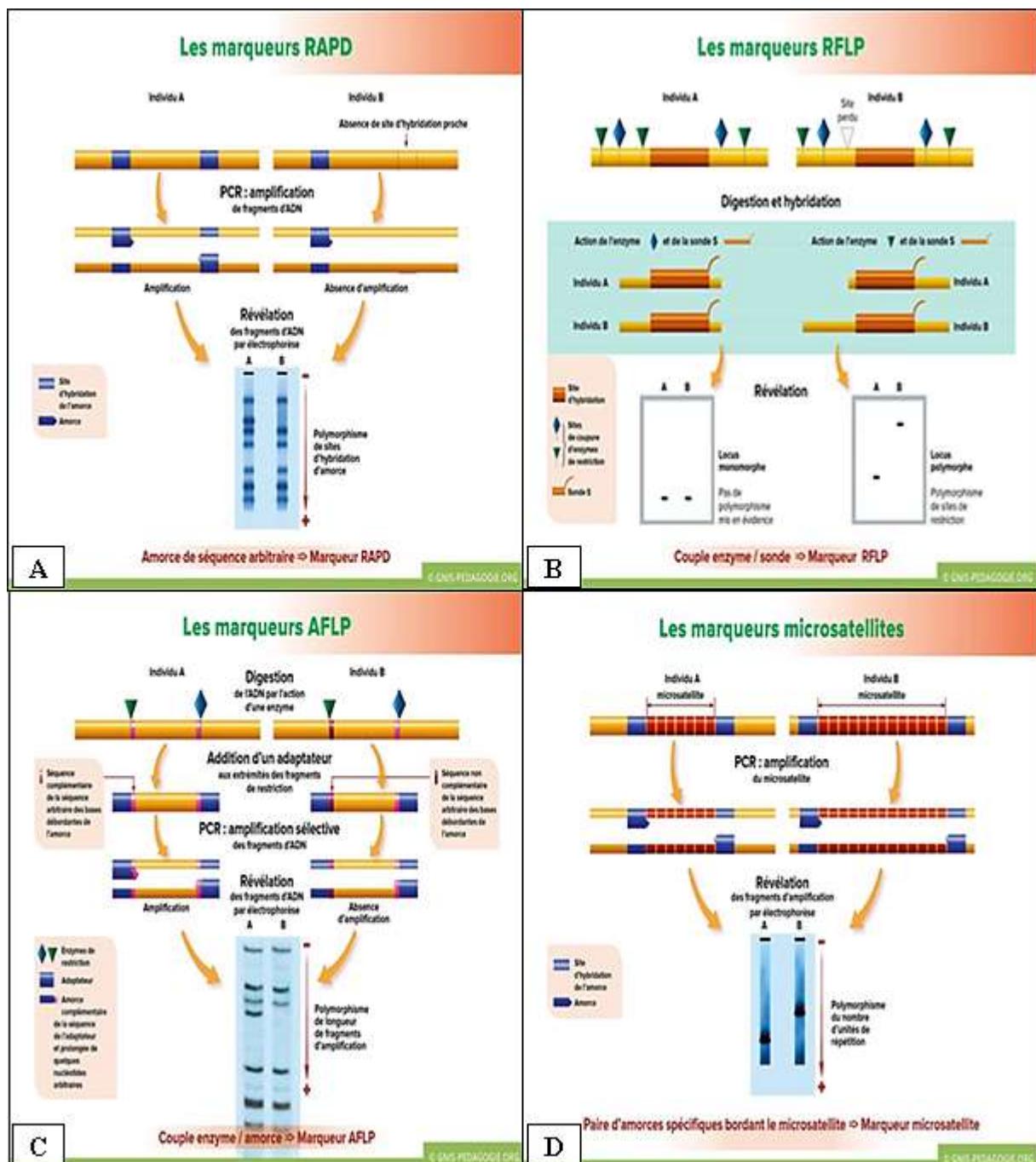


Figure 11 : Techniques de marqueurs moléculaires (RESSOURCES PÉDAGOGIQUES DE LA FILIÈRE SEMENCES) : (A) RAPD ; (B) RFLP ; (C) AFLP ; (D) SSR.

5.4. Applications des SSR dans l'amélioration des installations

L'utilisation de répétitions de séquences simples (SSR) dans l'amélioration des plantes constitue une avancée significative dans le domaine de la sélection moléculaire, car elle constitue un outil robuste pour l'analyse génétique et l'amélioration des cultures.

- Diversité génétique et cartographie :** Les SSR sont largement utilisés pour évaluer la diversité génétique et établir des cartes génétiques, qui sont cruciales pour comprendre l'architecture génétique des cultures et identifier les

caractéristiques agronomiquement importantes (**Srivastava et al., 2023**).

- **Sélection assistée par marqueurs (MAS)** : les marqueurs SSR facilitent la MAS en permettant aux sélectionneurs de sélectionner plus efficacement les plantes présentant les caractéristiques souhaitables, accélérant ainsi le processus de sélection (Szúcko et al., 2012).
- **Analyse quantitative des loci de caractères (QTL)** : les SSR sont utiles pour la cartographie des QTL, car ils aident à identifier les régions génomiques associées à des caractères spécifiques, qui peuvent être ciblées dans les programmes de sélection (Ahmad et al., 2018).
- **Transférabilité entre les espèces** : les marqueurs SSR présentent souvent une transférabilité interspécifique, ce qui permet leur utilisation dans un large éventail d'espèces végétales, élargissant ainsi leur applicabilité pour l'amélioration des cultures (Ahmad et al., 2018) .
- **Marker-assisted backcrossing (MAC)** : Cette technique consiste à introgresser un ou plusieurs traits désirés d'une variété donneuse dans une variété receveuse, en utilisant des SSR pour suivre la transmission du locus d'intérêt, assurant ainsi une sélection précise et rapide.
- **Amélioration du rendement et résistance aux maladies** : Par la sélection basée sur des marqueurs, cela réduit le besoin de tests phénotypiques laborieux ou dépendants de conditions environnementales, accélérant ainsi le développement de nouvelles variétés résistantes ou productives.
- **Études de diversité génétique** : Elles aident à préserver la diversité génétique essentielle pour la résilience des cultures, en guidant la sélection de génotypes variés pour éviter la consanguinité ou la perte de traits précieux (Kalia et al., 2010).
- **Polymorphisme élevé** : La variation dans le nombre de répétitions de motifs SSR à un locus donne une grande diversité d'allèles entre différents individus, ce qui en fait des marqueurs très polymorphes.
- **Mémoire co-dominante** : Les SSR permettent de distinguer à la fois les allèles de chaque parent, facilitant l'étude de la généalogie et la diversité génétique.
- **Distribution ubiquitaire** : Présents dans les régions codantes et non codantes du génome, ainsi que dans les génomes chloroplastiques et mitochondriaux, ils sont dispersés à travers tout le génome.

- **Facilité de détection par PCR :** La polymorphie en longueur due au nombre variable de répétitions se repère aisément par polymérase en chaîne (PCR), rendant la technique rapide et reproductible.
- **Abondance :** Leur haute fréquence dans le génome permet une couverture étendue et efficace dans les analyses génétiques.
- **Coût-efficacité et reproductibilité :** Leur développement et leur utilisation sont relativement peu coûteux et reproductibles, ce qui en fait une méthode privilégiée pour l'analyse génétique à grande échelle. Applications multiples : Utile en cartographie génétique, étude de la diversité, discrimination variétale, sélection assistée par marqueurs, etc.
- **Transferabilité inter-espèces :** La capacité de transférer certains SSR entre espèces proches, ce qui facilite leur utilisation dans différentes espèces végétales.
(Kalia et al., 2010) (Guichoux et al., 2011).

Le but de cette étude est de réaliser une analyse moléculaire d'une collection de variétés de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) à l'aide de marqueurs microsatellites (SSR), afin d'étudier le polymorphisme génétique existant entre les génotypes, et d'estimer leur potentiel génétique de résistance aux maladies fongiques. Cette approche permettra d'identifier des génotypes présentant une variabilité génétique intéressante pouvant être valorisés dans les programmes de sélection variétale et de lutte contre les agents pathogènes fongiques.



CHAPITRE II

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est composé de 11 variétés (Tableau 02) de blé tendre (*Triticum aestivum* L.), incluant des génotypes locaux, des génotypes issus de programmes de sélection, ainsi que des génotypes d'origine étrangère. Ces variétés ont été sélectionnées en fonction de leur importance agronomique, leur adaptation aux conditions locales, et leur potentiel de résistance aux maladies fongiques. La liste des variétés étudiées est répartie comme suit :

- Génotypes d'origine étrangère : Courtot et Chinese Spring
- Génotypes issus de programmes de sélection et locaux : Arz, Boussaloum, Tidis, Akhamokh, Hidhab, El Hachimia, Ain Abid, Massine et Yacine.

Tableau 2 : Liste des variétés de blé tendre étudiées.

Variétés	Origine	Pédigrée	Obtenteur	Année d'inscription	Résistance aux maladies			
					R	F	O	SP
Chinese spring	Chine	N/D	Chine INRA France	1940	N/D	N/D	N/D	N/D
Courtot	INRA France	Hardi, 1969	INRA France	1974	N/D	N/D	N/D	N/D
Boussaloum	Algérie	Ecotype 'Arris' Batna	Variété locale	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Hidabe	Mexique	D1220/*Kal/NalCM 40454	CIMMYT ITGC/Sétif	1985	--	-	++	-
Tidis	Mexique	BUCKBUCK/FLICKER //MYNA/ VULTURE	CIMMYT /KHROUB	2014	+++	+	+	+
El-Hachimia	Mexique	Kachu#1//Wbll*2/Kukuna	CIMMYT /KHROUB	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Massine	Mexique	PFAU/SERI-82//(SIB)BOBWHITE	CIMMYT /KHROUB	2014	+++	+++	+	+
ARZ	Mexique	MAYO 54/LR64//TACs "/3/LR64//TZPP/Y54	CIMMYT /KHROUB	1978	-	++		
Ain Abid	Espagne	AS81189 A'	CIMMYT ITGC/Sétif	1986	++	N/D	N/D	-
Akhamoukh	Mexique	IRENA/BABAX//PASTOR CMSS96M05638T-040Y-010S-010M-010S-4M-0Y	CIMMYT /KHROUB	2014	+++	+++	+	+
Yacine	Mexique	Oasis/Skauz//4*BCN*2/3/Pastor	CIMMYT /KHROUB	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D

N/D : Non Déterminé, R : Rouille, F : Fusarios, O : Oïdium et SP : Septoriose.

2. Méthodes

2.1. Germination des graines

Les graines des 11 variétés de blé tendre ont été préalablement désinfectées à l'aide de l'eau de javel diluée à 1/3 pendant 10 minutes, puis rincées trois fois avec de l'eau distillée stérile afin d'éliminer toute contamination fongique ou bactérienne. Après désinfection, les graines ont été placées dans des boîtes de Pétri contenant du papier filtre humidifié avec de l'eau distillée. Les boîtes ont été incubées dans une chambre de culture à une température de 25 ± 2 °C, avec une photopériode de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité. Après 7 à 10 jours, les jeunes plantules au stade de 2 à 3 feuilles ont été récoltées. Les feuilles fraîches ont été récoltées et immédiatement broyage à l'azote liquide. La poudre végétale ainsi obtenue a été conservée à -80 °C.



Figure 12 : La culture in vitro des graines de blé tendre

2.2. Extraction de l'ADN génomique

L'extraction de l'ADN a été réalisée selon la méthode décrite par (Edwards K *et al* ; 1991) qui est une méthode simple et efficace adaptée pour les analyses PCR (**Annexe 01**).

2.3. Quantification d'ADN

La quantification de l'ADN a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre de type *NanoDrop*, qui permet d'évaluer simultanément la concentration et la pureté de l'échantillon d'ADN.

En commence par la calibration de l'appareil avec de l'eau ultra-pure et on dépose ensuite 1,5 μ L d'échantillon d'ADN sur la microcellule du *NanoDrop*.

La lecture des absorbances se fait automatiquement et les résultats finaux sont affichés après calcul par le logiciel intégré.

2.4. Évaluation de la qualité de l'ADN

La qualité et l'intégrité de l'ADN extrait ont été évaluées par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8 % (**Annexe 02**). Un volume de 5 μ L d'ADN a été mélangé à 1 μ L de tampon de charge contenant des colorants de migration, permettant le suivi visuel de la migration. Les mélanges

ont été déposés dans les puits du gel, en parallèle avec un marqueur de poids moléculaire (ladder ADN 1 kb, voir Annexe 03), puis la migration a été effectuée sous une tension de 100 V pendant 30 minutes. L'ADN a ensuite été visualisé sous lumière UV à l'aide d'un trans-illuminateur. Cette étape permet de vérifier la présence d'ADN génomique intact, d'estimer son degré de dégradation ainsi que la contamination éventuelle par l'ARN.

2.5. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La technique de polymérisation en chaîne (PCR) a été utilisée pour amplifier les fragments d'ADN spécifiques à l'aide d'amorces spécifiques aux marqueurs microsatellites utilisés.

2.5.1. Mélange réactionnel

La PCR a été réalisée dans un volume final de 10 µL qui contient les composants essentiels au déroulement de la PCR (Annexe 04).

Les marqueurs SSR choisis pour notre étude sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Les microsatellites utilisés pour estimer le potentiel génétiques face aux maladies fongiques chez le blé tendre.

	Locus	Location sur chromosome	Gène d'intérêt
M 1	Barc 8	1B	&
M 2	PSP 2999	1A	Pm3g
M 3	PSP 3000	1B	Yr10
M 4	Xwmc44	1B	Yr29
M 5	Barc 133	6B	FHB1
M 6	CFA 2040	7A	Yr67 /Yr34
M 7	GWM 425	2B	Yr29/ Lr46
M 8	WMC 405	6B	Yr36

Yr : Yellow rust resistance (rouille jaune)

Fhb : Fusarium head blight resistance

Pm : Powdery mildew resistance (oïdium)

Lr : Leaf rust resistance (rouille brune)

Les amorces ainsi que les températures d'hybridation correspondantes utilisées dans notre analyse sont présentées en (Annexes 05).

2.6. La vérification de l'amplicon PCR

La vérification se fait par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5 %, afin d'évaluer la présence, la taille et la qualité des fragments d'ADN amplifiés. Pour cela, on prépare un gel en dissolvant 1,5 g d'agarose dans 100 mL de tampon TBE 0,5X, puis on chauffe jusqu'à dissolution complète. Après refroidissement à environ 60 °C, on ajoute un agent intercalant le bromure d'éthidium. Le gel est ensuite coulé dans un moule équipé d'un peigne pour former des puits, puis laissé à solidifier. Une fois le gel prêt, il est placé dans une cuve contenant du tampon TBE 0,5X. Les échantillons PCR, mélangés à un tampon de chargement, sont déposés dans les puits avec une échelle de poids moléculaire (100pb DNA ladder **voir Annexe 07**). L'électrophorèse est lancée à une tension de 100 volts pendant 45 minutes. Après migration, le gel est observé sous lumière UV pour visualiser les bandes d'ADN (**Annexe 06**).

2.7. Analyse la qualité de l'extraction

Les tailles de bande ont été déterminées à l'aide du logiciel *GelAnalyzer 23.1* a sur un ordinateur en analysant les images d'électrophorèse sur gel (**Annexe 08**).

GelAnalyzer : est une application de bureau pour l'évaluation d'images d'électrophorèse sur gel 1D offrant une gamme de fonctionnalités qui répondent à la plupart des défis de la pratique en laboratoire, notamment :Prétraitement d'images par rotation et recadrage fins de l'image. Détection automatique de voie avec paramètres configurables et de bande (pic) avec paramètres configurables (**Lazar, 2023**).

PIC : Le contenu informatif sur le polymorphisme (PIC) est une métrique précieuse utilisée pour évaluer le niveau de polymorphisme des marqueurs génétiques.

Faibles valeurs PIC (0 à 0,25) : suggèrent que le marqueur n'est pas très informatif et peut présenter un polymorphisme limité. Cela pourrait indiquer que le marqueur est principalement homozygote dans la population. Valeurs PIC modérées (0,25 à 0,5) : indiquent un niveau modéré de polymorphisme, ce qui suggère que le marqueur peut fournir des informations utiles sur la variation génétique. Valeurs PIC élevées (0,5 à 1) : reflètent un niveau élevé de polymorphisme, indiquant que le marqueur est très informatif et peut distinguer efficacement les différents génotypes. Cela est particulièrement utile dans des études telles que les études d'association pangénomique (GWAS) où la compréhension de la diversité génétique est cruciale (**Roy et al., 2023**)**(Annexe09)**.

2.8. Méthodologie et principe du Python

Le dendrogramme a été construit en utilisant les paramètres suivants :

- Chaque génotype a été comparé à tous les autres.
- La distance minimale = plus grande proximité génétique.
- Les résultats sont issus d'un clustering hiérarchique basé sur les distances entre profils alléliques binaires (**Annexe10**).

Élément	Description
Données d'entrée	Matrice binaire 0/1 représentant la présence ou l'absence d'allèles (SSR markers) pour chaque variété.
Distance utilisée	Distance Euclidienne ($\sqrt{(\sum (x_i - y_i)^2)}$) — adaptée aux données continues ou binaires.
Méthode de liaison	Ward's method – minimise la variance intra-cluster, souvent utilisée pour les données génétiques.
Outil logiciel	Analyse réalisée en Python

CHAPITRE III

Résultats et discussion



1. Analyse de la quantification d'ADN

La quantification de l'ADN a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre de type *NanoDrop*, Le *NanoDrop* : est un spectrophotomètre basé sur l'absorbance UV, utilisé pour quantifier l'ADN à partir de faibles volumes (1–2 µL). La concentration est mesurée à 260 nm, tandis que la pureté est estimée par le rapport A260/A280. Un rapport proche de 1,8 indique généralement un ADN pur, tandis qu'un rapport plus bas suggère une contamination protéique (**Thermo Fisher Scientific. 2012**).

Les résultats de dosage d'ADN figurent dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Quantités d'ADN extraites des 11 génotypes étudiés et rapports de pureté.

Génotypes	Nucleic Acid Concentration (ng/µL)	Ratio 260/280	Ratio 260/230
<i>Chinese spring</i>	789.3	2.02	1.74
<i>Courtot</i>	538.5	1.97	1.8
<i>Boussaloum</i>	633.5	1.98	2.12
<i>Hidabe</i>	240.9	2.02	1.71
<i>Tidis</i>	2446.5	2	1.99
<i>El Hachimia</i>	397.7	1.95	1.76
<i>Massine</i>	232.2	1.73	0.82
<i>Arz</i>	881.1	1.94	1.77
<i>Ain Abid</i>	324.2	1.99	2.09
<i>Akhamoukh</i>	209	1.88	1.01
<i>Yacine</i>	253.7	1.85	1.31

1.1. Concentration d'ADN (ng/µL)

Les concentrations varient fortement d'une variété à l'autre.

-La concentration la plus élevée est observée chez Tidis (2446,5 ng/µL), indiquant une extraction très efficace.

-Les concentrations les plus faibles sont chez Akhamoukh (209 ng/µL) et Massine (232,2 ng/µL).

-Ces valeurs ont été utilisées pour ajuster les échantillons à une concentration de 200 ng/ μ L pour la PCR, en diluant avec un volume d'eau distillée stérile indiqué dans la colonne QH₂O μ L (**Annexe 08**).

1.2. Rapport d'absorbance 260/280

-Ce rapport évalue la pureté de l'ADN, un bon ADN a un ratio proche de 1,8 – 2,0.

-Tous les échantillons ont un rapport acceptable, ce qui indique une faible contamination en ARN:

Chinese spring = 2.02 (très pur) Massine = 1.73 (légère contamination possible)

1.3. Rapport d'absorbance 260/230

-Ce ratio évalue la contamination par des sels, phénol ou autres solvants. La valeur idéale est autour de 2.0 – 2.2.

-Certains échantillons montrent une bonne pureté :

Boussaloum = 2.12

Ain Abid = 2.09

-D'autres échantillons présentent des contaminations légères :

Massine = 0.82 (forte contamination possible).

Yacine = 1.315 (contamination possible).

En résumé ; l'extraction a été globalement réussie avec de bonnes concentrations et une pureté satisfaisante. Tous les ADN ont été dilués à 200 ng/ μ L pour une uniformité dans les réactions PCR.

2. Contrôle de la qualité d'ADN extrait

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode essentielle pour séparer et visualiser des fragments d'ADN en fonction de leur taille moléculaire. Grâce à la charge négative de l'ADN due aux groupes phosphate, les molécules migrent sous l'effet d'un champ électrique du pôle négatif (cathode) vers le pôle positif (anode). Le gel d'agarose, en tant que matrice poreuse, joue un rôle de tamis moléculaire, facilitant le passage rapide des petits fragments tandis que les fragments plus grands progressent plus lentement. Dans cette étude, un gel d'agarose à 0,8% a été employé pour évaluer l'intégrité de l'ADN génomique extrait de différentes variétés de blé tendre, vérifier sa qualité avant son utilisation pour la PCR et comparer les profils de migration des échantillons. (**Sambrook et Russell, 2012**). (figure 13)

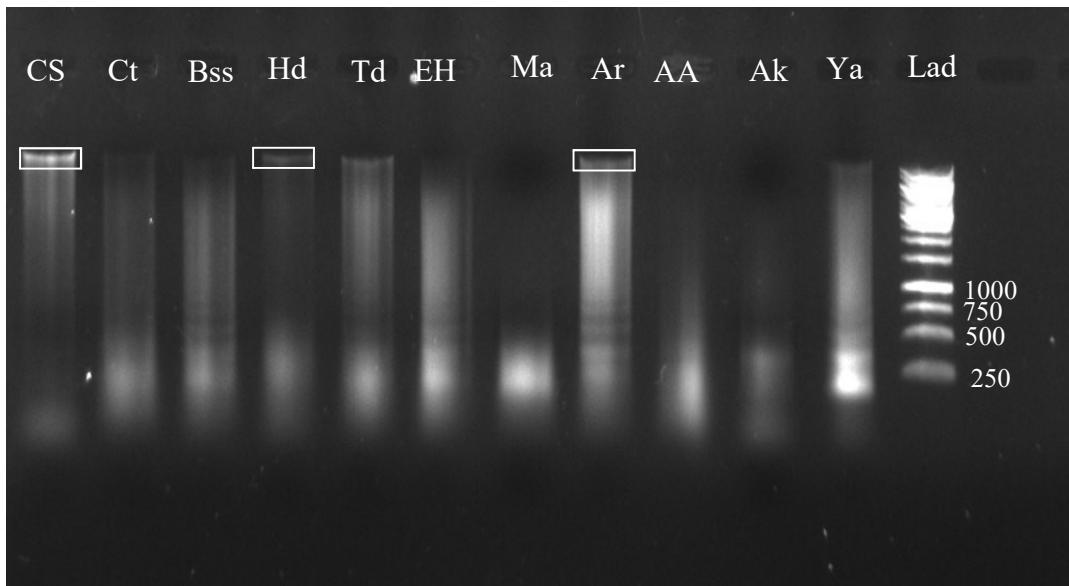


Figure 13 : Analyse de la qualité d'extraction des ADN de 11 génotypes de blé tendre par électrophorèse sur gel d'agarose à 0.8%. /30min à 100 V.

On observe des puits contenant des bandes d'ADN génomique présentant une intensité variable. Les bandes correspondant à de l'ADN de bonne qualité sont bien définies, situées en haut du puits, au-dessus des bandes du marqueur de taille, et montrent une faible migration. En revanche, certains puits révèlent la présence d'ADN fragmenté, se manifestant par des traînées diffuses s'étendant vers le bas du gel.

Un extrait d'ADN génomique de bonne qualité est celui qui apparut en bande haute supérieure à toutes les bandes du marqueur de tailles et qui ne migre pas loin des puits.

Corrélation avec les mesures spectrophotométriques

Les variétés Tidis, Arz, Chinese Spring ont montré de fortes concentrations avec des bonnes puretés r_{260/280} égal à 2, présentent également des bandes nettes et intenses sur le gel de qualité (**figure 13**).

Les variétés Massine, Yacine ou Akhamoukh, qui avaient une faible concentration et/ou un faible ratio 260/230, montrent ici des bandes plus faibles ou floues, confirmant une qualité d'ADN plus faible ou contaminée.

3. Analyse et interprétation des résultats d'électrophorèse

Évaluation la diversité génétique entre 11 variétés de blé tendre à l'aide des marqueurs microsatellite, associées aux gènes de résistance aux des maladies fongiques. Cette approche permet de détecter la présence/absence de l'allèle cible et d'évaluer le polymorphisme inter-variétal.

3.1. Résultats de l'amplification du Barc8

L'électrophorèse sur gel d'agarose montre des profils de bandes obtenus après amplification par PCR avec le marqueur microsatellite Barc8. Ces profils permettent de discriminer les variétés en fonction de la taille des fragments amplifiés, ce qui reflète le polymorphisme génétique au niveau des loci ciblés.

Des bandes claires et nettes sont visibles chez la plupart des variétés.

Certaines variétés présentent deux bandes (Courtot, Tidis et Arz,) d'autres une seule (Boussaloum, Hidab, El-hachimia, Massine, Ain-Abide et Yacine), et quelques-unes aucune (Chinese spring et Akhamoukh) (**Figure 14**)

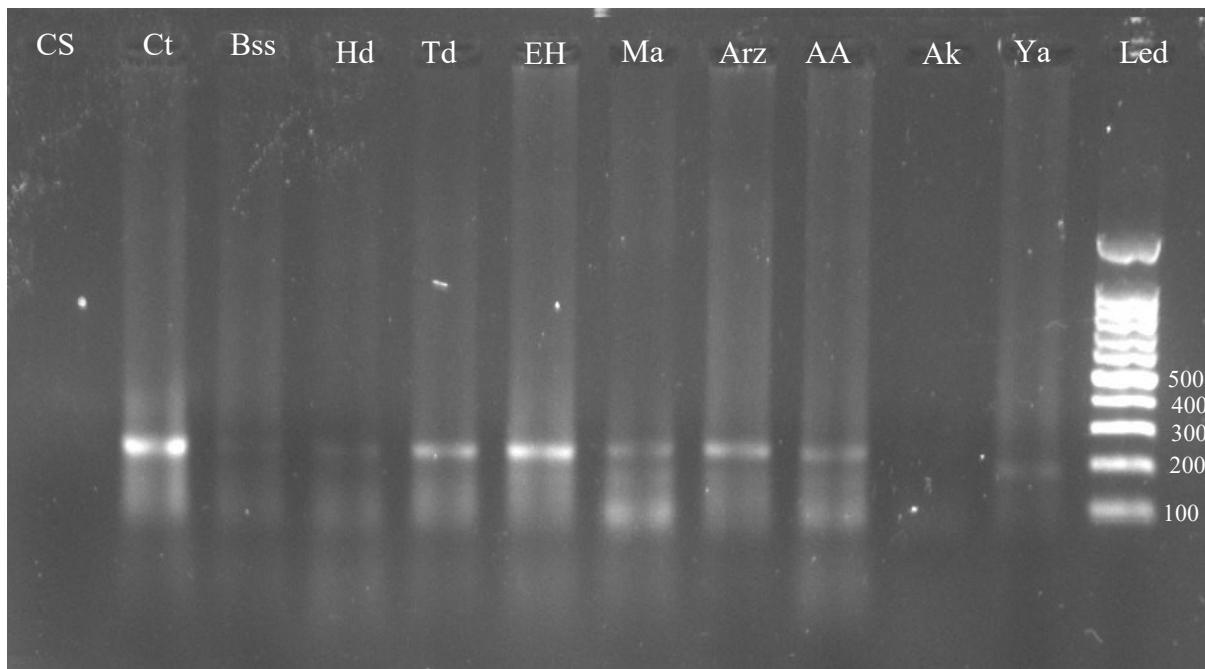


Figure 14 : Vérification de l'amplification du locus Barc8 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pendant 45min.

Le marqueur Barc8, étroitement lié au gène de résistance Yr15, amplifie un fragment d'environ 260 pb chez les génotypes porteurs du gène. L'absence de bande ou l'apparition de bandes à des tailles différentes peut indiquer l'absence du gène, un polymorphisme, ou des problèmes techniques. (**Rani et al., 2019**).

Selon la littérature, la bande indicative du gène Yr15 est généralement située autour de 260 Pb, tandis que les bandes observées chez les variétés possédant ce gène se situent à des tailles proches 260pb « Courtot, Boussaloum et Hidab », traduisant une variation allélique avec corrélation directe à la résistance.

Les bandes obtenues varient de 184 Pb à 254 Pb, ce qui indique un polymorphisme important entre les variétés testées. Cette variabilité pourrait refléter des formes alléliques différentes du locus amplifié par Barc8, mais ne permet pas d'affirmer la présence du gène Yr15.

L'absence de bande dans certains cas (Akhamouhke et Chinese spring) peut être due à un échec d'amplification, à une absence de site de liaison du primer.

La présence de deux bandes chez certaines variétés (Courtot, Tidis et Arz) et d'une seule bande chez d'autres et l'absence des bandes cela indique qu'il existe un polymorphisme.

Le marqueur est polymorphe avec une valeur PIC estimée à 0,752, ce qui signifie que ce marqueur est très informatif, (Très informatif).

3.2. Résultats de l'amplification de WMC44

Le profil électrophorétique de ce marqueur présent la plupart des bandes de forte intensité dont la taille varie de 250 à 300 paires de bases, bien que certains cultivars présentent des variations. Certains cultivars (Courtot, Hidabe et Ain-Abid) présentent trois bandes. Boussaloum et Arz en présentent deux. Chinese spring, Tidis, Massine, Akhmoukh et Yacin n'en présentent qu'une seule. Aucune amplification n'a été observée pour El-Hachimia. (Figure 15).

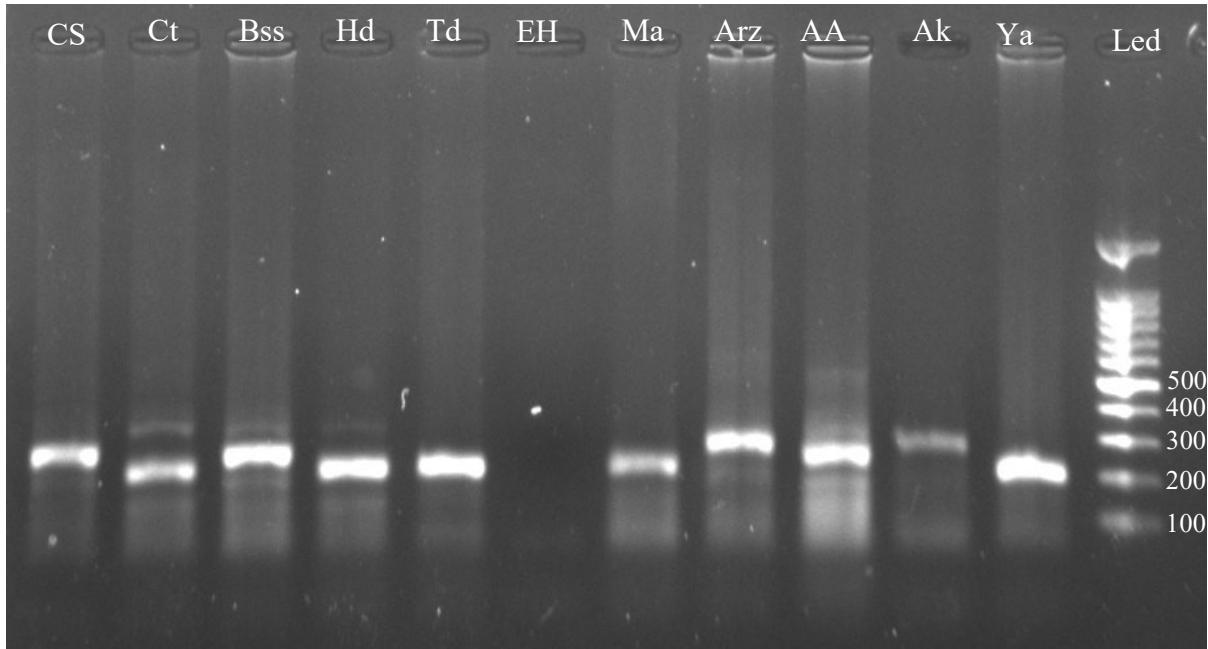


Figure 15 : Vérification de l'amplification du locus WMC44 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pendant 45min.

Le marqueur WMC44 est situé près du gène Lr46 (également connu sous le nom de Yr29 pour la résistance à la rouille jaune et Pm39 pour la résistance à l'oïdium). Lr46 est un gène qui confère une résistance partielle (slow-rusting) à la rouille des feuilles causée par *Puccinia triticina* situé sur le chromosome B1L du blé. Cette résistance est caractérisée par une progression plus lente de la maladie, ce qui contribue à limiter les pertes de rendement. (**Bobrowska et al., 2022**). La taille du gène Lr46 associé au ce marqueur, tel qu'identifié sur le gel d'agarose, est spécifique de 242 Pb, indiquant la présence du gène Lr46 dans les cultivars de blé testés (**Tomkowiak et al., 2020**).

Donc, les variétés Courtot, Hidab, Ain-Abid, indiquant une diversité génétique élevée et la présence potentielle d'allèles multiples du locus détecté par WMC44. Et les variétés Boussaloum et Arz traduisant une possible hétérozygotie (deux allèles distincts). Les variétés Chinese spring, Tidis, Massine, Akhamoukh, Yacine, sont probablement homozygotes, exprimant un seul allèle ou une amplification spécifique. Et pour El-Hachimia, absence probable du site cible du marqueur WMC44 ou problème technique. et les génotypes qui portent ce gène « Massine et Tidis avec de taille 235-231 »

La valeur PIC a été estimée à environ 0,871, ce qui signifie que ce marqueur est très informatif.

3.3. Résultats de l'amplification de WMC405

Le WMC405 fait partie d'un ensemble de marqueurs liés au gène Yr36, qui confère une résistance à la rouille jaune causée par *Puccinia striiformis*. Le gène est situé sur le chromosome 6BS, avec des marqueurs tels que Xgwm88 et Xcf13 le flanquant à des distances de 3,8 et 5,2 cm, respectivement (**Pourkhorshid et al., 2022**).

La taille de bande associée au gène Yr36 avec le marqueur WMC405 est généralement autour de 230 - 250 Pb. (**Roder et al., 1998**) ; (**Pourkhorshid et al., 2022**).

Le profil électrophorétique de ce marqueur présent Les tailles de bande variables (de 184 à 283 pb) indiquent un polymorphisme génétique entre les variétés. Le polymorphisme élevé indique que ce marqueur est adapté pour la sélection assistée par marqueurs (MAS) (**Gupta et al., 1999**). Les variétés ayant des tailles similaires pourraient être génétiquement plus proches à ce locus. Les bandes de 230, 235, 224 et 256 pb (El-Hachimia, Akhmoukh, Yacine, Boussaloum) pourraient représenter un groupe commun, potentiellement relié à la présence d'Yr36.

L'absence de bande chez Arz, peut s'interpréter comme : Un allèle nul (mutation dans le site de liaison des amorces), ou une PCR défaillante (mauvaise qualité d'ADN ou inhibition) (**Collard et al., 2008**), et la taille des fragments sont différents, indique qu'il existe un polymorphisme.

La valeur PIC a été estimée à environ 0,85, ce qui signifie que ce marqueur est très informatif.

(**Figure 16**).

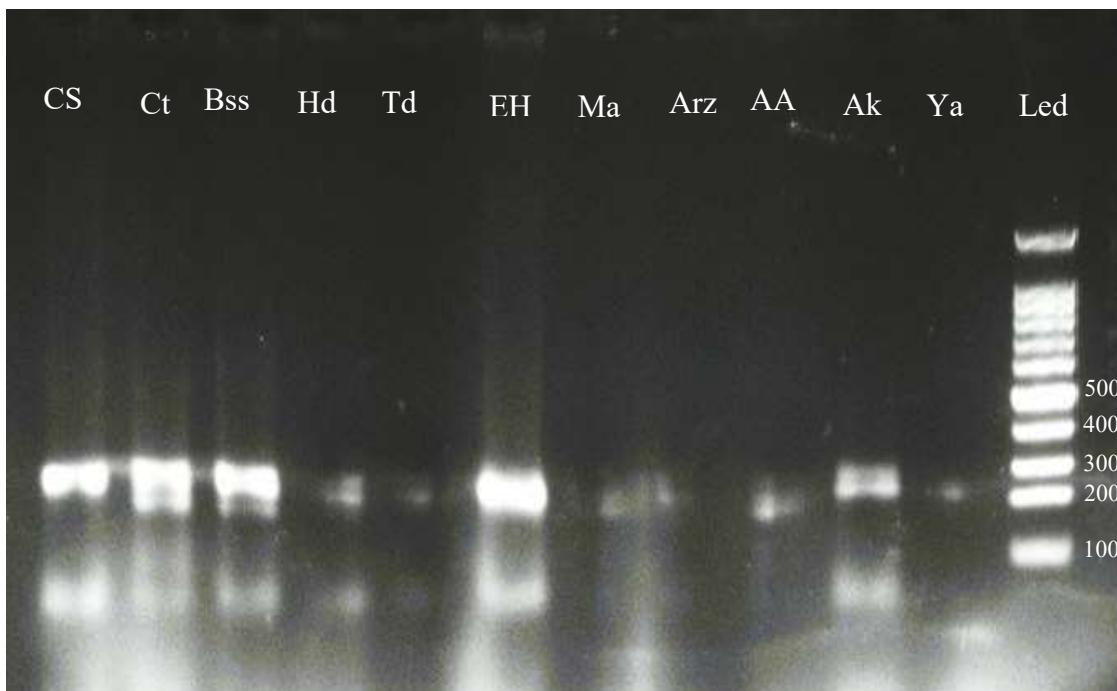


Figure 16 : Vérification de l'amplification du locus WMC405 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pendant 45min.

3.4. Résultats de l'amplification de GWM425

Le marqueur GWM425 situé sur le chromosome 1BL du blé. Il est étroitement lié au gène de résistance Yr29 (appelé aussi Lr46/Yr29/Sr58/Pm39), un gène d'importance pour la résistance à la rouille jaune (la résistance partielle et durable), souvent non spécifique à la race (**Singh et al., 2004**). Ce qui permet son utilisation en sélection assistée par marqueurs (MAS) pour identifier les génotypes porteurs d'Yr29. (**William et al., 2003**) En général, une bande spécifique 120–130 Pb associée à la présence d'Yr29 dans les lignées de référence (Une association claire entre la taille de bande et la présence d'Yr29 doit être validée par des témoins ex. variété Pavon 76, connue pour porter Yr29). (**Rosewarne et al., 2006**).

Le profil électrophorétique de ce marqueur présent : Boussaloum (124 Pb), Hidab (132 pb) El-hachimia, Yacine, Arz et Massine (117pb) probablement porteur d'Yr29 correspond à la

taille typique du fragment associé à la résistance durable. La différence de longueur des bandes indique la présence d'un polymorphisme, Chinese spring : Pas de bande soit allèle nul, soit échec de PCR.

La valeur PIC a été estimée à environ 0,34, ce qui signifie que ce marqueur est moins informatif. (**Figure 17**).

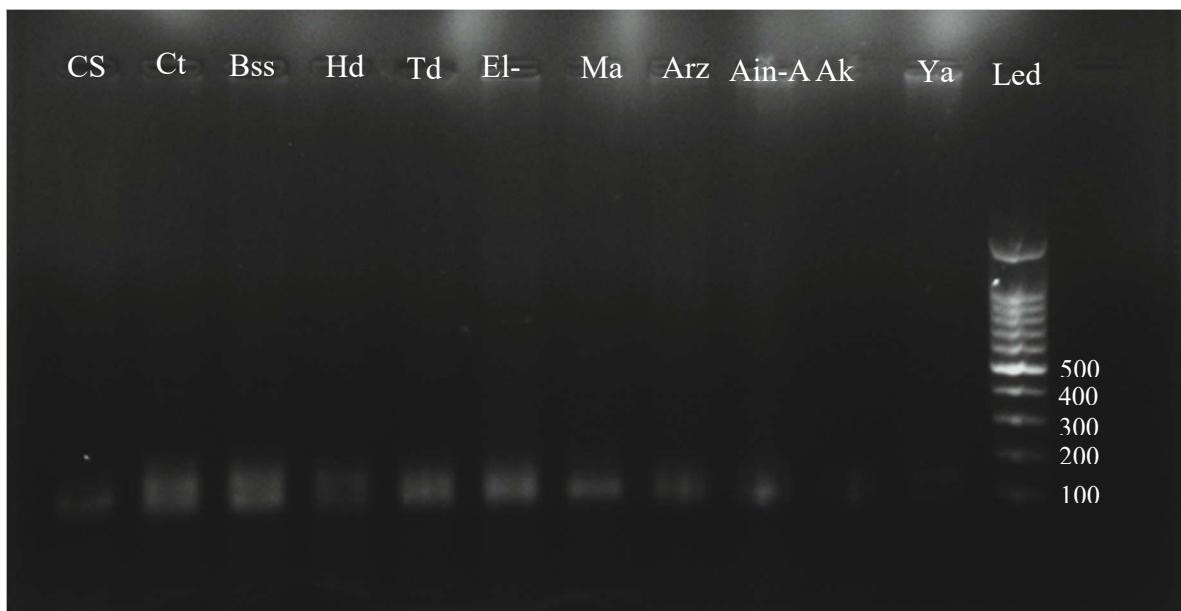


Figure 17 : Vérification de l'amplification du locus GWM425 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pendant 45min.

3.5. Résultats de l'amplification de PSP2999

Dans ce gel électrophoritique, toutes les variétés testées ont montré des bandes visibles après amplification par PSP2999. Les tailles des fragments varient d'une variété à l'autre: hidab, Tidis, El-hachimia, Yacine , Massine étant entre 140 et 150 pb Chinese spring (173 Pb), Courtot (249, 184, 153 pb), Ain-Abid (180, 127 pb), Certaines variétés (Courtot et Ain-A) montrent plusieurs bandes, ce qui peut refléter une hétérozygotie ou des duplications, Toutes ces différences bien sûr sont la diversité génétique. (**Figure18**).

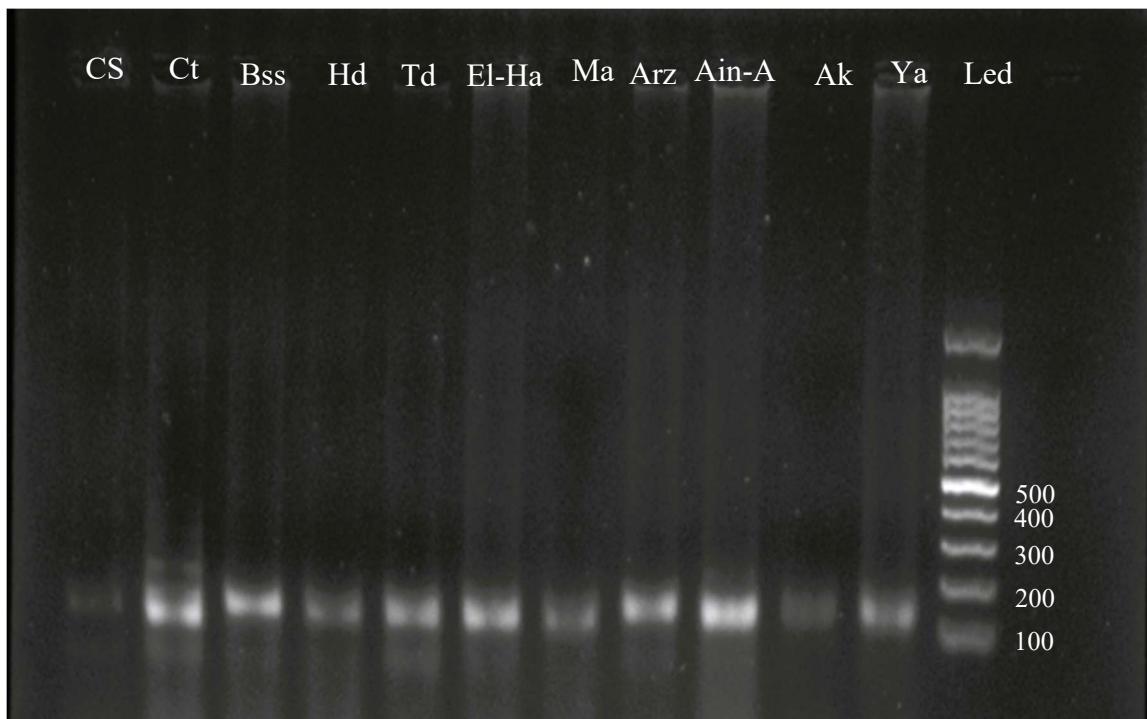


Figure 18 : Vérification de l'amplification du locus PSP2999 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pendant 45min.

PSP2999 est un SSR (microsatellite) polymorphe, utilisé pour révéler des différences de séquences entre variétés .Ce marqueur est lié au gène de résistance à l'oïdium Pm3G chez le blé. Les tailles de bandes associées à l'allèle Pm3g est situé dans un intervalle compris entre environ 140 et 150 Pb, formant un groupe de bandes caractéristique (**Bougot et al., 2002**).

Les variétés Courtot, Hidab, Tidis, El-hachimia, Yacine, Massine, Arz, Akhamoukh étant entre 140 et 150 pb, elles indiquent la présence du gène de résistance. Les variétés hétérozygote (Courtot 3 bandes et Ain Abid 2 bandes) et les autres variétés sont homozygotes.

Le marqueur est polymorphe avec une valeur PIC estimée à 0,824, ce qui signifie que ce marqueur est très informatif (Très informatif).

3.6. Résultats de l'amplification de PSP3000

Le marqueur microsatellite Xpsp3000, localisé sur le bras court du chromosome 1B, est étroitement lié au gène de résistance à la rouille jaune Yr10 chez le blé, à une distance génétique d'environ 1,2 cm. (**Shahn et al., 2024**). L'amplification par PCR de ce marqueur permet de distinguer les génotypes résistants (fragment de 260 pb est associé à la présence du gène Yr10, indiquant une résistance à la rouille jaune) des sensibles (fragment de 240 pb ,

l'absence de Yr10). Cette caractéristique en fait un outil efficace pour la sélection assistée par marqueurs (**Mukhtar et al., 2015**).

Aucune variété dans ce test ne montre clairement une bande de 260 Pb, le génotype Boussaloum (253pb) elle porte le gène Yr10. Les tailles de bandes varient entre 234 pb à 355 pb selon les variétés. Les génotypes hétérozygotes (Courtot, Hidab , Tidis et Ain-Abid avec 2 bandes). Cela indique des allèles différents au locus amplifié par le marqueur PSP3000, (**Figure19**).

La valeur PIC a été estimée à environ 0,85, ce qui signifie que ce marqueur est très informatif. Ce polymorphisme peut servir pour des études de diversité génétique ou pour identifier d'autres gènes d'intérêt.

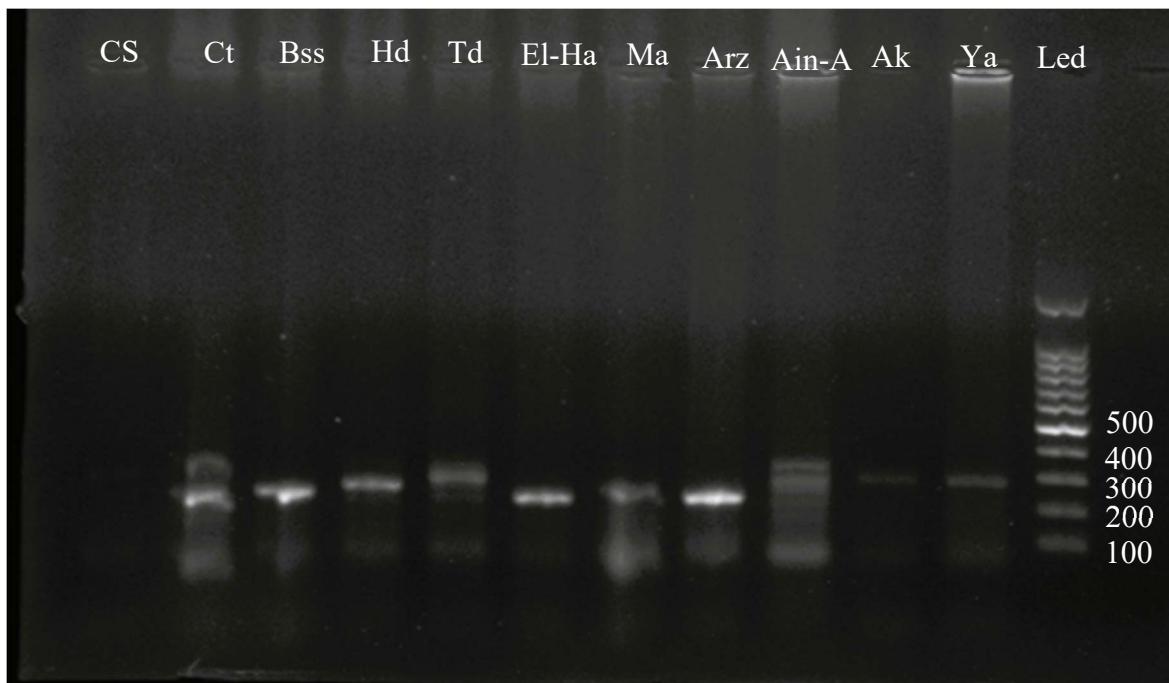


Figure 19 : Vérification de l'amplification du locus PSP3000 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pendant 45min.

3.7. Résultats de l'amplification de Barc133

Le gène Fhb1 est étroitement lié à la résistance à la fusariose de l'épi (*Fusarium Head Blight*) et le marqueur Barc133 est connu pour être étroitement lié à ce locus. Selon la littérature, le fragment spécifique lié à Fhb1 est généralement de ~310 pb (\approx 300-320 pb) lorsque Barc133 est utilisé pour l'amplification. (**Liu et al., 2009**).

Donc, Polymorphisme marqué : La présence de 1 à 2 bandes de tailles variées montre une diversité génétique significative entre les variétés.

Absence chez Chinese spring et Massine : Aucune amplification, pouvant indiquer une absence du locus Barc133 ou un échec technique.

Taille des bandes différente entre variétés : Indique l'existence d'allèles différents ou d'indels autour du site Barc133.

Hétérozygotie probable : Variétés avec 2 bandes (ex : Courtot, Boussaloum et Yacine) pourraient présenter une hétérozygotie ou des duplications.

Variante homozygote : Variétés avec 1 seule bande (El-Hachimia et Akhmoukh) peuvent être homozygotes pour un allèle spécifique. Le fragment de ~310 pb, correspondant à l'amplification attendue pour Fhb1, est observé chez : Courtot (319 pb) et Ain-Abid (314 pb). Le marqueur Barc133 est efficace pour révéler la diversité et identifier des variétés potentiellement porteuses de Fhb1. Le marqueur est polymorphe avec une valeur PIC estimée à 0,875, ce qui signifie que ce marqueur est très informatif. (Très informatif) (**Figure 20**).

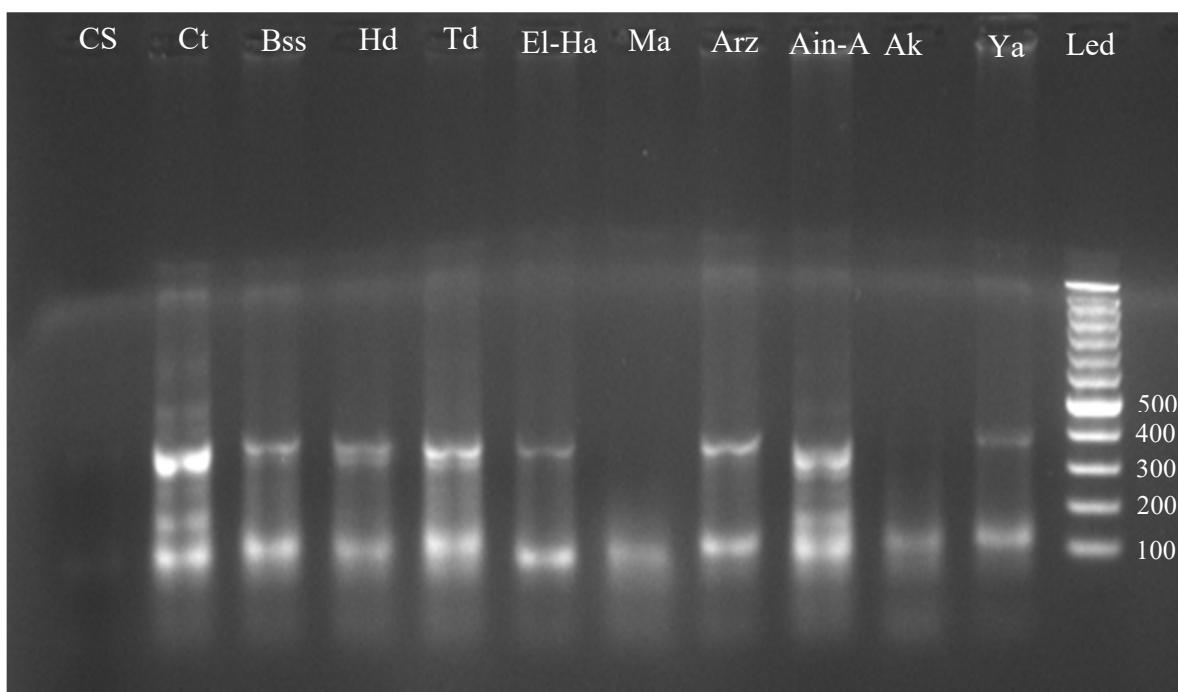


Figure 20 : Vérification de l'amplification du locus Barc133 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pendant 45 min.

1.8. Résultats de l'amplification de CFA2040

Les bandes visibles dans chaque puits correspondent aux fragments amplifiés par le marqueur CFA2040. L'intensité et la position des bandes varient selon les variétés, révélant un polymorphisme entre les génotypes. Les tailles de fragments varient entre 167 pb et 282 pb. Certaines variétés, comme Courtot, El-hachimia, Macine, Ain-Abid, Boussaloum et Hidab,

présentent deux bandes, ce qui suggère qu'elles sont hétérozygotes au locus CFA2040 (ou contiennent deux allèles différents). D'autres, comme Chinese spring, Tidis, Arz, Akhamoukh et Yacine, présentent une seule bande, indiquant une homozygotie apparente pour cet allèle. (**Figure 21**).

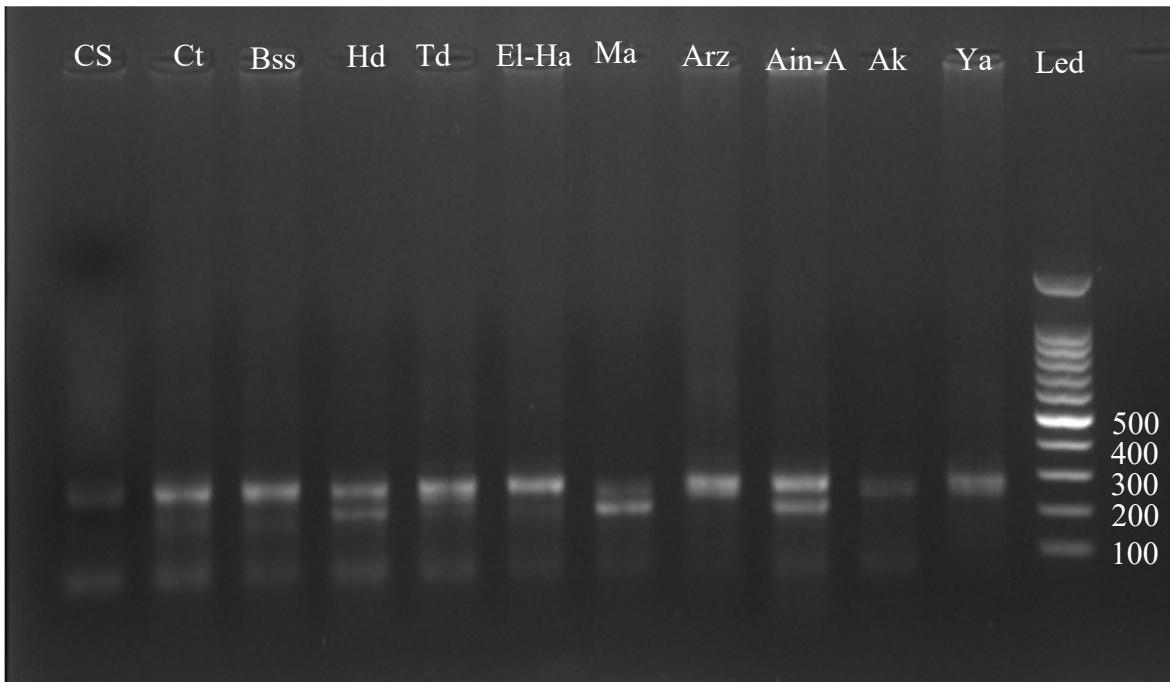


Figure 21 : Vérification de l'amplification du locus CFA2040 de 11 génotypes de blé tendre sur gel d'agarose à 1,5% pendant 45min.

CFA2040 est un marqueur étroitement lié au gène Yr67 (résistance à la rouille jaune), et la bande de 207 Pb est fortement associée au ce gène selon **Randhawa et al., (2015)**. La diversité allélique détectée par ce marqueur est précieuse pour distinguer les génotypes et identifier des marqueurs liés à des gènes d'intérêt. En particulier, la présence d'une bande de 207 Pb dans les variétés Massine et Ain-Abid est associée à la présence potentielle du gène Yr67,

La valeur PIC a été estimée à environ 0,948, ce qui signifie que ce marqueur est très informatif. Ce polymorphisme génétique détecté par CFA2040 démontre donc son efficacité pour la sélection assistée par marqueurs (MAS) dans les programmes d'amélioration génétique ciblant la résistance aux maladies.

Les gènes Lr34 (résistance à la rouille brune) et Yr18 (résistance à la rouille jaune) sont étroitement associés et localisés au même locus sur le chromosome 7DS du blé tendre. Ils

codent pour une protéine de type transporteur ABC, conférant une résistance partielle mais durable à plusieurs pathogènes fongiques.

Il est question d'un marqueur multiplex (cssfr4) qui cible le locus CFA2040 en utilisant une amplification PCR.

PCR multiplex ciblant simultanément les loci Lr34 et csLV34 étroitement liés à l'aide du marqueur cssfr4. Le fragment supérieur est l'allèle non-Lr34 (523 Pb) et les deux bandes inférieures sont les allèles csLV34." Cela indique que la taille de la bande correspondant à l'allèle associé à Yr34 en lien avec CFA2040 est de 523 Pb. Ainsi, la taille de la bande liée au gène Yr34 associé au locus CFA2040 est de 523 Pb. (**Lagudah et al., 2009**).

4. Classification hiérarchique ascendante (Dendrogram)

Le dendrogramme est une représentation graphique en forme d'arbre qui illustre les relations de similarité ou de distance entre des génotypes :

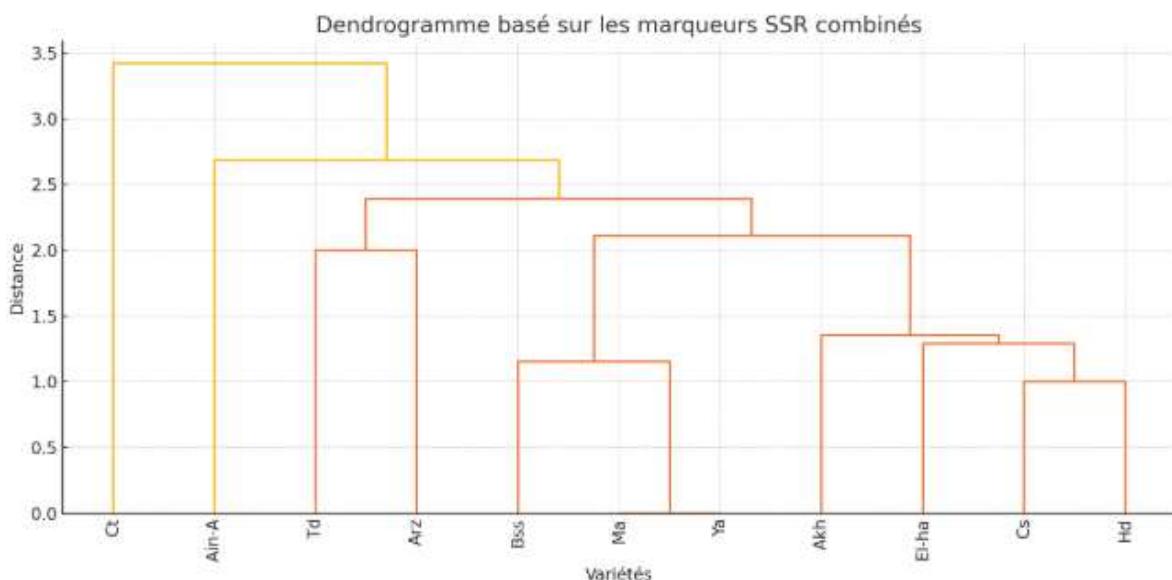


Figure 22 : Dendrogramme montrant la relation de similarité entre 11 variétés de blé tendre (établi à l'aide du logiciel Python).

➤ **Valeur minimale de ressemblance (ou distance maximale) :**

- La distance maximale observée entre deux génotypes est de **3,16**, enregistrée entre **Courtot** et **Tidis** (**Annexe 10**).
- Cela correspond à une ressemblance minimale, c'est-à-dire que ces deux génotypes partagent le moins d'allèles communs parmi tous les couples comparé

Tableau 05 : Les quatre niveaux de regroupement observés.

Niveau	Groupes identifiés	Distance génétique estimée	Interprétation
1^{er} niveau	Courtot (Ct)	≈ 3.0 – 3.16	Génotype le plus éloigné de tous les autres. Profil unique. À privilégier dans les croisements inter-cluster.
2^e niveau	Ain Abid (Ain-A)	≈ 2.7 – 3.0	Isolé du groupe principal, structure intermédiaire entre Ct et les autres. Intéressant pour la diversité génétique.
3^e niveau	Boussaloum (Bss), Massine (Ma), Yacine (Ya), Akh, El-Hachimia (El-ha), Hidab (Hd).	≈ 0.0 – 2.0	Groupe central génétiquement cohérent. Croisements entre membres peu utiles (Ma-Ya = 0.0 « Identique »). Recommandé : sélection intra-groupe ciblée.
4^e niveau	Tidis (Td) – Arz	≈ 2.0 – 2.5	Groupe secondaire avec proximité modérée . Moins relié aux autres. Bon pour la diversification génétique.

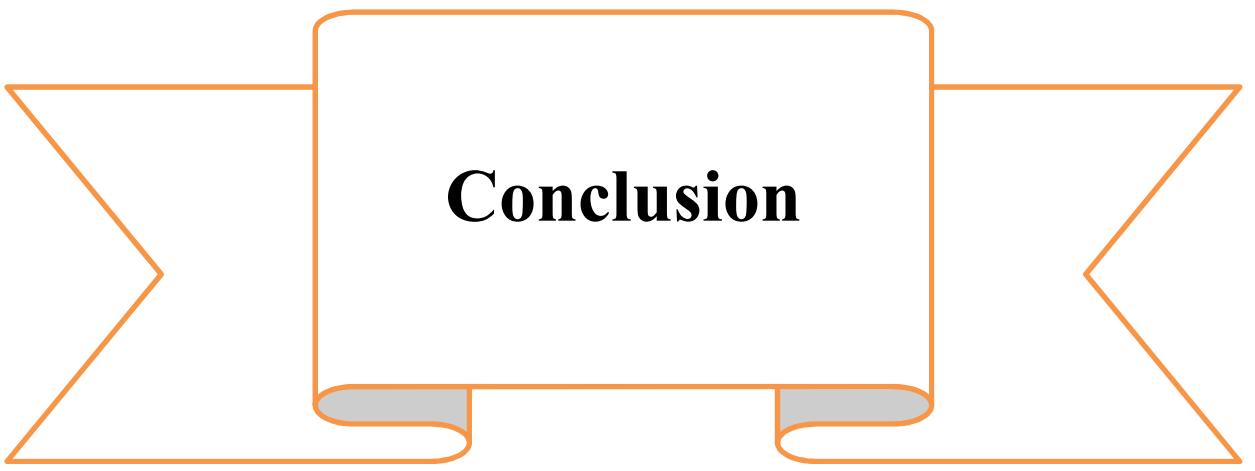
Le génotype Chinese spring est apparu avec le troisième groupe, en raison du manque de bandes d'ADN.

Pour la sélection génétique ; les variétés très proches ne conviennent pas à l'hybridation ensemble, tandis que la séparation des éléments est une bonne source de diversité génétique (**Mohammadi et al., 2003**).

0 – 1.0 Génotypes très similaires → redondance, à éviter ensemble.

1.0 – 2.0 Similarité modérée → potentiel intra-groupe.

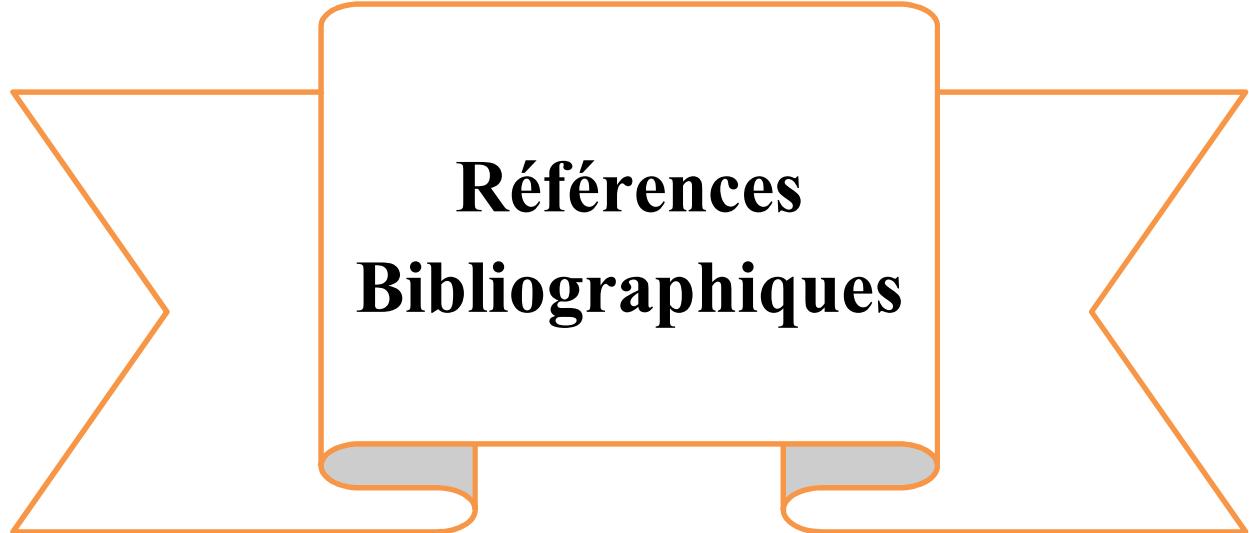
> 2.0 Dissimilarité forte → bon potentiel pour croisement.



Conclusion

CONCLUSION

L'évaluation génétique de onze génotypes de blé tendre à l'aide de marqueurs microsatellites a permis de mettre en évidence une diversité allélique importante, reflétant un potentiel considérable pour l'amélioration génétique. À travers l'amplification de huit marqueurs ciblant des gènes de résistance majeurs aux maladies fongiques (rouilles, fusariose, oïdium), il a été possible de discriminer les génotypes sur la base de leur profil moléculaire. Les résultats ont montré que des génotypes comme Courtot, Ain Abid, Tidis et Arz possèdent plusieurs allèles associés à la résistance, en particulier aux rouilles jaunes et brunes, à la fusariose de l'épi, et à l'oïdium. Ces génotypes représentent des ressources génétiques précieuses pouvant être intégrées dans des programmes de sélection variétale pour renforcer la résilience du blé en Algérie. L'utilisation de marqueurs à fort pouvoir polymorphique (PIC > 0.85 dans la majorité des cas) renforce la précision et l'efficacité de la sélection assistée par marqueurs (MAS). Les génotypes Courtot (Ct), Boussaloum (Bss), Hidab (Hd), El-Hachimia (Ha), et Yacine (Ya) se distinguent par la présence d'allèles associés aux gènes de résistance fongique, identifiés par les marqueurs SSR utilisés. L'analyse du dendrogramme a permis de regrouper les 11 génotypes de blé tendre en quatre clusters distincts, révélant des niveaux variés de ressemblance génétique. Des génotypes comme Courtot et Ain-Abid se sont révélés génétiquement éloignés, tandis que Massine et Yacine étaient quasi identiques. Cette structuration génétique est essentielle pour orienter les croisements dans les programmes de sélection, en maximisant la diversité et en ciblant l'introgression des allèles de résistance.



Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- 1- « ONS : Office National des Statistiques [archive] », sur www.ons.dz
- 2- Abdelguerfi, A., & Laouar, M. (2000). Les ressources génétiques des blés en Algérie : passé, présent et avenir. In Blé 2000... Enjeux et Stratégie, Actes du 1er Symposium International sur la Filière Blé, OAIC, Alger, 7-9 février 2000 (pp. 133-148).
- 3- Abhinandan, K., Skori, L., Stanic, M., Hickerson, N. M., Jamshed, M., & Samuel, M. A. (2018). Abiotic Stress Signaling in Wheat – An Inclusive Overview of Hormonal Interactions During Abiotic Stress Responses in Wheat. *Frontiers in Plant Science*, 9, 734. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00734>
- 4- Ahmad, A., Wang, J.-D., Pan, Y.-B., Sharif, R., & Gao, S.-J. (2018). Development and Use of Simple Sequence Repeats (SSRs) Markers for Sugarcane Breeding and Genetic Studies. *Agronomy*, 8(11), 260. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY8110260>
- 5- Appels, R., Eversole, K., Feuillet, C., & Gallagher, D. (2023). The Wheat Genome. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-25729-4>
- 6- ARVALIS - Institut du végétal. (Mai 2015). Perspectives agricoles. Variétés de blé tendre (N°422), 1-3.
- 7- Assiri, K. A., Alrasis, M. S., Mashlawi, A. I., Alayda, M. H., & Aljndbai, A. M. (2024). Role of molecular markers in identifying genetic disorders. *International Journal of Community Medicine and Public Health*, 11(9), 3712–3715. <https://doi.org/10.18203/2394-6040.ijcmph20242578>
- 8- ATLASOCIO.COM .2023.classement des états d'Afrique par production de blé
- 9- Beli, D., Laze, A., Stafasani, M., Cardone, G., Varaku, S., & Ceca, E. (2017). Influence Of Fusariosis In The Biochemical And Rheological Properties Of Different Wheat Cultivars. 4(9), 8250–8255. <https://air.unimi.it/bitstream/2434/715744/2/JMESTN42352410..pdf>
- 10- Bobrowska, R., Nowecka, A., Spychała, J., Tomkowiak, A., Nawracała, J., & Kwiatek, M. (2022). Diagnostic accuracy of genetic markers for identification of the Lr46/Yr29 “slow rusting” locus in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biomolecular Concepts*, 13(1), 1–9. <https://doi.org/10.1515/bmc-2022-0002>
- 11- Bonjean, A. (2002). Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Dossier de l'environnement de l'INRA, 21, 1-9.
- 12- Bougat, Y., Lemoin, J., Pavoine, M. T., Barloy, D., & Doussinalt, G. (2008).

Références bibliographiques

- Identification of a microsatellite marker associated with Pm3 resistance alleles to powdery mildew in wheat. *Plant Breeding*, 127(3), 327–330. doi:10.1111/j.1439-0523.2008.736127.x
- 13- Collard, B. C. Y., & Mackill, D. J. (2008). *Marker-assisted selection: An approach for precision plant breeding in the twenty-first century*. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 363(1491), 557–572. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2170>
- 14- Curtis, B. C., Rajaram, S., & Macpherson, H. G. (2002). Bread wheat: improvement and production. FAO Plant Production and Protection Series No. 30.
- 15- De Vita, P., Li Destri Nicosia, O., Nigro, F., Platani, C., Riefolo, C., Di Fonzo, N., & Cattivelli, L. (2007). Breeding progress in morpho-physiological, agronomical and qualitative traits of durum wheat cultivars released in Italy during the 20th century. European Journal of Agronomy, 26, 39-53.
- 16- Edwards K., Johnstone C., Thompson C. (1991) A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. Nucl. Acid. Res. 19: 1349
- 17- El Sabagh, A., Islam, M. S., Skalicky, M., Ali Raza, M., Singh, K., Anwar Hossain, M., Hossain, A., Mahboob, W., Iqbal, M. A., Ratnasekera, D., Singhal, R. K., Ahmed, S., Kumar, A., Wasaya, A., Sytar, O., Brestic, M., Ciğ, F., Erman, M., Habib Ur Rahman, M., Ullah, N., & Arshad, A. (2021). Salinity Stress in Wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Changing Climate: Adaptation and Management Strategies. Frontiers in Agronomy, 3, Article 661932. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.661932>
- 18- El-Ballat, E. M. A.; R. M. A. El-Kholy; A. M. El-Samadisy (2016). Control of Fungal Wheat Diseases Under Field Conditions. J. Plant Prot. and Path., Mansoura Univ., Vol. 7 (10), 663–669.
- 19- Escale de nuit .2022 . https://escaledenuit.com/author/edn_adm/
- 20- FAO. 2025 . Situation alimentaire mondiale. <https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>
- 21- Feodorova-Fedotova, L., & Bankina, B. (2018). Characterization of yellow rust (*Puccinia striiformis* Westend.): review. 69–76. <https://doi.org/10.22616/RRD.24.2018.053>
- 22- Gao, H., Niu, J., & Li, S. (2018). Impacts of Wheat Powdery Mildew on Grain Yield & Quality and Its Prevention and Control Methods. American Journal of Agriculture and Forestry, 6(5), 141. <https://doi.org/10.11648/J.AJAF.20180605.14>
- 23- Genaev, M. A., Skolotneva, E. S., Gul'tyaeva, E. I., Orlova, E. A., Bechtold, N. P., &

Références bibliographiques

- Afonnikov, D. A. (2021). Recognition of wheat fungal diseases using digital images and deep learning methods. *Plants*, 10(15), 1500. <https://doi.org/10.3390/plants10081500>
- 24- Ghiti, N. E. I. (2020). Le grain du blé : qualité technologique. Université des Frères Mentouri Constantine.
- 25- Guichoux, E., Lagache, L., Wagner, S., Chaumeil, P., Légér, P., Lepais, O., Malausa, T., Revaldel, E., Salin, F., & Petit, R. J. (2011). Current trends in microsatellite genotyping.
- 26- Gupta, P. K., Varshney, R. K., Sharma, P. C., & Ramesh, B. (1999). *Molecular markers and their applications in wheat breeding*. Plant Breeding, 118(5), 369–390. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.1999.118005369.x>
- 27- Hashem, M. S., Sandhu, K. S., Ismail, S. M., Börner, A., & Sallam, A. (2023). Validation and marker-assisted selection of DArT-genomic regions associated with wheat yield-related traits under normal and drought conditions. *Frontiers in Genetics*, 14. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1195566>
- 28- Higgins, S., Serada, V., Herron, B., Gadhav, K. R., Kurouski, D. (2022). Confirmatory detection and identification of biotic and abiotic stresses in wheat using Raman spectroscopy. *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1035522>
- 29- Kalia, R. K., Mughogho, L. K., & Moyal, P. (2010). Advances in the Application of Microsatellite Markers for Crop Improvement. *Euphytica*, 177(2), 309–334.
- 30- Khoshro, H. H., & Abdi, H. (2023). Application of Marker-Assisted Selection in Wheat Quality Breeding Program. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.113944>
- 31- Lagudah, E. S., McFadden, H., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Bariana, H. S., & Spielmeyer, W. (2009). Gene-specific markers for the wheat gene Lr34/Yr18/Pm38 which confers resistance to multiple fungal pathogens. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(6), 889–898. DOI: 10.1007/s00122-009-1097-z.
- 32- Lazar, I. (2023). GelAnalyzer 23.1 – Usage Guide. Retrieved June 3, 2025, from <http://gelanalyzer.com/docs/usage/>
- 33- Liu, S., Hall, M. D., Griffey, C. A., & McKendry, A. L. (2009). Meta-analysis of QTL associated with Fusarium head blight resistance in wheat. *Crop Science*, 49(6), 1955-1968. <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.12.0711>

Références bibliographiques

- 34- Lupaşcu, G., & Gavzer, S. (2022). *Pathogens of fungal diseases in the spiked cereal crops*. Akademos, 1(22), 25-64. <https://doi.org/10.52673/18570461.22.1-64.03>
- 35- McIntosh, R. A., Yamazaki, Y., Dubcovsky, J., et al. (2013). Catalogue of gene symbols for wheat. Komugi Wheat Gene Catalogue.
- 36- Meziani, S., Saidani, S., Menadi, N., Mehida, H., Chenni, F. Z., Zairi, M., ... & Benali, M. (2020). Comparative assessment of bioactive compounds and antioxidant activity of soft wheat bran on the Algeria market. *Notulae Scientia Biologicae*, 12(3), 741-751. <https://doi.org/10.15835/nsb12310585>
- 37- Molecular Ecology Resources, 11(3), 591–611. doi:10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x
- 38- Monneveux, P., & Nemmar, M. (2020). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. HAL Id: hal-00884913.
- 39- Mukhtar, S., Khan, M. A., Padder, B. A., & Kamaluddin, M. (2015). Molecular characterization of wheat germplasm for stripe rust resistance genes (Yr5, Yr10, Yr15 & Yr18) and identification of candidate lines for stripe rust breeding in Kashmir. *Journal of Cereal Research*, 7(2), 123-130. [ResearchGate](#)
- 40- Mohammadi, S. A., & Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43(4), 1235–1248. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1235>
- 41- Plotnikova, L. Ya., Sagendykova, A., & Pozherukova, V. (2023). The Use of Genetic Material of Tall Wheatgrass to Protect Common Wheat from Septoria Blotch in Western Siberia. *Agriculture*, 13(1), 203. <https://doi.org/10.3390/agriculture13010203>
- 42- Pourkhoshid, Z., Dadkhodaie, A., & Niazi, A. (2022). Molecular mapping of the *Aegilops speltoides*-derived leaf rust resistance gene Lr36 in common wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica*, 218(3). <https://doi.org/10.1007/s10681-022-02975-4>
- 43- Randhawa, M. S., et al. (2015). "Mapping and characterization of the new stripe rust resistance gene Yr67 in common wheat." *Theoretical and Applied Genetics*.
- 44- Rani, R., Singh, R., & Yadav, N. R. (2019). Evaluating stripe rust resistance in Indian wheat genotypes and breeding lines using molecular markers. *Comptes Rendus Biologies*, 342(5-6), 154-174.

Références bibliographiques

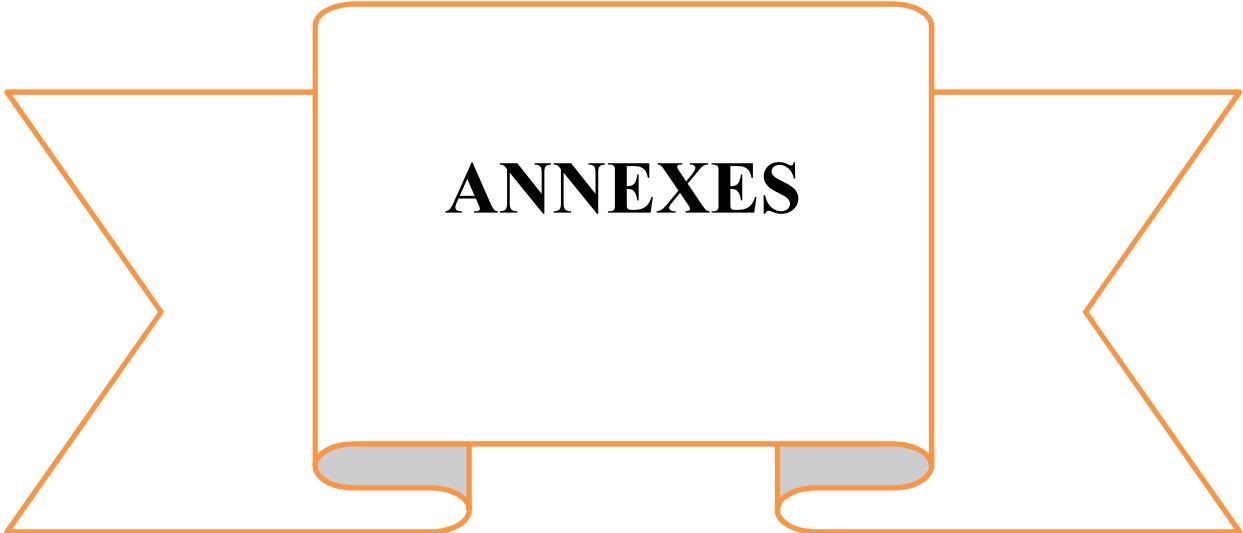
- 45-Roder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., et al. (1998). *A microsatellite map of wheat*. Genetics, 149(4), 2007–2023. <https://www.genetics.org/content/149/4/2007>
- 46-Rodríguez Contreras, M. E., Leyva Mir, S. G., Villaseñor Mir, H. E., Huerta Espino, J., & Sandoval Islas, J. S. (2010). Relación de altura y competencia de plantas con incidencia y dispersión de *Septoria tritici* en trigo de temporal* relation of plant height and competence with incidence and dispersion of *Septoria tritici* on rainfed wheat. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v1n3/v1n3a6.pdf>
- 47-Rosewarne, G. M., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Rebetzke, G. J., & Knot, D. (2006). *Quantitative trait loci for slow-rusting resistance in wheat to leaf rust and stripe rust identified with multi-environment analysis*. Theoretical and Applied Genetics, 112, 505516. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0142-0>
- 48-Roy, P., Sogir, S. B., & Basak, T. (2023). On the Polymorphism Information Content (PIC) – A Practical Application for the DNA Sequencing Data. [https://doi.org/10.59324/ejmhr.2023.1\(1\).04](https://doi.org/10.59324/ejmhr.2023.1(1).04)
- 49-Sambrook, J., & Russell, D. W. (2012). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press. <https://www.addgene.org/protocols/gel-electrophoresis/>
- 50-Sameer, W. M. (2019). Compatibility of biological control agents with fungicides against root rot diseases of wheat. Al-Azhar Journal of Agricultural Research, 44(2), 146-155. DOI: ajurnal-azhar.edu.eg
- 51-Shahin, A.A., Omara, R.I., Omar, H.A. et al. Evaluation of effectiveness resistance genes in wheat genotypes using marker-assisted selection for stripe rust resistance breeding". BMC Plant Biol 24, 785 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05470-1>
- 52-Shazia Mukhtar¹, M A Khan^{1*}, B A Paddar², Azra Anjum¹, Gul Zaffar¹, S A Mir³, Sabina Naseer¹, M A Bhat³ and Kamaluddin.2015. Molecular characterization of wheat germplasm for stripe rust resistance genes (Yr5, Yr10, Yr15 & Yr18) and identification of candidate lines for stripe rust breeding in Kashmir. Indian Journal of Biotechnology Vol 14, pp 241-248
- 53-Simpson, J. (2017). Amplified fragment length polymorphisms (AFLP's). Boletin De La Sociedad Botanica De Mexico, 60, 119–122. <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.1524>

Références bibliographiques

- 54- Singh, R. P., Hodson, D. P., Huerta-Espino, J., et al. (2016). Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: Continued threat to food security and prospects of genetic control. *Phytopathology*, 106(4), 332–341.
- 55- Singh, R. P., Hodson, D., Huerta-Espino, J., Jin, Y., Njau, P., Wanyera, R., Herrera-Foessel, S. A., & Ward, R. W. (2008). Will Stem Rust Destroy the World's Wheat Crop (Vol. 98, pp. 271–309). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)00205-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)00205-8)
- 56- Singh, R. P., William, H. M., Huerta-Espino, J., & Rosewarne, G. (2004). *Wheat rust resistance genes Lr46/Yr29/Sr58/Pm39: Review and genetic mapping*In: Proceedings of the 11th International Wheat Genetics Symposium.
- 57- Song, L., Wang, R., Yang, X., Zhang, A., & Liu, D. (2023). Molecular Markers and Their Applications in Marker-Assisted Selection (MAS) in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agriculture*, 13(3), 642. <https://doi.org/10.3390/agriculture13030642>
- 58- Srivastava, S., Mukherjee, S., Datta, S., Burman, S. S. R., Rana, M., Kumar, R., Katyayani, K. K. S., Karnwal, A., Kumar, S., Shukla, M., & Kumar, R. (2023). Microsatellite markers for crop improvement: A review. *Journal of Applied and Natural Science*, 15(3), 1018–1035. <https://doi.org/10.31018/jans.v15i3.4615>
- 59- Szczęko, I., Achrem, M., & Kalinka, A. (2012). Charakterystyka i zastosowanie ssr oraz issr w badaniach genomów roślinnych. 61(4), 597–602. <https://kosmos.ptpk.org/index.php/Kosmos/article/view/1039>
- 60- Thermo Fisher Scientific. (2012). NanoDrop 2000/2000c Spectrophotometer V1.0 User Manual. Thermo Fisher Scientific Inc. <https://www.thermofisher.com>
- 61- Tomkowiak, A., Jędrzejewski, T., Spychała, J., Kuczyński, J., Kwiatek, M., Tyczewska, A., Skowrońska, R., & Twardowski, T. (2020). Analysis of miRNA expression associated with the Lr46 gene responsible for APR resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Applied Genetics*, 61(4), 503–511. <https://doi.org/10.1007/S13353-020-00573-5>
- 62- Varshney, R. K., Graner, A., & Sorrells, M. E. (2005). *Genomics-assisted breeding for crop improvement*. Trends in Plant Science, 10(12), 621–630.
- 63- William, M., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Islas, S. O., & Hoisington, D. (2003). *Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene Lr46 and its association with stripe rust resistance gene Yr29 in wheat*. *Phytopathology*, 93(2), 153–159. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.2.153>

Références bibliographiques

- 64- www.thermoscientific.com/onebio
- 65- Yadav, D. (2022). Sequence-Based Marker Assisted Selection in Wheat (pp. 513–538). Springer eBooks. https://doi.org/10.1007/978-3-030-90673-3_28
- 66- Yu, Y., Guan, Z., Zhang, Q., Li, X., & Gul, C. (2023). The impacts of temperature averages, variabilities and extremes on China's winter wheat yield and its changing rate. Environmental Research Communications, 5. <https://doi.org/10.1088/2515-7620/ace2a0>
- 67- Zettal, Y. (2017). Le blé : importance, santé et risque. Université des Frères Mentouri Constantine.
- 68- <http://ephytia.inra.fr/fr/C/16199/Hypp-encyclopedie-en-protection-des-plantes-Characteristiques-et-symptomes-de-la-maladie>
- 69- <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.10.004>
- 70- https://www.agro.bASF.fr/fr/cultures/ble/maladies_du_ble/fusariose_du_ble/
- 71- https://www.agro.bASF.fr/fr/cultures/ble/maladies_du_ble/odium_du_ble/
- 72- https://www.agro.bASF.fr/fr/cultures/ble/maladies_du_ble/rouille_jaune_du_ble/
- 73- https://www.agro.bASF.fr/fr/cultures/ble/maladies_du_ble/septoriose_du_ble_fonte_se_mis/
- 74- https://www.bayer-agri.fr/cultures/rouille-brune-10-a-40-de-pertes-possibles-en-ble_1277/
- 75- <https://www.biomatik.com/>
- 76- https://www.researchgate.net/publication/280077229_Molecular_characterization_of_wheat_germplasm_for_stripe_rust_resistance_genes_Yr5_Yr10_Yr15_Yr18_and_identification_of_candidate_lines_for_stripe_rust_breeding_in_Kashmir
- 77- <https://www.semae-pedagogie.org/sujet/marqueurs-moleculaires/>
- 78- <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/10787018>



ANNEXES

Annexe 01 : Méthodes Edwards K et al (1991) de l'extraction rapide d'ADN

- Broyer environ 100 mg de tissu foliaire dans de l'azote liquide.
- Suspendre le matériel végétal dans 1ml de tampon d'extraction rapide (composé typiquement de Tris-HCl, EDTA, NaCl et SDS).
- Incuber à 65°C pendant 10 à 15 minutes.
- Centrifuger à 13 000 tr/min pendant 2 minutes.
- Transférer le surnageant contenant l'ADN dans un nouveau tube (800ul de surnageant).
- Précipiter l'ADN en ajoutant 500 µL d'isopropanol.
- Centrifuger à vitesse maximum pendant 10 minutes à 4°C.
- Laver le culot d'ADN avec 500 µL d'éthanol à 70 %,
- Sécher le culot d'ADN.
- Resuspendre le culot d'ADN dans 100 µL d'eau distillée stérile ultra pure.

Composition du tampon d'extraction

Composant	Concentration finale
Tris-HCl (pH 7.5)	200 Mm
NaCl	250 Mm
EDTA	25 mM
SDS	0.5%

Annexe 02 : Composition du gel d'agarose

Composant	Quantité
Agarose	0,8 g ou 1,5 g
Tampon TBE 0.5X	100 Ml
BET	4 µL
Moule + peigne	—

Le mélange de 1^{er} électrophorèse :

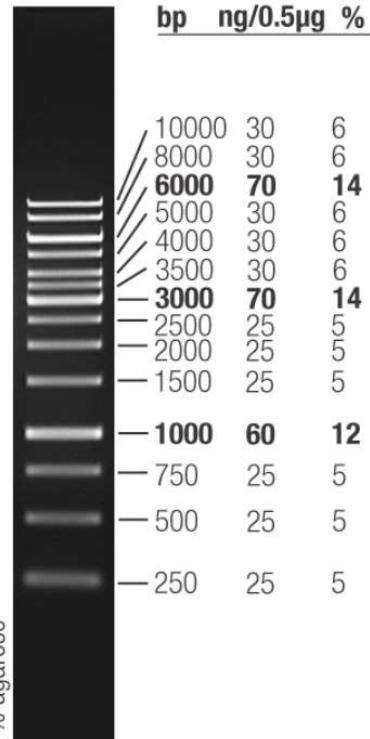
AND	5 µL
Tampon de charge	1 µL

Migration pendant 30 min.

1^{er}
Eléctrophorèse { 100V
 30minutes

Annexe 03 :**Recommendations**

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

GeneRuler 1 kb DNA Ladder, ready-to-use

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

Revision history: Pub. No. MAN0013007

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

Limited product warranty

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

La figure présente : L'échelle d'ADN 1Kb (quantitative)

<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/10787018>

04 -Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Annexe 04 : Composition générale du Mix PCR 2X

Composant	Concentration dans le Mix 2X	Rôle
Tampon PCR	1X (dans la réaction finale)	Maintient le pH optimal pour la polymérase
MgCl₂	1,5–2,5 mM	Cofacteur essentiel pour l'activité de la Taq
dNTPs (dATP, dTTP, dCTP, dGTP)	200 µM chacun	Fournissent les bases nécessaires à l'élongation
Taq ADN polymérase	0,5–1,25 U/25 µL (en général)	Enzyme de synthèse d'ADN thermostable
Stabilisants enzymatiques	(protéines, BSA, etc.)	Protègent l'enzyme, améliorent la robustesse
Colorant de charge (optionnel)	Bleu ou orange (ex : bromophénol blue)	Permet le suivi direct sur gel d'agarose
Eau stérile sans nucléase	—	Solvant pour équilibrer le volume

www.thermoscientific.com/onebio

La composition du mélange utilisé pour chaque réaction PCR

Composant	Volume (µL)
Master Mix PCR 2X	5,0
Amorces (F+R)	1.5
ADN matrice	2.5
Eau distillée stérile	1
Total	10 µL

Thermo
SCIENTIFIC

PRODUCT INFORMATION
PCR Master Mix (2X)

#K0172 for 1000 rxns
 Lot: _____ Expiry Date: _____
 Store at -20°C

Ordering Information

Component	#K0171	#K0172
200 rxns of 50 µL	200 rxns of 50 µL	1000 rxns of 50 µL
PCR Master Mix (2X)	4 x 1.25 mL	20 x 1.25 mL
Water, nuclease-free	4 x 1.25 mL	20 x 1.25 mL

www.thermoscientific.com/onebio

Description
 PCR Master Mix is a 2X concentrated solution of *Taq* DNA polymerase, dNTPs and all other components required for PCR, except DNA template and primers. This pre-mixed formulation saves time and reduces contamination due to a reduced number of pipetting steps required for PCR set up. The mix is optimized for efficient and reproducible PCR.

Applications

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

Composition of the PCR Master Mix (2X)
 0.05 U/µL *Taq* DNA polymerase, reaction buffer, 4 mM MgCl₂, 0.4 mM of each dNTP (dATP, dCTP, dGTP and dTTP).

PROTOCOL

1. Gently vortex and briefly centrifuge PCR Master Mix (2X) after thawing.
2. Place a thin-walled PCR tube on ice and add the following components for each 50 µL reaction:

PCR Master Mix (2X)	25 µL
Forward primer	0.1-1.0 µM
Reverse primer	0.1-1.0 µM
Template DNA	10 pg - 1 µg
Water, nuclease-free	to 50 µL
Total volume	50 µL

3. Gently vortex the samples and spin down.
4. When using a thermal cycler that does not contain a heated lid, overlay the reaction mixture with 25 µL of mineral oil.
5. Perform PCR using the recommended thermal cycling conditions outlined below:

Step	Temperature, °C	Time	Number of cycles
Initial denaturation	95	1-3 min	1
Denaturation	95	30 s	25-40
Annealing	Tm-5	30 s	
Extension	72	1 min/kb	
Final Extension	72	5-15 min	1

Rev.11

La figure présente la fiche technique du PCR Master Mix (2X)

www.thermoscientific.com/onebio

Programme thermique (Thermocycleur)

Étape	Température (°C)	Durée	Cycle
Dénaturation initiale	94 °C	5 min	1 fois
Dénaturation	94 °C	30 sec	
Hybridation (selon amorce)	50–60 °C	30 sec	35 cycles
Élongation	72 °C	30 sec	
Élongation finale	72 °C	10 min	1 fois
Conservation	4 °C	infinie	

Annexe 05 : Les températures d'hybridation des amorces :

Amorces	Séquences	Tan C°
Barc8	F: GCGGGAATCATGCATAGGAAAACAGAA R: GCAGGGGCGAACATACACATAAAAACA	50
WMC44	F: GGT-CTT-CTG-GGC-TTT-GAT-CCT-G R: TGT-TGC-TAG-GGA-CCC-GTA-GTG-G	61
psp2999	F: TCC-CGC-CAT-GAG-TCA-ATC R: TTG-GGA-GAC-ACA-TTG-GCC	55
psp3000	F: GCA-GAC-CTG-TGT-CAT-TGG-TC R: GAT-ATA-GTG-GCA-GCA-GGA-TAC	55
CFA2040	F: TCAAATGATTTCAGGTAACCACTA R: TTCCTGATCCCACCAAACAT	55
BARC 133	F: TGGAGGTTGGGAGTTAGGAA- R: GGCCTAGGCTTGAGTT-	55
GWM 425	F: GAGAGAGAGAGAGAGAGAG R: CTCTCTCTCTCTCTCTCT	55
WMC405	F: TGC TGA AGG GTT GAG AGT TG R: GAC AAA GGC ACA GAG GAA GC	55

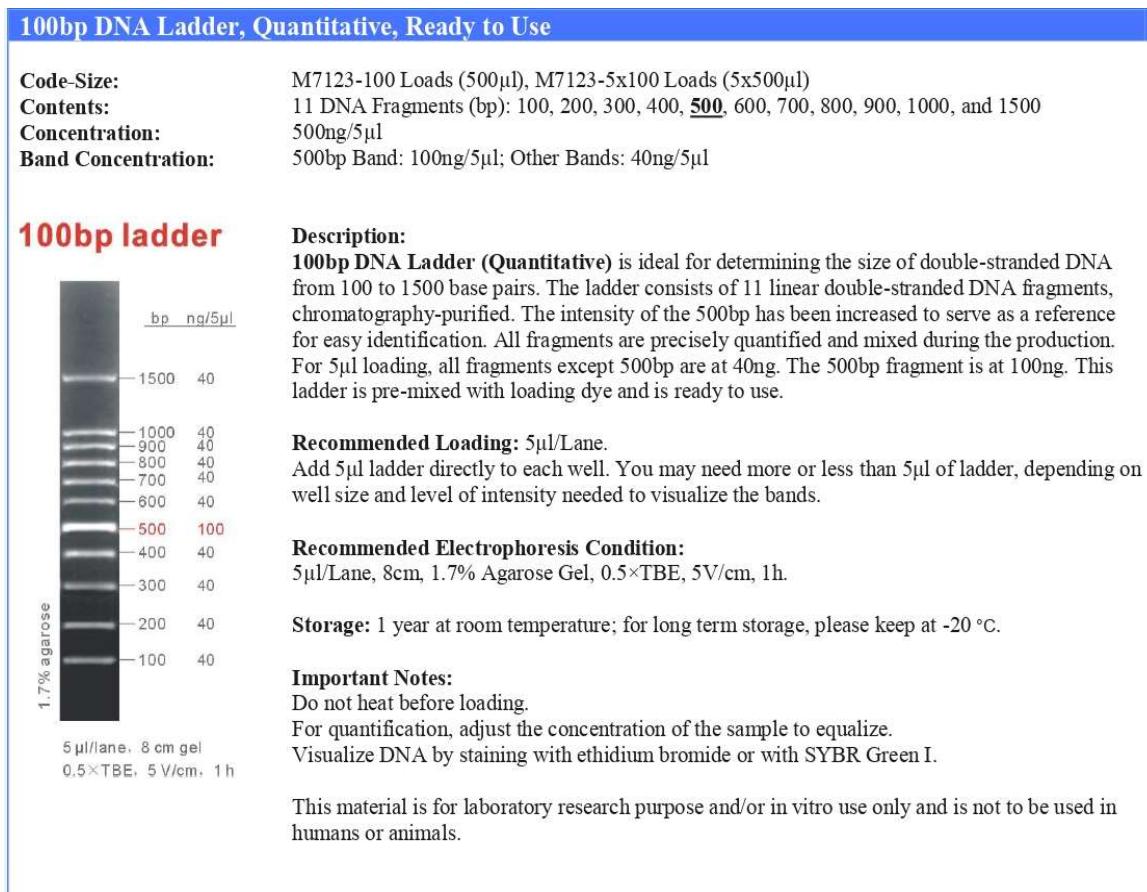
Annexe 06 : Électrophorèse sur gel d'agarose :

Migration pendant 45 min.

2^{ème}

Eléctrophorèse

[100V
 45minutes

Annexe 07 : Marqueur de taille 100pb DNA ladder.

<https://www.biomatik.com/l>

Annexe 08 : Les tailles des bandes ont été déterminées à l'aide du logiciel *GelAnalyzer 23.1*

Variété	Barc8										
	Cs	Ct	Bss	Hd	Td	El-ha	Ma	Arz	Ain-A	Ak	Ya
1 ^{er} bande	—	250	254	241	237	237	237	237	228	—	184
2 ^{ème} bande	—	138	—	—	118	—	—	138	—	—	—

Variété	WMC44										
	Cs	Ct	Bss	Hd	Td	El-ha	Ma	Arz	Ain-A	Ak	Ya
1 ^{er} bande	260	343	343	348	231		235	300	545	300	215
2 ^{ème} bande		215	260	226	—			104	260		
3 ^{ème} bande		132		142					132		

Variété	WMC405										
	Cs	Ct	Bss	Hd	Td	El-ha	Ma	Arz	Ain-A	Ak	Ya
1 ^{er} bande	278	283	256	193	188	230	204		184	235	224

Variété	GWM425										
	Cs	Ct	Bss	Hd	Td	El-ha	Ma	Arz	Ain-A	Ak	Ya
1 ^{er} bande		113	124	132	109	117	117	117	109	109	117

Variété	PSP2999										
	Cs	Ct	Bss	Hd	Td	El-ha	Ma	Arz	Ain-A	Ak	Ya
1 ^{er} bande	173	249	166	149	149	143	136	159	180	159	146
2 ^{ème} bande		184							127		
3 ^{ème} bande		153									

Variété	PSP3000										
	Cs	Ct	Bss	Hd	Td	El-ha	Ma	Arz	Ain-A	Ak	Ya
1 ^{er} bande		355	253	282	307	234	248	234	350	302	292
2 ^{ème} bande		239		100	100				292		

Variété	Barc133										
	Cs	Ct	Bss	Hd	Td	El-ha	Ma	Arz	Ain-A	Ak	Ya
1 ^{er} bande		319	358	352	341	347		358	314	114	386
2 ^{ème} bande		154	102		110			106	102		126
3 ^{ème} bande											

Variété	CFA2040										
	Cs	Ct	Bss	Hd	Td	El-ha	Ma	Arz	Ain-A	Ak	Ya
1 ^{er} bande	231	241	251	251	261	271	246	282	277	256	282
2 ^{ème} bande		167	167	189		198	207		207		
3 ^{ème} bande											

Annexe 09 : Le contenu informatif sur le polymorphisme (PIC)

Marqueurs SSR	Barc8	WMC 44	WMC 405	GWM 425	PSP 2999	PSP 3000	Barc 133	CFA 2040
PIC	0,140	0,9	0,9	0,72	0,9	0,93	0,9	0,85

Annexe 10 : Matrice de distance entre les génotypes (Euclidean Distance Matrix).

	Cs	Ct	Bss	Hd	Td	El-ha	Ma	Arz	Ain-A	Akh	Ya
Cs	0.00	2.83	1.41	1.00	2.00	1.41	1.73	2.00	2.24	1.41	1.73
Ct	2.83	0.00	2.45	2.65	3.16	2.83	2.65	2.83	3.00	2.83	2.65
Bss	1.41	2.45	0.00	1.00	2.00	1.41	1.00	2.00	2.24	1.41	1.00
Hd	1.00	2.65	1.00	0.00	1.73	1.00	1.41	1.73	2.00	1.00	1.41
Td	2.00	3.16	2.00	1.73	0.00	2.00	2.24	2.00	2.24	1.41	2.24
El-ha	1.41	2.83	1.41	1.00	2.00	0.00	1.00	1.41	2.24	1.41	1.00
Ma	1.73	2.65	1.00	1.41	2.24	1.00	0.00	1.73	2.45	1.73	0.00
Arz	2.00	2.83	2.00	1.73	2.00	1.41	1.73	0.00	2.65	2.00	1.73
Ain-A	2.24	3.00	2.24	2.00	2.24	2.24	2.45	2.65	0.00	1.73	2.45
Akh	1.41	2.83	1.41	1.00	1.41	1.41	1.73	2.00	1.73	0.00	1.73
Ya	1.73	2.65	1.00	1.41	2.24	1.00	0.00	1.73	2.45	1.73	0.00

Année universitaire : 2024-2025	Présenté par : BOUSSENDEL Dalal BOUYAHIA Salma
Intitulé : Variabilité des marqueurs génétiques type SSR liés à la résistance aux maladies fongiques chez les variétés de blé tendre.	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale	
Résumé	
<p>Le but de cette étude est d'évaluer la variabilité génétique et le potentiel de résistance aux maladies fongiques de onze génotypes de blé tendre (<i>Triticum aestivum</i> L.), par l'utilisation de marqueurs microsatellites SSR. Huit marqueurs microsatellites ciblant des gènes de résistance (Yr15, Yr29, Yr36, Fhb1, Pm3g) BARC8, BARC113, WMC44, WMC405, GWM425, PSP3000, PSP2999 et CFA2040, ont été utilisés. Les résultats révèlent un fort polymorphisme génétique entre les variétés, avec des indices PIC (<i>Polymorphic Information Content</i>) souvent supérieurs à 0,75, témoignant de leur haut pouvoir discriminant. Certaines variétés, telles que <i>Courtot</i>, <i>Ain Abid</i> et <i>Tidis</i>, se démarquent par la présence de plusieurs allèles liés à la résistance. En revanche, d'autres comme <i>Massine</i> ou <i>Chinese Spring</i> présentent des profils génétiques moins intéressants. Pour analyser la structure génétique des génotypes, un dendrogramme a été construit à partir d'une matrice binaire (présence/absence des allèles), en utilisant la distance euclidienne et la méthode d'agrégation de Ward (minimisation de la variance intra-cluster). Cette étude met en évidence la richesse génétique du blé tendre cultivé en Algérie et confirme l'intérêt des marqueurs SSR dans les programmes de sélection assistée, en vue d'améliorer la résistance aux maladies fongiques et d'assurer une agriculture plus durable.</p>	
Mots-clés : Blé tendre, marqueurs <i>SSR</i> , résistance aux maladies et polymorphisme.	
Laboratoire de recherche : Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (Université Constantine 1, Frères Mentouri).	
Président du jury : Mr. KELLOU Kamel,	M.A.A Univ. Constantine 1, Frères Mentouri.
Encadrant :	Mr. TEMAGOULT Mahmoud, M.A.A Univ. Constantine 1, Frères Mentouri.
Examinateuse :	Mlle. MOUELLEF Adra, M.C.B Univ. Constantine 1, Frères Mentouri.
<i>Année Universitaire : 2024-2025</i>	