

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



UNIVERSITE SAAD DAHLEB – BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

Spécialité : Biotechnologie végétale

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Master académique en
Sciences de la Nature et de la Vie**

Thème

**Caractérisation morphologique et moléculaire de 23
génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum*)**

Présenté par :

Date : septembre 2016

M^{lle} OUAKKAL MERIEM

M^{me} BOUSSALEM IBTISSEM

Devant le Jury :

Mme TELAIDJI A.	M.A.A.	U. B ₁	Présidente
Mme KEBOUR D.	M.C.A.	U.B ₁	Promotrice
Mme DJENADI C.	A.R.	INRAA	Co-promotrice
Mme FOURAR R.	M.C.B.	U.B ₁	Examinatrice

Promotion : 2015-2016

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier « Dieu le tout puissant » pour sa miséricorde, ainsi que pour la volonté, la santé, et la patience qu'il nous a données durant toutes ces années d'études, afin que nous puissions en arriver là.

Nous exprimons nos remerciements et profonde gratitude à :

Mme **DJENADI C.** pour nous avoir orientées dans nos travaux et nous avoir fait découvrir le mode de recherche, pour la documentation qu'elle nous a procurée, pour ses précieux conseils, pour son suivi tout au long de la réalisation de ce mémoire et nous tenons à lui avouer que nous avons beaucoup appris à ses côtés, tant sur le plan scientifique que personnel.

Mme **KEBOUR D.** pour l'honneur qu'elle nous a fait de nous encadrer et diriger notre travail, ainsi que pour son aide et ses conseils.

Nous adressons nos vifs remerciements et toute notre gratitude aux membres du jury :

Mme **TELAIDJI A.** d'avoir accepté de présider le jury.

Mme **FOURAR R.** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Un grand merci est adressé à Mr **AMRANI M.** et Mme **AMRANI R.** pour leur aide inestimable, leur soutien et leurs précieux conseils.

Nos sincères remerciements s'adressent également à toute l'équipe de recherche de l'INRAA qui nous a facilité l'accès et le travail au sein de l'institut.

Nos remerciements et notre reconnaissance s'adressent aussi à toute personne ayant pris part, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Avant et après tout, **ALHAMDYOU LI ALLAH**, enfin mon rêve se réalise !

Je dédie cet ouvrage à mes parents :

- à celle qui m'a comblé d'amour, d'affection et d'encouragements pour que je devienne la femme que je suis aujourd'hui. Merci beaucoup maman « Malika »,
je t'aime à mourir.

- A mon père « Noureddine » qui a sacrifié tout ce qu'il avait de plus cher pour nous faire plaisir en gardant toujours le sourire.

Je t'aime et je suis fière de toi papa.

- A mon cher et unique frère « Rafik », qui m'a beaucoup aidé, que dieu le protège.
 - A ma très chère petite sœur « Yasmina » que j'aime beaucoup.
- A ma chère cousine « Hanane », merci pour tes encouragements et ton soutien moral.
- A mes très chères amies : Meriem, Bouchra, Asmaa à qui je souhaite une longue vie pleine de joie et de réussite.
 - A tous mes amis de la spécialité biotechnologie végétale.
- Je dédie aussi ce travail à toute ma grande famille, mes tantes et mes cousines, merci pour tout.
- A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin et à tous ceux que j'aime je dédie ce modeste travail avec amour, reconnaissance et honneur.

Meriem



Résumé

Notre étude a pour objectif la caractérisation de 23 génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) par l'utilisation des marqueurs moléculaires du type SSR (Simple Sequence Repeat) et STS (Sequence Tagged Site).

Toutes les réactions de SSR et STS ont été effectuées à partir de l'ADN génomique extrait des 23 génotypes. Le polymorphisme est révélé à l'aide de 7 marqueurs: Xwmc44, Xgwm140, Lr34, Lr37, Rht et Iag95, liés à des caractères d'intérêt pour le blé tendre (nanisme, résistance à la rouille).

Les résultats ont montré des amplifications pour la majorité des génotypes concernant les gènes Lr46, Lr34, Rht. Cependant, les analyses n'ont montré aucune amplification pour les gènes Lr37, Iag95 et Sr31. Cette étude moléculaire est matérialisée extérieurement par les caractères phénotypiques représentés par la morphologie. Cette dernière a fait l'objet de mesure de certains paramètres morphologiques (hauteur de tige, longueur de l'épi, nombre de talles par épi, nombre de graines par épi, poids de mille grains). Selon les résultats obtenus, les génotypes ont été séparés en groupes qui se rapprochent entre eux par des caractères morphologiques communs.

Mots clés : *Triticum aestivum*, Blé tendre, Marqueurs moléculaires, Gènes, Morphologie, Caractérisation, Amplifications.

Abstract

Our study aims the characterization of 23 genotypes of soft wheat (*Triticum aestivum* L.) using molecular markers type SSR (Simple Sequence Repeat) and STS (Sequence Tagged Site).

All SSR and STS reactions were performed from genomic DNA extracted from 23 genotypes. Polymorphism was found with 7 markers Xwmc44, Xgwm140, Lr34, Lr37, Rht and Iag95, Linked to traits of interest for soft wheat (resistance to brown rust resistance and dwarfism).

The results showed amplifications for the majority of genotypes for the genes Lr46, Lr34, Rht. However, analyzes showed no amplification for Lr37 genes Iag95 and Sr31. This molecular study is materialized externally by phenotypic characters represented by the morphology, the latter has been the object measuring some morphological parameters (stem height, spike length, number of tillers per spike, number of seeds per spike, thousand seed weight). According to the results obtained genotypes were separated into groups that are closer together by common morphological characters.

Key words : *Triticum aestivum*, Soft wheat, Molecular markers, Genes, morphology, Characterization, Amplifications.

تهدف دراستنا إلى وصف 23 سلالة وراثية من القمح اللين باستخدام الوسامات الجزيئية من SSR و STS .

تم تنفيذ جميع تفاعلات باستخدام الحمض النووي الجيني المستخرج من 23 سلالة وراثية، تم كشف تعدد الأشكال باستخدام 7 وسامات جزيئية: Iag95, Rht, Lr37, Lr34, Xgwm140, Xwmc44, ترتبط الصفات التي تهم القمح اللين (مقاومة الصدأ البني، والأسود و التقزم)

أظهرت نتائج التعدد لمعظم الأنماط الوراثية للجينات Rht, Lr34, Lr46 على عكس الجينات Iag95, Lr37 Sr31 لم تظهر اي تعدد .

تتحقق هذه الدراسة الجزيئية خارجيا عن طريق الصفات الظاهرية الممثلة في الشكل عن طريق قياس بعض العوامل المورفولوجية (ارتفاع الساق، طول السنبل، عدد الجذع في السنبل، عدد البذور في السنبل ووزن ألف بذرة) وفقا لنتائج المحصلة عليها تم فصل السلالات الوراثية في المجموعات متقاربة في الصفات المورفولوجية المشتركة .

الكلمات المفتاحية: القمح اللين ، الوسامات الجزيئية، جينة ، المورفولوجية ، التوصيف ، التعدد .

Liste des abréviations

ADN	: Acide Désoxyribonucléique.
An	: Année.
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism.
ARN	: Acide Ribonucléique.
BET	: Bromure d'éthidium.
C	: Degré Celsius.
Cm	: Centimètre.
CV	: Coefficient de variation.
CTAB	: Cetyltriméthylammonium bromide (Bromure de cetyltriméthylammonium).
DDL	: Degré de liberté.
DO	: Densité optique.
EDTA	: Ethylène-diamine-tétraacétique.
EST	: Expressed Sequence Tags.
FAO	: Food and Agriculture Organization.
Fig	: Figure.
g	: Gramme.
Glu	: Gène de qualité.
ha	: Hectare.
hab	: Habitant.
INRAA	: Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie.
IPEMED.	: Institut de Prospective Economique du Monde Méditerranéen.
ITGC	: Institut Technique des Grandes Cultures.
Kpb	: Kilo paire de base.
Kg	: Kilogramme.
LR	: Populations de lignées recombinantes.
Lr	: Leaf Rust : la rouille brune.
LSD	: Least significant difference method

Mha	:	Million hectare.
ml	:	Millilitre.
mm	:	Millimètre.
mn	:	Minute.
Mt	:	Million tonnes.
Nm	:	Nanomètre.
PCR	:	Polymerase Chain Reaction.
Ph	:	Potentiel hydrogène.
Pm	:	Mildiou.
PMG	:	Poids de milles grains.
PNAB	:	Programme national d'Amélioration des blés.
QTL	:	Quantitative Trait Locus.
RAPD	:	Randomly Amplified Polymorphic DNA.
Rht	:	Gène de nanisme.
RFLP	:	Restriction fragment length polymorphism.
SCAR	:	Sequence Characterized Amplified Regions.
SNP	:	Single nucleotide polymorphism.
Sr	:	Stum Rust : la rouille noire.
SSR	:	Simple Sequence Repeat.
Stb	:	Septoria.
STS	:	Sequence Tagged Site.
Tab	:	Tableau.
TBE	:	Tris-HCl, boric acid, EDTA.
v	:	Volte.
UV	:	Ultra-violet.
%	:	Pourcentage.

Liste des figures

Figure 1.1 : Carte du centre d'origine et de la diffusion de la culture de blé.....	1
Figure 1.2 : Phylogénie du blé tendre.....	5
Figure 1.3 : Fleur du blé tendre.....	8
Figure 1.4 : Coupe longitudinale du grain de blé tendre.....	9
Figure 1.5 : Cycle biologique de développement du blé tendre.....	11
Figure 1.6 : Zones de culture des céréales dans le Nord de l'Algérie.....	13
Figure 1.7 : Superficie du blé en Algérie (2000-2014).....	14
Figure 1.8 : Production et consommation totale du blé en Algérie entre 1961 et 2009.....	15
Figure 1.9 : Les importations de blé en Algérie	16
Figure 2.1. : Comparaison des principales techniques de marqueur moléculaire.....	24
Figure 2.2. : Amplification par PCR.....	26
Figure 2.3 : Schéma des cycles de PCR	27
Figure 3.1 : Photo de serre en plastique.....	30
Figure 3.2 : Germination de blé tendre.....	31
Figure 3.3 : Transplantation des variétés du blé tendre.....	32
Figure 3.4 : Cycle de développement du blé tendre étudié.....	33
Figure 3.5 : Prélèvement de feuille.....	34
Figure 3.6 : Broyage de feuille.....	34
Figure 3.7 : Quantification d'ADN par spectrophotométrie.....	36
Figure 3.8 : Quantification de l'ADN par électrophorèse (Gel d'agarose).....	37

Figure 3.9 : Etapes d'Électrophorèse sur gel d'Acrylamide.....	39
Figure 3.10 : Mesure de la hauteur de tige du blé tendre.....	40
Figure 3.11 : Mesure de la longueur de l'épi du blé tendre.....	41
Figure 3.12 : Nombre de talles par plant du blé tendre.....	41
Figure 3.13 : Nombre de grains par épi du blé tendre.....	42
Figure 4.1.: Analyse d'extraction d'ADN génomique totale des parents sur gel d'agarose à 1%, 120 volts pour migration pendant 1h30min, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 1KB.....	50
Figure 4.2 : Polymorphisme des génotypes pour le gène Lr 46 avec le marqueur SSR, Xgwm 44. Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200 volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.....	46
Figure 4.3 : Polymorphisme des génotypes pour le gène Lr 46 avec le marqueur SSR, Xgwm140. Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.....	47
Figure .4.4 : Polymorphisme des génotypes avec le marqueur STS pour le gène Lr 34. Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200 volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.....	48
Figure 4.5 : Polymorphisme des génotypes avec le marqueur STS pour le gène Lr 37. Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200 volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.....	50

Figure 4.6: Polymorphisme des géotypes avec le marqueur STS Iag pour le gène sr31. Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200 volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.....	51
Figure 4.7: Polymorphisme des géotypes avec le marqueur STS pour le gène Rht . Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200 volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.....	53
Figure 4.8 : Hauteur de tige des géotypes étudiés.....	54
Figure 4.9 : Longueur de l'épi des géotypes étudiés.....	54
Figure 4.10 : Nombre de talles par plantes des géotypes étudiés	57
Figure 4.11: Nombre de graine par épi des géotypes étudiés.....	59
Figure 4.12: Poids de 1000 graines des géotypes étudiés.....	60

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Classification de blé tendre.....	6
Tableau 2.1 :Exemple de quelques gènes majeurs de résistance aux maladies et aux insectes.....	28
Tableau 3.1 :Composition du mélange réactionnel de la PCR.....	37
Tableau 3.2 :Microsatellites utilisés pour l'analyse des génotypes de blé tendre.....	38
Tableau 4.1 :Quantités d'ADN extraites, obtenues par spectrophotomètre	43

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre 1.

1 Généralités sur blé tendre

1.1 .Origine géographique.....	3
1.2 .Origine génétique.....	4
1.3 .Description de la plante.....	5
1.3.1. Taxonomie du blé tendre.....	5
1.3.2. Morphologie du blé tendre.....	6
1.3.3. Cycle biologique de développement de blé tendre.....	9
1.4. Situation du blé dans le monde.....	11
1.5. Situation du blé en Algérie.....	12
1.5.1. Superficie, production et rendement	13
1.5.2. Consommation.....	14
1.5.3. Importation.....	15
1.6. Amélioration du blé tendre	16

2. Biotechnologie et marqueurs moléculaires

1. Biotechnologie végétale.....	18
1.1.Définition de la Biotechnologie végétale	18
1.2.Différents types de biotechnologie végétale.....	18
1.2.1. Culture in Vitro.....	18
1.2.2. Transgénèse	18
1.2.3. Marqueur moléculaire	18
2. Marqueur moléculaire.....	19
2.1.Définitions du marqueur moléculaire.....	19
2.2.Caractéristique du marqueur moléculaire.....	19
2.3.Types du marqueur moléculaires.....	20
2.3.1. Type de marqueur non PCR.....	20
2.3.1.1. Marqueurs RFLP.....	20
2.3.2. Types de marqueurs révélés par PCR	21
2.3.2.1.Les microsatellites.....	21

2.3.2.2. Marqueurs AFLP.....	22
2.3.2.3. Marqueurs RAPD.....	23
2.4. Comparaison des principales techniques de marqueur moléculaire.....	23
2.5. La technique de la PCR.....	25
2.5.1. Définition de la PCR.....	25
2.5.2. Principe de l'amplification.....	25
2.6. Sélection assistée par les marqueurs.....	27
2.7. Principaux gènes de résistance.....	28
2.7.1. Principaux gènes de résistances aux maladies.....	28
2.7.2. Principaux gènes de résistances aux stress abiotique et agronomique.....	29

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1. Site de l'expérimentation.....	30
2. Matériel.....	30
2.1. Matériel végétale.....	30
2.2. Equipement et produits de laboratoire.....	30
3. Mise en place de l'essai.....	31
3.1. Germination.....	31
3.2. Transplantation.....	31
4. Pratiques culturales.....	32
4.1. Irrigation.....	32
4.2. Désherbage.....	32
4.3. Observations.....	32
4.4. Récolte.....	32
5. Génotypage de blé tendre.....	33
5.1. Prélèvement de feuille.....	33
5.2. Broyage de feuille.....	34
5.3. Extraction d'ADN.....	35
5.3.1. Quantification d'ADN.....	35
5.3.1.1. Quantification d'ADN par spectrophotométrie.....	35
5.3.1.2. Quantification de l'ADN par électrophorèse.....	36

5.3.2. La réaction de polymérisation en chaîne PCR.....	37
5.3.3. Electrophorèse des produits de la réaction PCR	39
6. Phénotypage des génotypes de blé tendre.....	40
6.1.Hauteur de tige.....	40
6.2.Hauteur de l'épi.....	40
6.3.Nombre de talles par plante.....	41
6.4.Nombre de grains par épi.....	42
6.5.Poids de mille grains.....	42
7. Analyse statistique.....	42

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Génotypage.....	43
1.1. Analyse de la quantification d'ADN.....	43
1.1.1. Analyse des échantillons par spectrophotomètre.....	43
1.1.2. Analyse des échantillons sur gel d'agarose.....	44
1.2. Analyse du polymorphisme des génotypes avec 7 marqueurs.....	45
1.2.1. Analyse des résultats du génotypage des génotypes pour le gène de résistance à la rouille brune Lr 46 avec les marqueurs Xwmc44 et Xgwm140.....	45
1.2.2. Analyse des résultats du génotypages des génotypes pour le gène de résistance à la rouille brune Lr 34.....	47
1.2.3. Analyse des résultats du génotypage des génotypes pour le gène de résistance à la rouille brune Lr 37.....	49
1.2.4. Analyse des résultats du génotypage des génotypes pour le gène de résistance à la rouille brune Sr31 pour le marqueur Iag 95.....	50
1.2.5. Analyse des résultats du génotypages des génotypes pour le gène de nanisme Rht.....	52

2. Phynotypage.....	52
2.1. Hauteur de tige.....	53
2.2. Longueur de l'épi.....	55
2.3. Nombre de talle par plante.....	56
2.4. Nombre de graines par épi.....	57
2.5. Poids de mille graines.....	59

Conclusion

1. Conclusion	61
2. Perspectives.....	63

Références bibliographiques.....	64
---	-----------

Annexes

Introduction

Les céréales tiennent, de loin, la première place quant à l'occupation des terres agricoles, parce qu'elles servent d'aliments de base pour une grande proportion de la population mondiale.

En Algérie, tout comme en Afrique du Nord, ces cultures représentent la principale spéculation et drainent plusieurs activités de transformation, en semoulerie, en boulangerie et en industrie alimentaire. Elles constituent également la base de l'alimentation et occupent une place privilégiée dans les habitudes alimentaires des populations aussi bien dans les milieux ruraux qu'urbains (Boulal et *al.*, 2007).

La production de blé et son utilisation ont été fortement liées au développement de l'agriculture et des civilisations. La domestication du blé, plus que n'importe quelle autre culture a permis la production de vivre en quantité suffisante pour supporter l'essor des communautés, le développement de la culture, ainsi qu'une croissance continue des populations. De 1930 à 1970, le monde a connu une augmentation importante dans les rendements des cultures, notamment, celle des céréales, grâce à l'application des principes de la génétique et des biotechnologies dans le domaine de l'amélioration des plantes (Khush, 1999).

En Algérie, la production céréalière n'a pas connu cette évolution et celle des blés varie de 1.6 à 1.8 millions de tonnes en moyenne. L'Algérie est un des principaux pays importateurs de blé dans le monde, avec une moyenne de 4 millions de tonnes par an, pour couvrir la demande de la démographie croissante (32 millions d'habitants). En effet la consommation annuelle de blé est approximativement de 220 kilogrammes par habitant et par an (MADR, 2011).

A cause de ce déficit en production qui ne couvre pas les besoins des populations, les chercheurs ont mis au point des programmes d'amélioration visant en premier lieu, la sélection de variétés bien adaptées aux conditions pédo-climatiques. Le sélectionneur doit choisir une stratégie d'action qui peut maximiser ses chances de création d'une bonne variété en utilisant les ressources génétiques, les méthodes de sélection classiques et les nouvelles technologies de biologie moléculaire et en intégrant au mieux les outils de la biotechnologie, tels les marqueurs moléculaires en sélection assistée par marqueurs.

Afin de préserver, restaurer et valoriser les caractères des génotypes de blé tendre, il faut d'abord étudier ses caractéristiques génétiques qui sont matérialisées extérieurement par les caractères phénotypiques représentés par la morphologie, dont la connaissance constitue un préalable à l'amélioration variétale.

L'objectif de notre travail a porté sur deux étapes :

- Génotypage de 23 génotypes de blé tendre par marqueurs moléculaires liés aux gènes de résistance aux maladies et au nanisme ;
- phénotypage de 23 génotypes de blé tendre selon les paramètres suivants : la hauteur de la tige, la hauteur de l'épi ; le nombre de talle par plante, le nombre de graines par épi et le poids de mille grains.

Le manuscrit est présenté en 3 chapitres : le 1^{er} chapitre traite des généralités sur le blé tendre, définit la biotechnologie et les marqueurs moléculaires, le 2^{ème} chapitre présente le matériel et méthodes utilisés dans notre étude et enfin, le 3^{ème} chapitre met en exergue les résultats obtenus et leurs discussions.

1. Généralités sur blé tendre

1.1 Origine géographique

La plupart des recherches archéologiques ont confirmé que les origines du blé se situent dans les zones du Croissant fertile ; zone couvrant la Palestine, la Jordanie, la Syrie, la Turquie, le Liban, l'Irak et une grande partie de l'Iran (Badr *et al.*, 2000 ; Bonjean., 2001) . A partir du Croissant fertile le blé a été diffusé vers le Nord-Ouest par les plaines côtières du bassin méditerranéen (l'Italie, la France et l'Espagne), et à travers des Balkans (chaîne montagneuse de la Bulgarie), puis en suivant la vallée du Danube (Ukraine, Moldavie, Bulgarie, Roumanie, Serbie, Monténégro, Croatie, Hongrie et Slovaquie) pour arriver à la vallée du Rhin (Suisse, France, Allemagne et Pays-Bas), entre environ 5000 et 6000 ans avant J.-C.

Dans le même temps, le blé a été introduit vers l'Asie et l'Afrique, mais son introduction en Amérique est très récente, particulièrement le blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Elle a été faite en 1529 par les espagnols au Mexique. Alors qu'en Australie, elle été faite par les anglais seulement en 1788 à partir des pools génétiques européens (Doussinault *et al.*, 2001) (Fig 1.1).

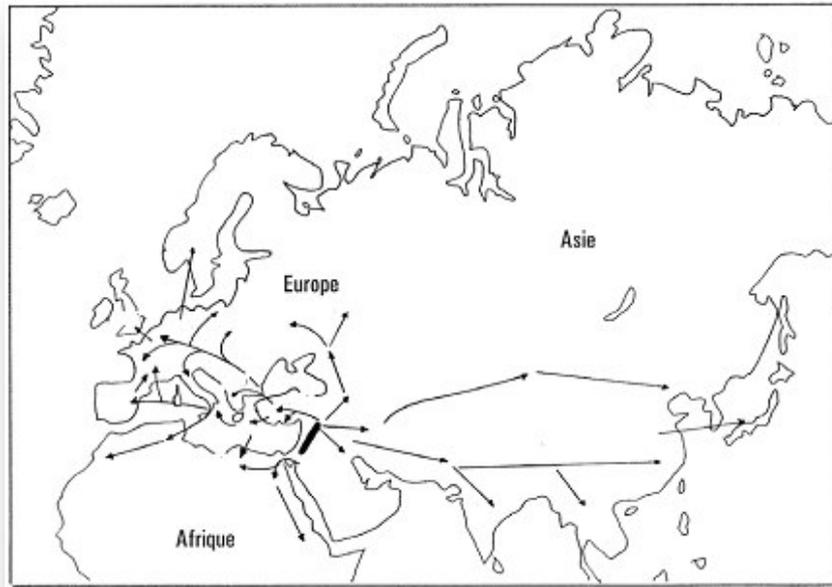


Figure 1.1 : Carte du centre d'origine et de la diffusion de la culture de blé (Bonjean, 2001)

1.2. Origine génétique

La grande variabilité de *T. aestivum* laisse à penser qu'un nombre indéfini de croisements indépendants entre divers génotypes de blés tétraploïdes et plusieurs formes d'*Aegilops squarrosa* et *T. aestivum* seraient apparus entre 7000 et 8000 avant J.-C. dans les zones de culture des blés tétraploïdes communes avec l'aire de distribution d'*A. squarrosa* qui comprendrait le Croissant fertile de la Turquie à l'Ouest jusqu'aux confins de la Chine à l'Est (Bonjean, 2001).

Le blé tendre (*T. aestivum* L.) est un allohexaploïde ($2n=42$) constitué de trois génomes A, B et D, il résulte de l'hybridation successive de génomes diploïdes et tétraploïdes avec des génomes diploïdes. La première hybridation s'est faite il y a 0.5 à 1.3 million d'années entre *Triticum urartutum* (AuAu, $2n=14$) et une ou plusieurs plantes encore non identifiées originaire(s) le plus probablement de la section Sitopsis (BB, $2n=14$) (Kilian et al., 2007). Celle-ci a résulté en un blé tétraploïde *Triticum turgidum* L. ($2n= 28$, AABB) (Fig 1.2) et qui a donné naissance à plusieurs groupes variétaux distincts dont *T. turgidum* var. *diccocoides*, non cultivable et considéré comme le plus proche du type primitif. Cette lignée a, à son tour, donné lieu à plusieurs groupes cultivés qui sont tous inter-fertiles. La variété *T. turgidum* var. *Dicoccon* (AABB), dérivée de *T. turgidum* var. *diccocoides*, est le probable progéniteur du blé

hexaploïde (AABBDD) au travers d'une hybridation avec l'espèce sauvage *Aegilops tauschii* (DD), il y a 8 à 10000 ans. Des études ont indiqué l'existence d'au moins 2 progéniteurs génétiquement différents à l'origine du génome DD du blé hexaploïde, suggérant des événements indépendants de polyploïdisation (Giles et Brown, 2006).

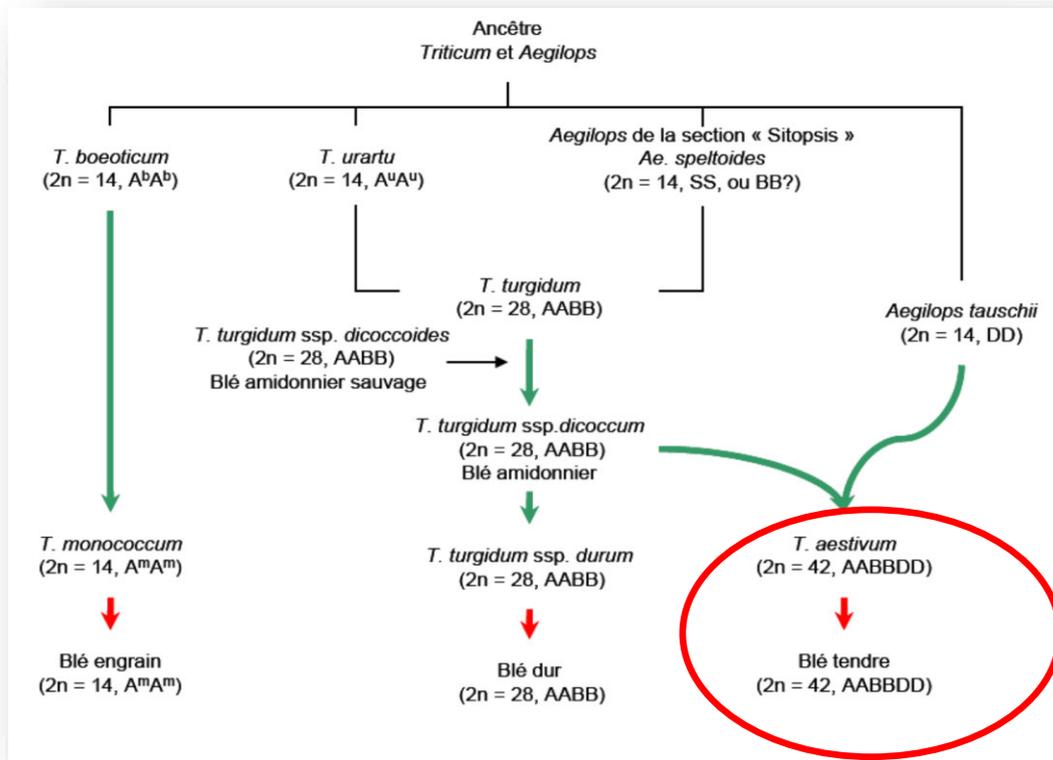


Figure 1.2 : Phylogénie du blé tendre d'après (Feuillet et al.2008).

1.3. Description de la plante

Le blé tendre est une plante herbacée, monocotylédone qui appartient à la famille des graminées, elle fait partie des espèces céréalières qui sont des plantes cultivées pour leurs grains utilisés dans l'alimentation humaine et des animaux.

1.3.1. Taxonomie du blé tendre

Le blé tendre appartient à la classification illustrée dans le tableau suivant :

Tableau 1.1. : Classification de blé tendre (Doumandji et *al.*, 2003)

Classification	Blé tendre
Règne	Plantae (Règne végétale)
Division	Magnoliophyta (Angiospermes)
Classe	Liliopsida (Monocotylédons)
Sous classe	Commelinidae
Ordre	Poale
Famille	Poaceae (Graminées)
Sous famille	Triticeae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum aestivum</i> L.

1.3.2. Morphologie du blé tendre

Le blé tendre (*Triticum aestivum*) est une graminée annuelle, de hauteur moyenne, constitué d'un appareil végétatif et d'un appareil reproducteur.

1.3.2.1. Appareil végétatif

1.3.2.1.1. Racines

Le système racinaire assure deux fonctions : l'ancrage de la plante au sol et son alimentation en eau et en éléments minéraux (Boulal et *al.*, 2007).

Les céréales disposent de deux systèmes radiculaires successifs :

- le système racinaire primaire ou séminal, fonctionnel dès la germination.

On compte 5 à 8 racines séminales chez le blé tendre (Hamadache, 2001 ; Boulal et *al.*, 2007);

- le système racinaire secondaire ou racines adventives, de type fasciculé apparaît au tallage. Le nombre de racines est d'autant plus élevé que le tallage est plus important et que la phase de tallage est plus longue (Boulal et *al.*, 2007).

1.3.2.1.2. Tiges (chaumes ou talles)

Au niveau de la partie aérienne des céréales, on distingue une tige principale appelée le maître-brin et des tiges secondaires appelées talles qui naissent à la base de la plante (Boulal et *al.*, 2007).

Les nœuds sont des zones méristématiques à partir desquelles s'allongent les entre-nœuds. Chaque nœud est le point d'attache d'une feuille (Hamadache, 2001).

Les entre-nœuds sont les parties de la tige situées entre les nœuds ; ils sont généralement creux chez les blés tendres.

1.3.2.1.3. Feuilles

Comme chez toutes les graminées, la présence et la forme des oreillettes ou stipules et de la ligule, au point d'insertion de la feuille autour de la gaine, permet de déterminer l'espèce de la plante examinée, avant l'apparition de l'épi (Soltner, 1999).

Les feuilles sont à nervures parallèles et formées de deux parties :

- la partie inférieure entourant la jeune pousse ou la tige (la gaine).
- la partie supérieure en forme de lame (le limbe).

Chez le blé, les oreillettes sont longues, non embrassées et généralement ciliées mais quelque fois glabres (Boulal et *al.*, 2007) .

1.3.2.2. Appareil reproducteur

1.3.2.2.1. Inflorescence

Chez le blé, le type d'inflorescence est un épi, constitué d'un ensemble d'unités appelées épillets. Chaque épillet est une petite grappe d'une à cinq fleurs, dépourvues de pétales et enveloppées chacune par deux glumelles (inférieures et supérieures). Les fleurs sont attachées sur le rachis, rameau partant de l'axe principal de l'inflorescence (Fig 1.3)(Boulal et *al.*, 2007).

Le blé est une plante autogame ou à autofécondation, c'est-à-dire que la fleur est cléistogame et que la fécondation a lieu à l'intérieur des glumelles, avant que les étamines n'apparaissent à l'extérieur (Soltner, 1999). Chaque fleur contient trois étamines et un ovaire surmonté de deux styles plumeux.

Les glumes et les glumelles sont éliminées au moment du battage pour libérer le grain (Acevedo et *al.*, 2002).

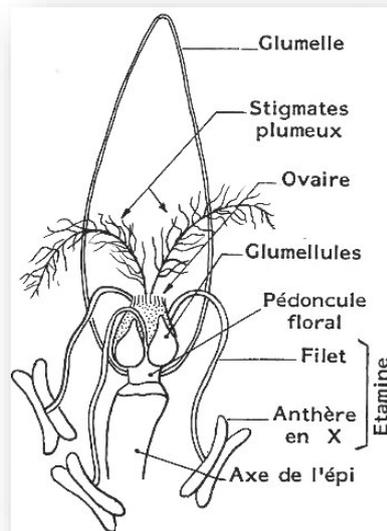


Figure 1.3 : Fleur du blé tendre (Soltner, 2005)

1.3.2.2.2. La graine

Le grain de blé a une forme ovoïde et présente sur la face ventrale un sillon qui s'étend sur toute la longueur. A la base dorsale du grain, se trouve le germe qui est surmonté par une brosse (Fig. 1.4).

Le grain de blé mesure entre 5 et 7 mm de long et entre 2,5 et 3,5 mm d'épaisseur, pour un poids compris entre 20 et 50 mg. (Surget et Barron, 2005).

Le grain de blé se compose de trois parties (Emillie, 2007) :

- **L'enveloppe :** l'écorce représente à elle seule 20% du poids du grain, elle est formée de plusieurs couches.
- **L'amande :** encore appelée albumen, représente la majeure partie de blé, 77 à 80% du poids du grain, elle est limitée à sa partie inférieure par le germe.
- **Le germe :** il représente environ 3% du poids de la graine, il constitue la future plante, c'est un groupe riche en matière grasses, en sucres et en vitamines (B et E).

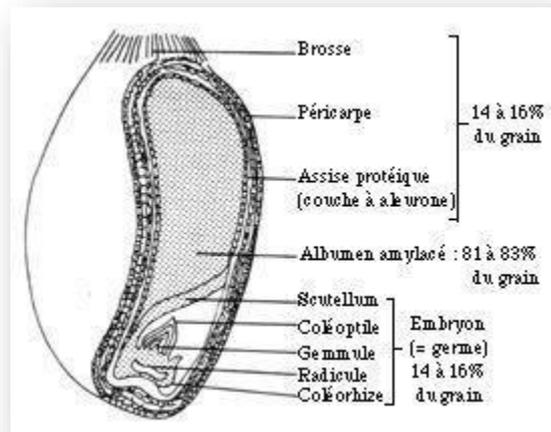


Figure 1.4. : Coupe longitudinale du grain de blé tendre (*Triticum aestivum* L.)

(Soltner, 2005)

1.3.3. Cycle biologique de développement de blé tendre

Le cycle biologique du blé est une succession de périodes subdivisées en phases et en stades (Fig. 1.5). La période végétative se caractérise par un développement strictement herbacé et s'étend du semis jusqu'à fin tallage. La période reproductrice comprend les phases de l'épiaison jusqu'à la floraison et se termine par les phases de formation du grain jusqu'à la maturation (Soltner, 2005).

1.3.3.1. Germination

La température optimale de germination du blé tendre se situe entre 12 et 20°C et le zéro de germination est compris entre 3 et 4°C. La coléoptile qui a pour rôle de protéger la première feuille apparaît 4-6 jours après la germination (Rorat, 2006).

1.3.3.2. Stade levée

La levée se fait réellement dès la sortie des feuilles à la surface du sol. Elle est atteinte lorsque la majorité des lignes de semis sont visibles (Gate, 1995).

1.3.3.3. Stade tallage

La production des talles commence à l'issue du développement de la troisième feuille. L'apparition de ces talles se fait à un rythme régulier égal à celui de l'émission des feuilles. Cette étape marque la fin de la période végétative et le début de la phase reproductive (Gate, 1995).

1.3.3.4. Stade épiaison et floraison

Durant l'épiaison, les épis apparaissent à l'extérieur des tiges. Ce stade est terminé lorsque l'épi du maître brin est complètement sorti hors de la gaine, suivi d'une floraison qui peut durer de trois à six jours, selon les conditions météorologiques. Elle débute habituellement juste au-dessus du centre de l'épi, puis se poursuit en s'étendant vers l'apex et la base de l'épi (Rorat, 2006).

1.3.3.5. Stade de développement et maturité des grains

Au bout de 16 à 17 jours, le grain a acquis sa forme et sa taille définitive, puis sa croissance évolue, il passe du stade laiteux au stade pâteux puis au stade grain dur (Felliet, 2000).

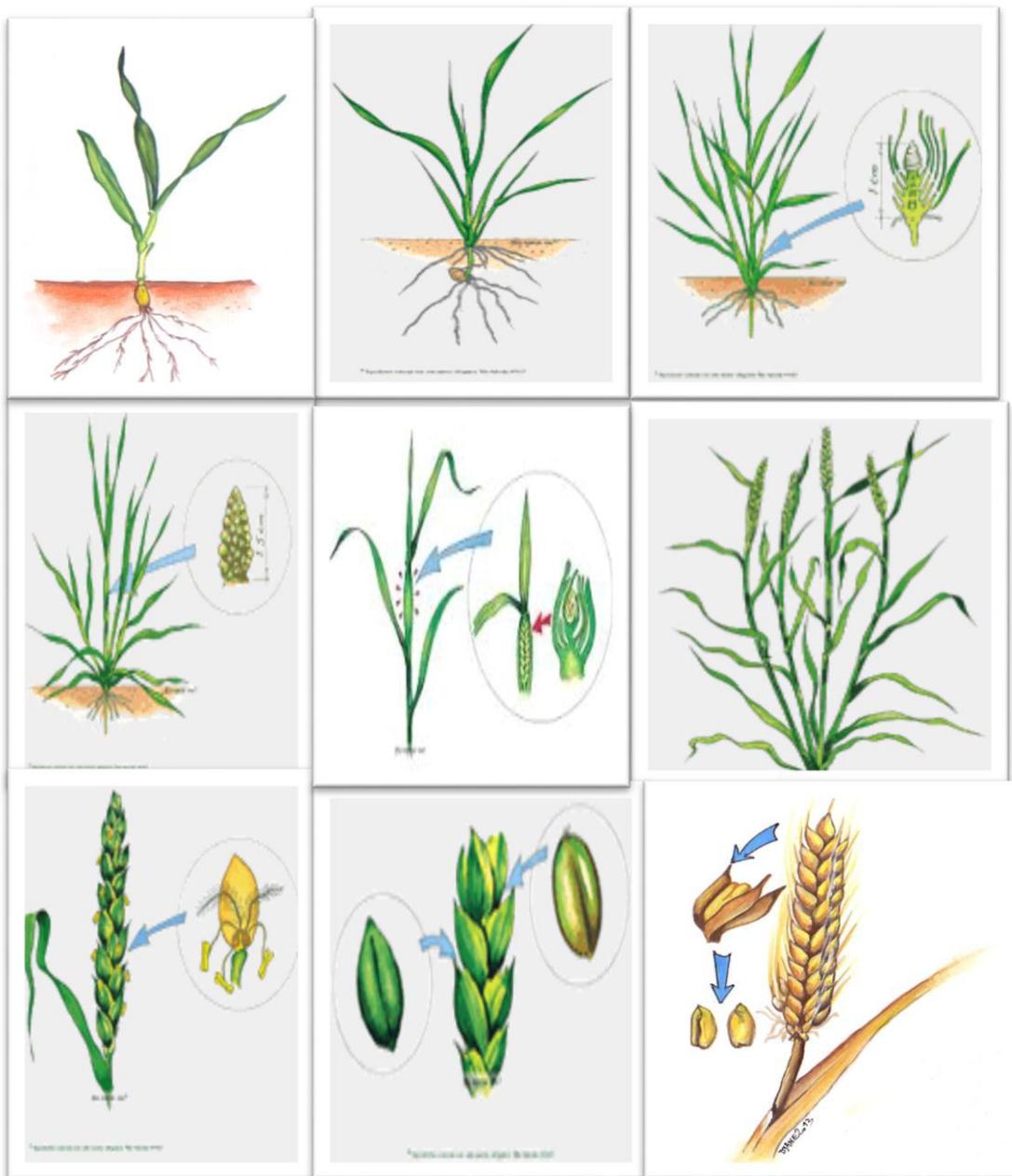


Figure 1.5.: Cycle biologique de développement du blé tendre (Soltner, 2005)

1.4. Situation du blé dans le monde

De nos jours, la culture des céréales et particulièrement du blé a connu un véritable essor, ceci est dû à la forte croissance des populations consommatrices et donc à son intérêt majeur au niveau du marché mondial.

Le blé est une céréale d'importance économique mondiale majeure. Il est avec le riz, la céréale la plus consommée par l'Homme et représente un cinquième des apports caloriques dans l'alimentation humaine (Zohary et Hopf, 2000). Avec une production mondiale de 650 millions de tonnes en 2010, le blé est la 3ème céréale la plus produite dans le monde, derrière le maïs (844 millions de tonnes) et le riz (672 millions de tonnes) représentant 26,75% de la production mondiale des céréales et occupe la plus grande surface des céréales cultivées dans le monde avec 216 millions d'hectares.

Selon Benalia (2014), l'Asie du Sud est la première région mondiale productrice de blé, avec 124 Mt en 2013/2014 dont 92 Mt localisés en Inde et 24 Mt au Pakistan et avec 122 Mt, l'Asie de l'Est serait le second producteur mondial de blé où la totalité de la production est assurée par la Chine.

1.5. Situation du blé en Algérie

La céréaliculture en Algérie est pratiquée essentiellement sous conditions pluviales dans les zones semi-arides (Fig. 1.6), ce qui la rend tributaire de la pluviométrie et affecte sa production en cas de sécheresse (Djennadi et *al.*, 2011). Ainsi, le manque de précipitations, mais aussi la mauvaise répartition des pluies pendant l'année expliquent en grande partie la forte variation et l'instabilité de la production céréalière et en particulier celle du blé.

Bien que la filière blé soit une filière stratégique pour l'Algérie, elle reste sous développée présentant ainsi :

- une production insuffisante pour satisfaire la demande nationale ;
- une consommation par la population sans cesse croissante ;
- des importations de blé très importantes.

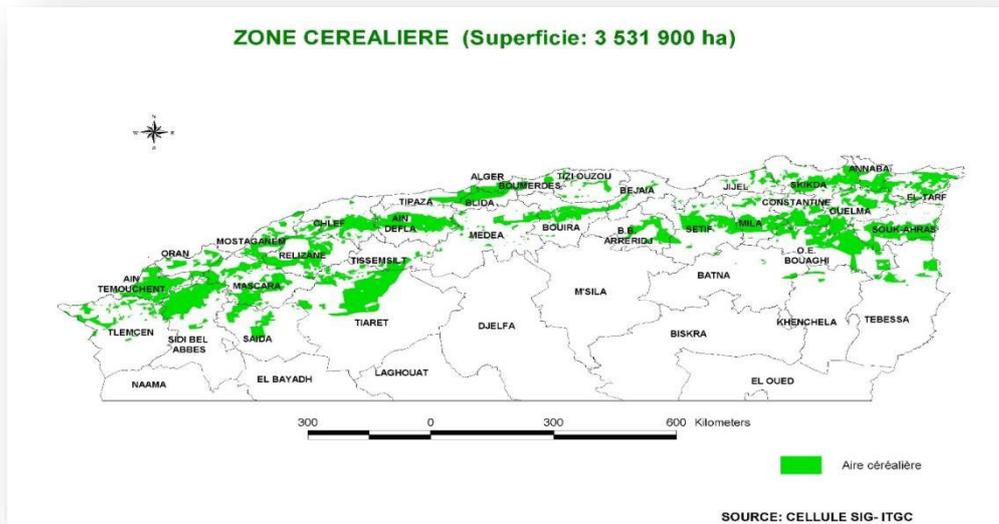


Figure 1.6 : Zones de culture des céréales dans le Nord de l’Algérie (Djennadi et *al.*, 2011)

1.5.1. Superficie, production et rendement

Du point de vue surface, le blé occupe une place très importante, il représente environ 45% de la surface agricole utile (SAU) et 60% des superficies céréalières emblavées (MADR, 2014). Actuellement, la superficie moyenne du blé se situe à 1,2 million d’ha pour le blé dur et 760.000 ha pour le blé tendre (Fig 1.7).

La production nationale moyenne des céréales, durant la saison 2008-2013, n’a pas dépassé les 3,5 millions de tonnes dont 0,6 million de tonnes pour le blé tendre. Alors que les besoins sont estimés à environ 8 millions de tonnes par an (MADR, 2014). La production des céréales et du blé tendre, en particulier, est loin de couvrir la demande du pays, avec des rendements pratiquement très faibles.

Pour les céréales, le défi est de hisser le rendement à l’hectare à, au moins, 30 quintaux durant les cinq prochaines années contre 18 q/ha en moyenne actuellement et 6 q/ha en 1962.

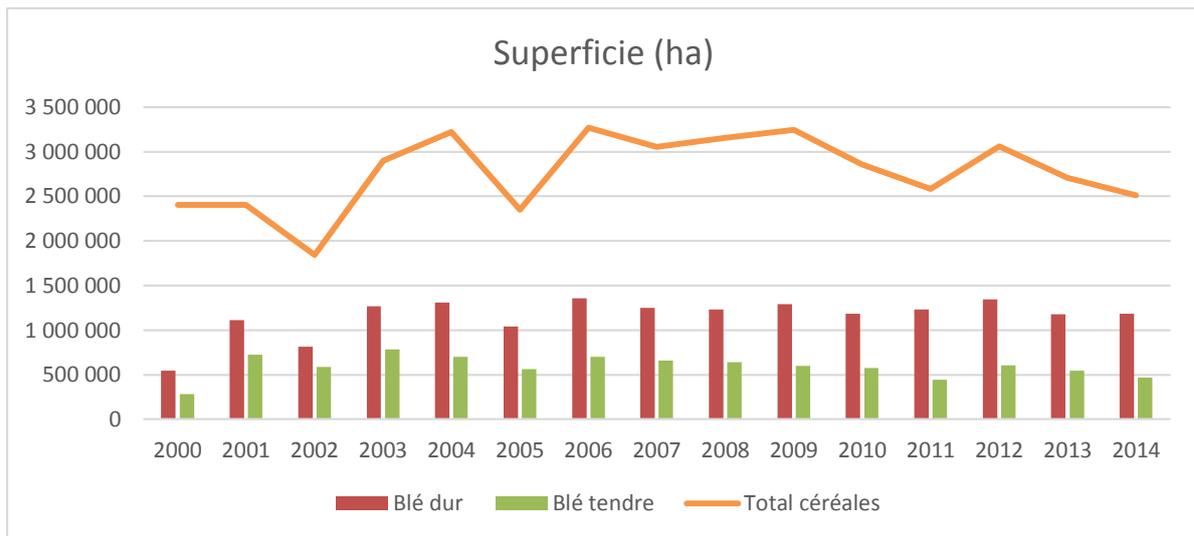


Figure 1.7 : La superficie du blé en Algérie 2000-2014 (MADR, 2014)

1.5.2. Consommation

La population algérienne est caractérisée par un mode alimentaire basé essentiellement sur la consommation des céréales sous toutes leurs formes (pâtes alimentaires, couscous, galettes de pain, etc.) et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. Ainsi, la consommation céréalière moyenne par habitant est l'une des plus importantes au monde. En 2005, elle a été estimée à 215 kg /hab/an (Chehat, 2007).

Ainsi, avec une consommation estimée à plus de 200 kg par personne et par an de blé, la production nationale est incapable de satisfaire une demande alimentaire de plus en plus importante qui classe le pays au rang des plus grands pays importateurs du blé dans le monde (Fig 1.8).

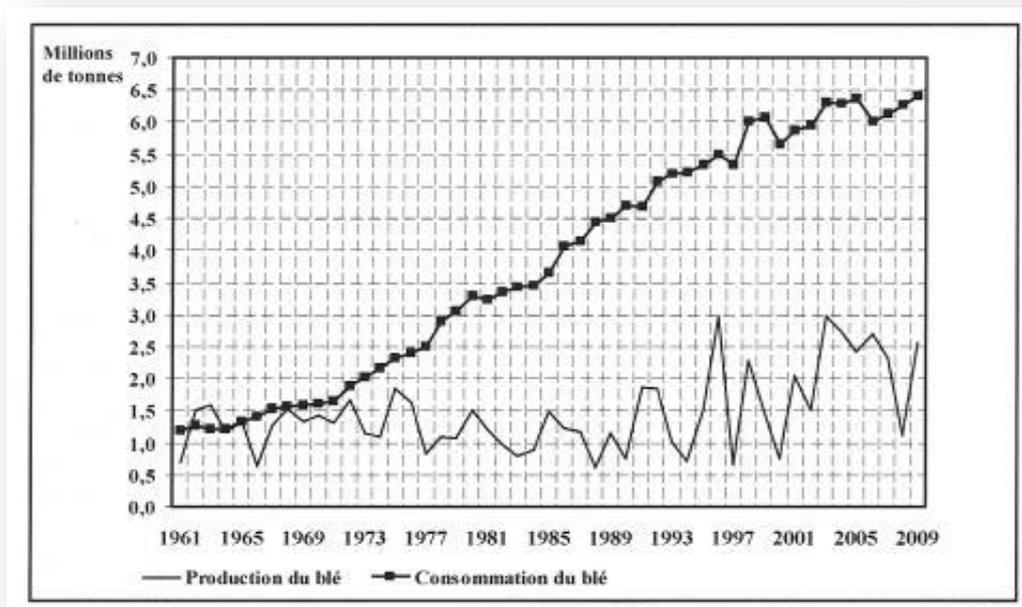


Figure 1.8 : Production et consommation totale du blé en Algérie entre 1961 et 2009 (FAO, 2009)

1.5.3. Importations

L'Algérie est l'un des premiers pays importateurs de blé au monde, notamment de blé tendre, et elle est ainsi dépendante du marché international. En termes de valeur, la facture alimentaire en Algérie a atteint plus de 6 milliards de dollars en 2010, alors qu'elle a connu une stagnation en 2013 pour atteindre 2,12 milliards de dollars, soit la même valeur des importations de 2012 (Chellali, 2007).

Les importations de blé tendre sont régulièrement plus importantes du fait de l'évolution de la consommation et de la faible production locale. Le taux de couverture en blés par les importations s'établit à 74% sur la période 2005-2009, pour des besoins nationaux de 7,6 millions de tonnes. Le déficit concerne beaucoup plus le blé tendre que le blé dur (Fig. 1.9). L'Algérie est donc confrontée à un problème de dépendance extérieure qui s'accompagne de lourdes factures et de fortes incertitudes en raison de la volatilité des marchés. Pour le blé tendre, le coût des importations de céréales et dérivés a presque augmenté depuis 2000 pour dépasser 4,2 milliards de dollars en 2011, dont 68% pour le blé (Rastoin et Benabderrazik, 2014).

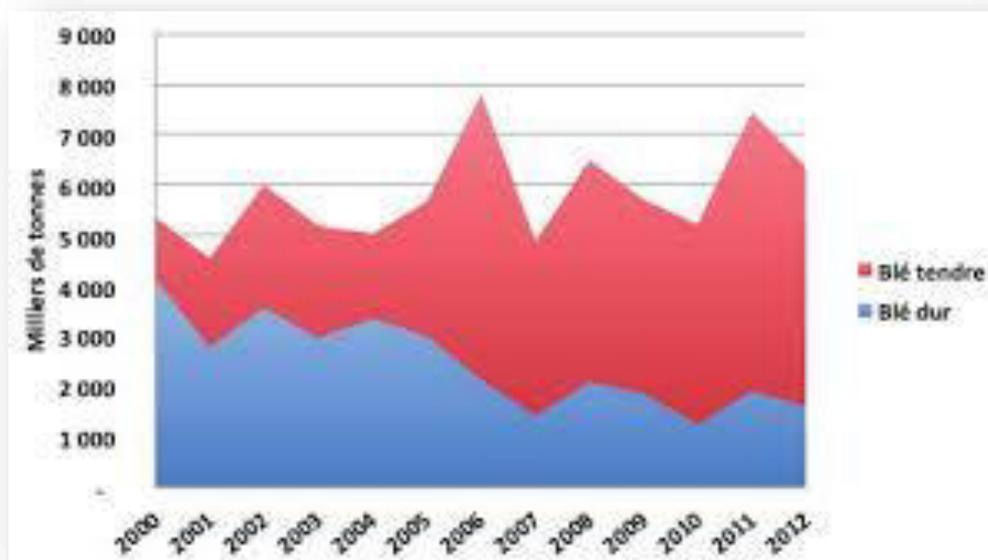


Figure 1.9 : Les importations de blés en Algérie (Rastoin et Benabderrazik, 2014)

1.6. Amélioration du blé tendre

La faiblesse de la production céréalière et particulièrement celle des blés est due à plusieurs facteurs dont les plus importants sont considérés être : les pratiques culturales, les aléas climatiques et les variétés anciennes à faible rendement (Sayoud et Benbelkacem, 1996). Un autre élément parmi les plus contraignants de la production céréalière est le parasitisme dû essentiellement aux maladies et insectes (Eyal et *al*, 1987).

La culture du blé tendre est très sensible aux insectes nuisibles dont la mouche de Hesse et le puceron (qui peut en outre, transmettre au blé des maladies virales), et aux maladies causées principalement par les champignons parasites dont la rouille jaune, la rouille brune, la rouille noire, le piétin-verse, l'oïdium et le charbon.

L'amélioration de la production du blé passe donc par un meilleur contrôle de ces maladies et parasites. En effet, le développement de variétés à grande production avec une qualité adéquate du grain reste le principal objectif du sélectionneur. Toutefois, à ces besoins classiques s'ajoutent aujourd'hui des exigences découlant d'une grande prise de conscience sociale en matière de protection de l'environnement, menant à la limitation des traitements

phytosanitaires et de la fertilisation chimique. Les techniques nouvelles, en particulier les marqueurs moléculaires, apparaissent comme des outils indispensables d'appui aux programmes classiques d'amélioration. En effet, contrairement aux marqueurs traditionnels (morphologiques et biochimiques), les marqueurs moléculaires ne sont pas influencés par les fluctuations de l'environnement et sont indépendants de l'organe analysé et du stade de développement de la plante. Ces marqueurs moléculaires deviennent aujourd'hui un outil essentiel d'amélioration des plantes et ouvrent de nouvelles perspectives pour le sélectionneur. La recherche de marqueurs moléculaires qui sont étroitement liés aux gènes de résistance est une étape importante avant leur exploitation pratique pour accélérer et améliorer l'efficacité des programmes de sélection (Hospital, 2001 ; Moreau et *al.*, 2001 ; Eagles et *al.*, 2001 ; Dekkers et Hospital, 2002).

2. Biotechnologie et marqueur moléculaire

1. Biotechnologie végétale

1.1. Définition de la Biotechnologie

La Biotechnologie est toute application technologique qui utilise des systèmes biologiques, des organismes vivants, ou leurs dérivés, pour réaliser ou modifier des produits ou des procédés à usage spécifique.

La biotechnologie végétale décrit un processus précis dans lequel des techniques scientifiques sont employées pour développer les plantes et pour créer des variétés qui répondent aux besoins de l'agriculture (Celine, 2009).

1.2. Les types de la biotechnologie

Les biotechnologies apportent de nouvelles réponses à la sélection classique pour maîtriser les transferts de gènes et pour créer rapidement des lignées pures, les techniques les plus utilisées sont :

1.2.1. La culture *in vitro*

La culture *in vitro* est basée sur la mise en culture d'explant en milieu artificiel contrôlé, à l'abri de toutes contaminations. Le but de la culture *in vitro* est de permettre la régénération de la plante entière autonome et fertile à partir de la propriété des cellules végétales : la totipotence est l'habilité d'une cellule à se différencier puis après de se développer en un nouvel organisme à part.

Les techniques de culture *in vitro* sont des outils qui permettent d'améliorer les plantes mais aussi d'assainir les variétés ou bien de réduire les coûts de production. Cependant, bien d'autres applications sont possibles (Sharma et Gill, 1983).

1.2.2. Transgénèse

C'est une technique du génie génétique, elle permet le transfert de gène d'un organisme (plante par exemple) à un autre. On obtient ainsi de nouvelles caractéristiques exprimées par le ou les gènes introduits appelés transgènes. Cette technique permet l'apport de caractères d'intérêt jusque-là inaccessible à certaines espèces avec une grande précision (Chetmi, 2009).

1.2.3. Marqueur moléculaire

Les marqueurs moléculaires d'ADN sont les plus étudiés. Ces marqueurs sont des séquences codantes ou non, présentant un polymorphisme selon les individus. Par les techniques de biologie moléculaire, plusieurs outils ont été développés, permettant d'obtenir directement à partir des marqueurs polymorphes de l'ADN des plantes. Les plus utilisés sont les marqueurs RFLP, RAPD, AFLP et les microsatellites (Lambert, 2006).

2. Marqueurs moléculaires

2.1. Définition du marqueur moléculaire

Les marqueurs moléculaires sont un type de marqueur génétique composé de fragments d'ADN qui servent de repères pour suivre la transmission d'un segment de chromosome d'une génération à l'autre. Ainsi, si un allèle X porté par un individu est porté par son père mais pas par sa mère, l'individu l'a reçu de son père. Les marqueurs moléculaires pour cet allèle X permettent alors d'établir l'origine parentale de cet allèle (Boichard et *al.*, 1998).

Contrairement aux marqueurs associés à des caractéristiques morphologiques, physiologiques ou biochimiques, les marqueurs moléculaires révèlent directement les modifications du patrimoine génétique qu'ils se traduisent ou non par une modification phénotypique (phénotype), physiologique ou biochimique. Ces marqueurs moléculaires sont donc des indicateurs neutres de variabilité génétique qui permettent d'identifier le polymorphisme entre famille, genres, espèces, variétés, populations et même entre individus. Ainsi, les marqueurs moléculaires sont des outils très efficaces pour la phylogénie moléculaire puisqu'ils peuvent établir des relations de parenté entre individus .

La majorité des stratégies de marquage moléculaire détecte des mutations ponctuelles de la séquence d'ADN (comme les techniques AFLP polymorphisme), RFLP ou SNP , ou bien des modifications du nombre de copies de motifs répétés très courts de type microsatellites .

Une troisième catégorie de modifications du patrimoine génétique est liée à la présence et à l'activité des éléments transposables (transposon) (Morot-gaudry et Briat., 2004).

2.2. Caractéristique du marqueur moléculaire

Selon Bretting et Widrechner (1995), les conditions idéales d'un marqueur génétique sont les suivantes :

- Etre polymorphe, afin de pouvoir facilement différencier les individus ou les lignées.
- Etre relativement « neutre », tant au niveau de la valeur du caractère étudié, que de la valeur sélective.
- Etre codominant, pour distinguer les hétérozygotes des homozygotes.
- Etre un caractère mendélien à hérédité simple.
- Ne pas être pléiotropique ni épistatique.
- Etre dispersé le long du génome.
- Ne pas être lié à un autre marqueur.
- Etre stable, quel que soit le stade du développement.
- Ne pas avoir d'impact sur la croissance ou la reproduction sexuée.
- Etre facilement observable, sans ambiguïté possible.
- Etre peu coûteux.

2.3. Types du marqueur moléculaire

Ces marqueurs seront d'une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeur agronomique et dans les programmes de sélection assistée par marqueurs chez les céréales (Eagles et *al.*, 2001 ; Langridge et *al.*, 2001 ; Dekkers et Hospital, 2002).

De nombreuses techniques de marquage moléculaire sont aujourd'hui disponibles, ces méthodes peuvent être regroupées en deux grandes catégories : les marqueurs de type RFLP et les marqueurs basés sur la méthode de PCR. Le choix du système de marquage dépend de l'objectif précis fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire (Gupta et *al.*, 1999 ; Santoni et *al.*, 2000 ; Langridge et *al.*, 2001).

2.3.1. Type de marqueur non PCR

2.3.1.1. Marqueurs RFLP

La technique RFLP développée par Botstein et *al.* (1980) repose sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction. Une multitude de fragments d'ADN de tailles variables est générée par digestion enzymatique, puis séparée sur gel d'agarose et transférée par capillarité sous forme dénaturée sur une membrane de nylon. Cette membrane est mise en contact avec une solution contenant un fragment d'ADN ou sonde qui permet de repérer, par hybridation moléculaire, des fragments d'ADN génomique qui lui sont homologues.

La différence entre deux génotypes est révélée par autoradiographie si la sonde est marquée par le phosphore radioactif ou par réaction colorée si elle est associée à un conjugué enzymatique. Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de site de restriction) et/ou à des délétions/insertions d'un fragment d'ADN au voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde. C'est le couple enzyme/sonde qui constitue le marqueur. Bien que cette technique soit codominante et permet une analyse génétique complète, elle est lente et laborieuse. Les étapes de transfert et d'hybridation empêchent une automatisation du travail.

2.3.2. Types de marqueurs révélés par PCR

Le développement de la technique PCR offre l'avantage d'analyser les marqueurs moléculaires en un temps court tout en utilisant des concentrations faibles d'ADN. Les marqueurs basés sur la technique PCR tendent à remplacer les systèmes classiques (les marqueurs morphologiques, iso-enzymatiques et RFLP) et deviennent très nombreux. Les plus largement utilisés chez le blé sont RAPD, l'AFLP, les microsatellites ou SSR.

2.3.2.1. Les microsatellites

Selon Morgante et Olivieri (1993), les microsatellites sont constitués de séquences de di-, tri- ou tétra-nucléotides répétés en tandem. Ces éléments sont uniformément répartis en plusieurs exemplaires sur l'ensemble du génome d'une espèce et présentent un taux de polymorphisme élevé. Ce polymorphisme repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant le microsatellite.

Les séquences flanquant ces éléments répétés permettent de définir les amorces qui seront utilisées pour l'amplification PCR. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide. C'est la paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur.

- **EST**

Etiquettes de séquences exprimées : séquences anonymes ou de fonction connues, issues de programme de séquençage systématique d'ADNc. Elles Permettent d'une part d'identifier des colonnes dans l'espèce jamais étudiées, d'autre part de construire des cartes génétiques de marqueur génétiques (Morgante et Olivieri, 1993).

- **STS**

Séquence ciblée amplification PCR avec des amorces spécifiques d'une séquence sert par fois à définir la conversion d'une sonde RFLP en test PCR locus-spécifique (Olson et *al.* 1989).

- **SSR**

Sont spécifiques d'un locus et liées à la présence de répétition en tandem, formé de motif de 1 à 6 nucléotides et dispersées dans l'ensemble de génome. Elles sont très nombreuses (1 SSR en moyenne pour 21Kpb chez les dicotylédones, 1 pour 65 Kbp chez les monocotylédones) et fortement polymorphes en raison d'une variation du nombre de répétition (Samouelian et *al.*, 2009).

2.3.2.2. Marqueurs AFLP

Selon Vos et *al.* (1995), la technique est fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires. Cette technique utilise à la fois les enzymes de restriction et l'amplification PCR. L'ADN génomique est clivé par deux enzymes de restriction. Des adaptateurs de séquences connues et spécifiques des enzymes de restriction utilisés sont ajoutés aux extrémités des fragments de restriction générant ainsi une matrice pour l'amplification. Une première amplification, dite pré-amplification, est réalisée à l'aide d'amorces de séquences complémentaires à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction. La deuxième amplification, dite sélective, utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (de 1 à 3 nucléotides). Ainsi, seuls sont amplifiés les fragments possédant les bases complémentaires de ces bases arbitraires.

Ces amorces sélectives permettent de réduire le nombre de fragments amplifiés à une centaine. Ces fragments sont séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide dénaturant puis visualisés par coloration au nitrate d'argent ou révélés grâce à un marquage radioactif ou fluorescent réalisé lors de l'amplification sélective. C'est la combinaison enzyme de restriction/amorce qui permet de révéler le polymorphisme entre les individus et constitue donc le marqueur AFLP (Prins et *al.*, 2001).

2.3.2.3. Marqueurs RAPD

La technique consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de taille courte (10 pb). Une amorce RAPD permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des locus dominants. Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose. Le polymorphisme décelé est dû à des mutations soit dans les régions amplifiées soit au niveau des sites de fixation des amorces. Le polymorphisme révélé est un polymorphisme de sites d'hybridation d'amorce. Les amorces constituent donc les marqueurs. Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique. Néanmoins, la RAPD manque de reproductibilité puisqu'elle est très sensible à la concentration de l'ADN et aux conditions d'amplification (Williams *et al.*, 1999).

2.4. Comparaison des principales techniques de marqueur moléculaire

Les marqueurs RFLP et microsatellites sont spécifiques de locus, Codominants et sont utilisés généralement pour la cartographie et la détection de QTL, tandis que les marqueurs RAPD et AFLP sont dominants, non spécifiques de locus et servent essentiellement à la saturation d'une région du génome au voisinage d'un gène d'intérêt en vue de son clonage. La comparaison des principales techniques de marquage moléculaire est illustrée dans la Fig 2.1

Chaque technique de marquage moléculaire présente des avantages et des inconvénients mais toutes, excepté les SSR, restent mal adaptées aux utilisations à grande échelle.

Notamment la conversion de marqueurs RFLP liés aux gènes *Pm4a* et *Pm17* de résistance à l'oïdium et aux gènes *Lr35* et *Lr47* de résistance adulte à la rouille brune (Liu DJ. *et al.*, 1998; Seyfarth *et al.*, 1999 ; Helguera *et al.*, 2000 ; Mohler *et al.*, 2001).

Par ailleurs, pour pallier au problème lié au manque de reproductibilité des marqueurs de type RAPD chez le blé, des marqueurs RAPD liés aux gènes *Lr9* et *Lr24* de résistance à la rouille brune, *Dn2* de résistance au puceron russe et *P m 13* et *P m 21* de résistance à l'oïdium (Schachermayr *et al.*, 1994, 1995 ; Myburg *et al.*, 1998 ; Cenci *et al.*, 1999 ; Liu *et al.*, 1999).

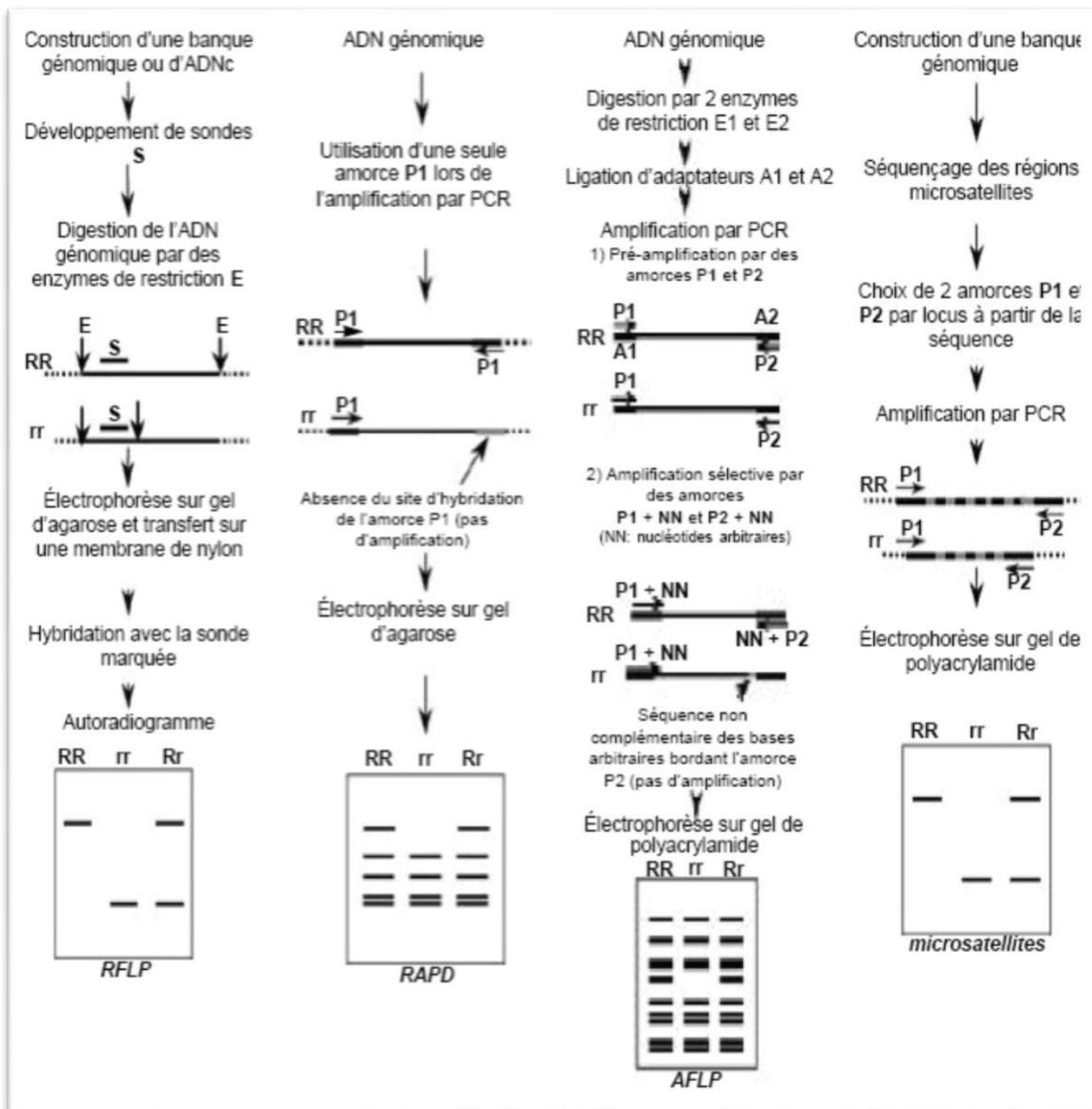


Figure 2.1 : Comparaison des principales techniques de marqueur moléculaire (Najimi *et al.*, 2003)

2.5. La technique de la PCR

2.5.1. Définition de la PCR

La PCR fut inventée par Mullis en 1983 et brevetée en 1985. Son principe repose sur l'utilisation de l'ADN polymérase, il s'agit d'une répllication in vitro de séquences spécifiques d'ADN (Lin, M et *al.*, 2000) . Cette méthode permet de générer à des dizaines de milliards d'exemplaires un fragment d'ADN particulier (la séquence d'intérêt, ADN d'intérêt ou ADN cible) à partir d'un extrait d'ADN (ADN matriciel). En effet, si la séquence d'intérêt est présente dans l'extrait d'ADN, il est possible de, sélectivement, la répliquer (on parle d'amplification) en très grande quantité. La puissance de la PCR repose sur le fait que la quantité d'ADN matriciel n'est pas, en théorie, un facteur limitant. On peut donc amplifier des séquences nucléotidiques à partir de quantités infinitésimales d'extrait d'ADN (Kandimalla et *al.*, 2000).

La PCR est donc une technique de purification ou de clonage. L'ADN extrait à partir d'un organisme ou d'un échantillon contenant des ADN d'origines diverses n'est pas directement analysable. Il contient une masse trop importante de séquences nucléotidiques. Il convient donc d'isoler, de purifier la ou les séquences qui présentent un intérêt, qu'il s'agisse de la séquence d'un gène ou de séquences non codantes (introns, transposons, mini ou microsatellites...). À partir d'une telle masse de séquences que constitue l'ADN matriciel, la PCR peut donc sélectionner une ou plusieurs séquences déterminées et les amplifier par répllication à des dizaines de milliards de copies (Mhlanga et *al.*, 2001).

2.5.2. Principe de l'amplification

- 1^{ère} étape : **la dénaturation** (94°C).

L'ADN template est chauffé à 94°C. Les deux brins de l'ADN se séparent. On parle de dénaturation de l'ADN .

- 2^{ème} étape : **l'hybridation** (40-65°C).

En descendant la température, les amorces s'apparient (s'hybrident) par complémentarité à leurs séquences cibles sur l'ADN (Fig 2.2).

- 3^{ème} étape : **l'élongation** (72°C)

A cette température, la Taq synthétise les brins d'ADN complémentaires en ajoutant des

désoxynucléotides triphosphates à la suite des amorces. Le temps d'élongation dépend de la taille du fragment à amplifier et de la vitesse de polymérisation de l'enzyme (la Taq ajoute environ 1000 nucléotides par minute) (Jackson et *al.*, 2006).

Ces trois étapes correspondent à 1 cycle de PCR (Fig 2.3) à la suite duquel on a doublé le nombre de fragment d'ADN cible initial. Environ une trentaine de cycle sont en principe effectués dans une expérience de PCR classique. Ainsi, après 30 cycles on aura amplifié 2^n fois notre ADN cible.

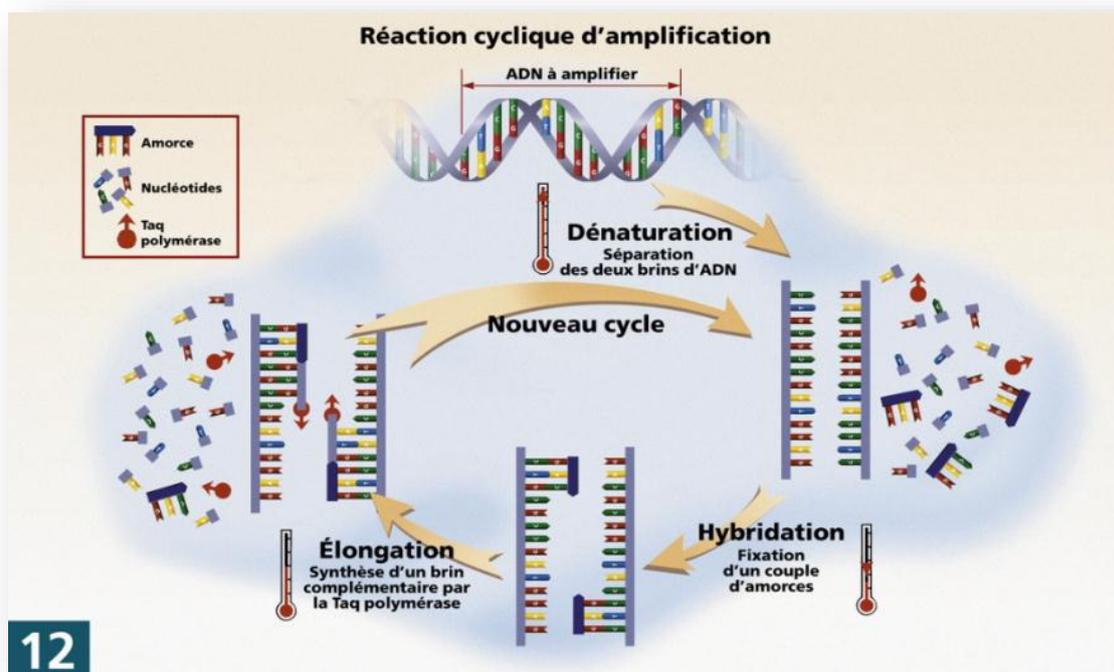


Figure 2.2 : Amplification par PCR (Lambert, 2006)

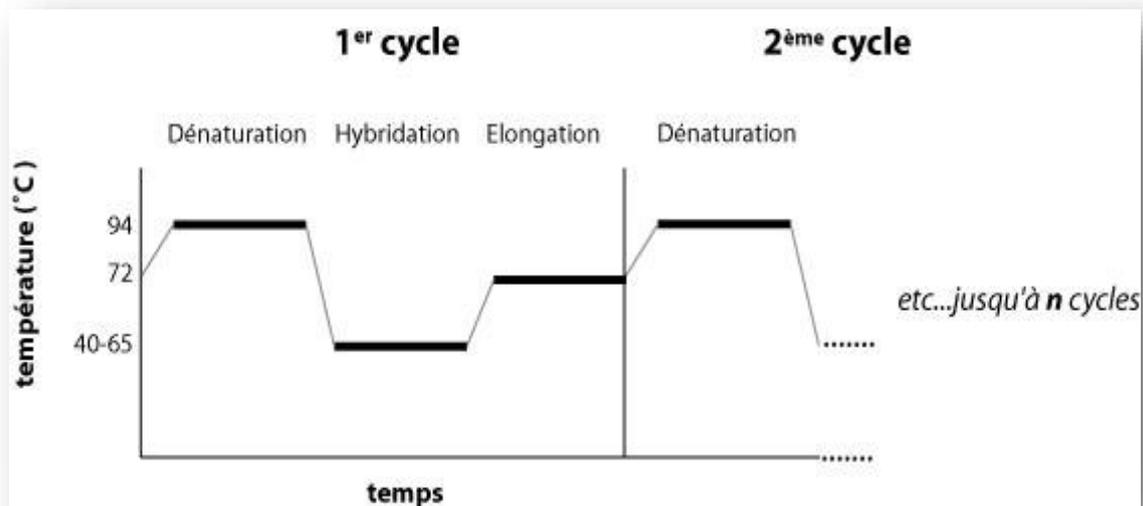


Figure 2.3 : Schéma des cycles de PCR (Jackson *et al.*, 2006)

2.6. Sélection assistée par les marqueurs

Le développement des marqueurs moléculaires durant les dernières années offre la possibilité d'établir de nouvelles approches pour améliorer les stratégies de sélection (Gupta *et al.*, 1999). Les marqueurs moléculaires deviennent un outil essentiel dans les programmes de sélection de blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

En effet, l'apparition des marqueurs moléculaires a permis l'élaboration de méthodologie pour localiser les gènes chez les blés, ceci devrait aboutir à l'établissement de cartes des marqueurs moléculaires qui permettent de localiser les locus contrôlant le rendement, la qualité et la tolérance aux principaux stress abiotiques, ce qui améliore l'efficacité de la sélection (Gupta *et al.*, 1999).

L'utilisation des marqueurs moléculaires renforce la sélection classique. Elle identifie et étiquette les gènes d'intérêts. Elle améliore la gestion et la manipulation de la variabilité génétique pour construire des génotypes cumulant des gènes favorables. Grâce aux marqueurs moléculaires, il devient, en effet possible, d'une part, de mieux lire le génotype à travers le phénotype et, d'autre part, de contrôler les recombinaisons entre locus ciblés (Jones *et al.*, 1997 ; Bartels et Sunkar, 2005). Ceci est d'autant plus intéressant que les marqueurs moléculaires sont relativement peu influencés par la fluctuation environnementale. Ils sont aussi indépendants de l'organe mesuré ou analysé et du stade de développement du sujet concerné (Eagles *et al.*, 2001 ; Najimi *et al.*, 2003).

2.7. Les principaux gènes de résistances

2.7.1. Les principaux gènes de résistances aux maladies

Le tableau suivant rassemble des gènes majeurs de résistance aux maladies et insectes, établis au cours des cinq dernières années, au moyen des marqueurs moléculaires chez le blé tendre.

Tableau 2.1 : Exemple de quelques gènes majeurs de résistance aux maladies et insectes

Caractère	Gènes de résistance	Nombre et Type de marqueurs	Références
Résistance à la mouche de Hesse	<i>H5</i>	2 RAPD	Dweikat <i>et al.</i> , 1997
	<i>H6</i>	3 RAPD	Dweikat <i>et al.</i> , 1997
	<i>H9</i>	2 RAPD	Dweikat <i>et al.</i> , 1997
	<i>H10</i>	2 RAPD	Dweikat <i>et al.</i> , 1997
	<i>H11</i>	2 RAPD	Dweikat <i>et al.</i> , 1997
Résistance au puceron russe	<i>Dn1</i>	1 SSR	Liu XM. <i>et al.</i> , 2001
	<i>Dn2</i>	1 RFLP	Ma <i>et al.</i> , 1998
	<i>Dn6</i>	SSR	Liu XM. <i>et al.</i> , 2002
	<i>Dn8</i>	1 SSR	Liu XM. <i>et al.</i> , 2001
	<i>Dn9</i>	1 SSR	Liu XM. <i>et al.</i> , 2001
Résistance à la rouille jaune	<i>Yr10</i>	RFLP	Spielmeier <i>et al.</i> , 2000
	<i>Yr15</i>	1RFLP	Sun <i>et al.</i> , 1997
		1 RAPD	Sun <i>et al.</i> , 1997
		1 SSR	Fahima <i>et al.</i> , 1997
	<i>Yr26</i>	3 SSR	Ma <i>et al.</i> , 2001
<i>YrH52</i>	SSR	Peng <i>et al.</i> , 1999, 2000	
Résistance à la rouille brune	<i>Lr3</i>	2RFLP	Sacco <i>et al.</i> , 1998
	<i>Lr10</i>	3RFLP	Nelson <i>et al.</i> , 1997
	<i>Lr21</i>	2RFLP	Spielmeier <i>et al.</i> , 2000
	<i>Lr23</i>	2RFLP	Nelson <i>et al.</i> , 1997
	<i>Lr39</i>	3 SSR	Raupp <i>et al.</i> , 2001
Résistance durable à la rouille noire	<i>Sr2</i>	1 STS	Bariana <i>et al.</i> , 1998
		2 RFLP	Johnston <i>et al.</i> , 1998
Résistance à l'oïdium	<i>Pm</i>	1 RFLP	Rong <i>et al.</i> , 1998
	<i>Pm1</i>	1 RFLP	Jahoor, 1998
	<i>Pm1c</i>	1 AFLP	Hartl <i>et al.</i> , 1999
	<i>Pm4a</i>	1 AFLP	Hartl <i>et al.</i> , 1999
	<i>MIRE</i>	SSR	Chantret <i>et al.</i> , 2000
Résistance aux caries	<i>Bt-10</i>	1 PCR	Laroche <i>et al.</i> , 2000
	<i>Bt-11</i>	1 RAPD	Linott <i>et al.</i> , 1998
Résistance à la septoriose	/	1AFLB	Goodwin <i>et al.</i> , 1998

2.7.2. Les principaux gènes de résistances aux stressés abiotiques et agronomiques

2.7.2.1. Gène de nanisme et semi-nanisme Rht

La plupart des lignées de blés nains et semi-nains ont la variété japonaise Akakomugi parmi leurs ancêtres. Cette variété était le donneur du gène de hauteur réduite Rht8, et le gène de la lumière du jour insensible Ppd-D1 (Ahmad et Sorells, 2002 ; Borojevie, 2005).

2.7.2.2. Gène régulateur de floraison et photopériodisme (Ppd)

La période de floraison des céréales est contrôlée par trois voies de signalisation différentes : la vernalisation (VRN), la photopériode (PPD) et la précocité (EPS). La voie photopériode (PPD), loci génétiquement contrôlés à la réponse à la photopériode, avec allèles insensibles induisant la floraison indépendamment de la longueur du jour. Dans le blé, les gènes les plus importants régissant sensibilité à la photopériode sont PPD-A1, B1 et PPD PPD-D1 (Beales et *al.*, 2007).

1. Site de l'expérimentation

Notre expérimentation a été réalisée durant la période allant de novembre 2015 à mai 2016 au niveau de la station expérimentale de l'Institut National de Recherche Agronomique Algérien (INRAA) de Mehdi Boualem (Baraki, Alger). L'essai a été réalisé dans une serre contrôlée (Fig 3.1) et au niveau du laboratoire de Physiologie Végétale et d'Amélioration des Plantes dans le cadre du projet national de recherche d'amélioration du blé (PNAB).



Figure 3.1: Photo de serre en plastique au niveau de la station Mehdi Boualem de l'INRAA (source personnelle).

2. Matériel

2.1. Matériel végétal

Pour la réalisation de ce travail, nous avons utilisé 23 géotypes de blé tendre. Notre choix a été motivé par les caractéristiques intéressantes qu'offrent ces géotypes (adaptation à certaines maladies, adaptation aux conditions du milieu et de bonne qualité technologique); dans l'annexe 1 nous avons présenté quelques caractéristiques des variétés connues.

2.2. Equipement et produits de laboratoire

Pour notre essai, nous avons utilisé des équipements et des produits disponibles au niveau du laboratoire de Physiologie Végétale et d'Amélioration des Plantes de l'INRAA (annexe 2).

3. Mise en place de l'essai

3.1. Germination

Le 20 novembre 2015, cinq graines de chaque variété ont été mises dans des boîtes de pétri, les graines sont stérilisées dans le fongicide Vitavaxe (50%) ; elles sont arrosées régulièrement et placées à l'obscurité, à température ambiante du laboratoire pour la réalisation de la germination (Fig 3.2).



Figure 3.2:Germination de blé tendre(source personnelle).

3.2. Transplantation

Une fois les racines et les feuilles développées, les plantules sont transférées dans des petits pots en plastiques (de 3kg). Les pots sont remplis d'un mélange de substrat contenant deux volumes de terre stérilisé et un volume de sable stérilisé ; ils sont placés dans une serre contrôlée, sous une température de 20°C le jour et de 15 °C la nuit et une humidité comprise entre 60 et 80% (Fig 3.3).

L'essai est mené en dispositif randomisation totale (annexe 3) qui garantit l'élimination des erreurs systématiques et le caractère purement aléatoire de tout élément d'erreur persistant dans les observations. A partir de là, on peut faire une estimation valable des fluctuations aléatoires, indispensable pour tester la signification de différences réelles.

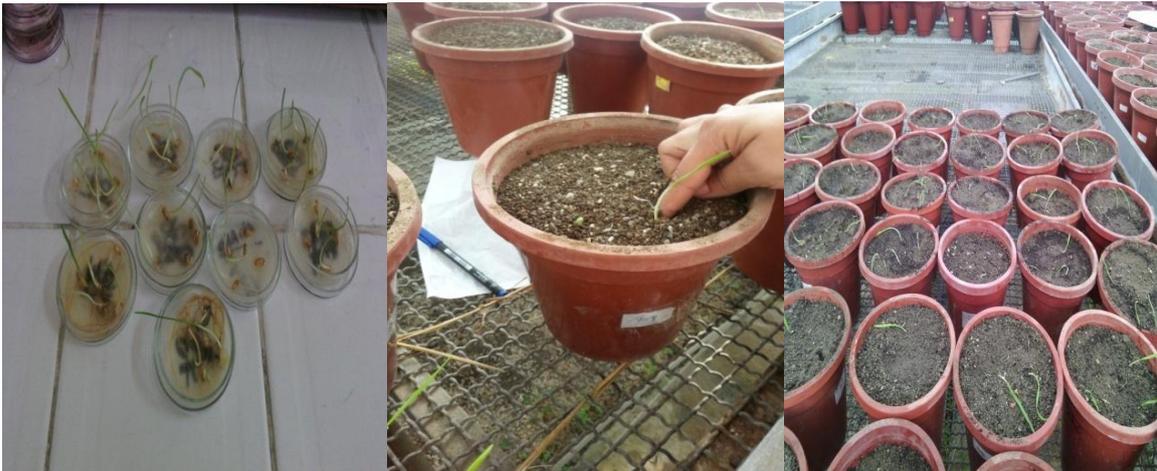


Figure 3.3: Transplantation des variétés du blé tendre(source personnelle).

4. Pratiques culturales

4.1. Irrigation

L'irrigation a été appliquée deux fois par semaine, afin d'éviter tout stress hydrique gênant le développement normal et le bon déroulement du cycle de la plante. Les fréquences dépendent fortement de l'état du substrat et des stades du développement de la plante.

4.2. Désherbage

Nous avons effectué le désherbage manuel tout le long du cycle de la plante pour éviter le phénomène de concurrence avec les mauvaises herbes.

4.3. Observations

On a observé les différentes phases du cycle de développement de blé tendre étudié (tallage, épiaison, floraison et maturation) (Fig 3.4).

4.4. Récolte

La récolte a été réalisée manuellement à partir du mois de mai 2016, lorsque les plantes ont atteint leur maturité.

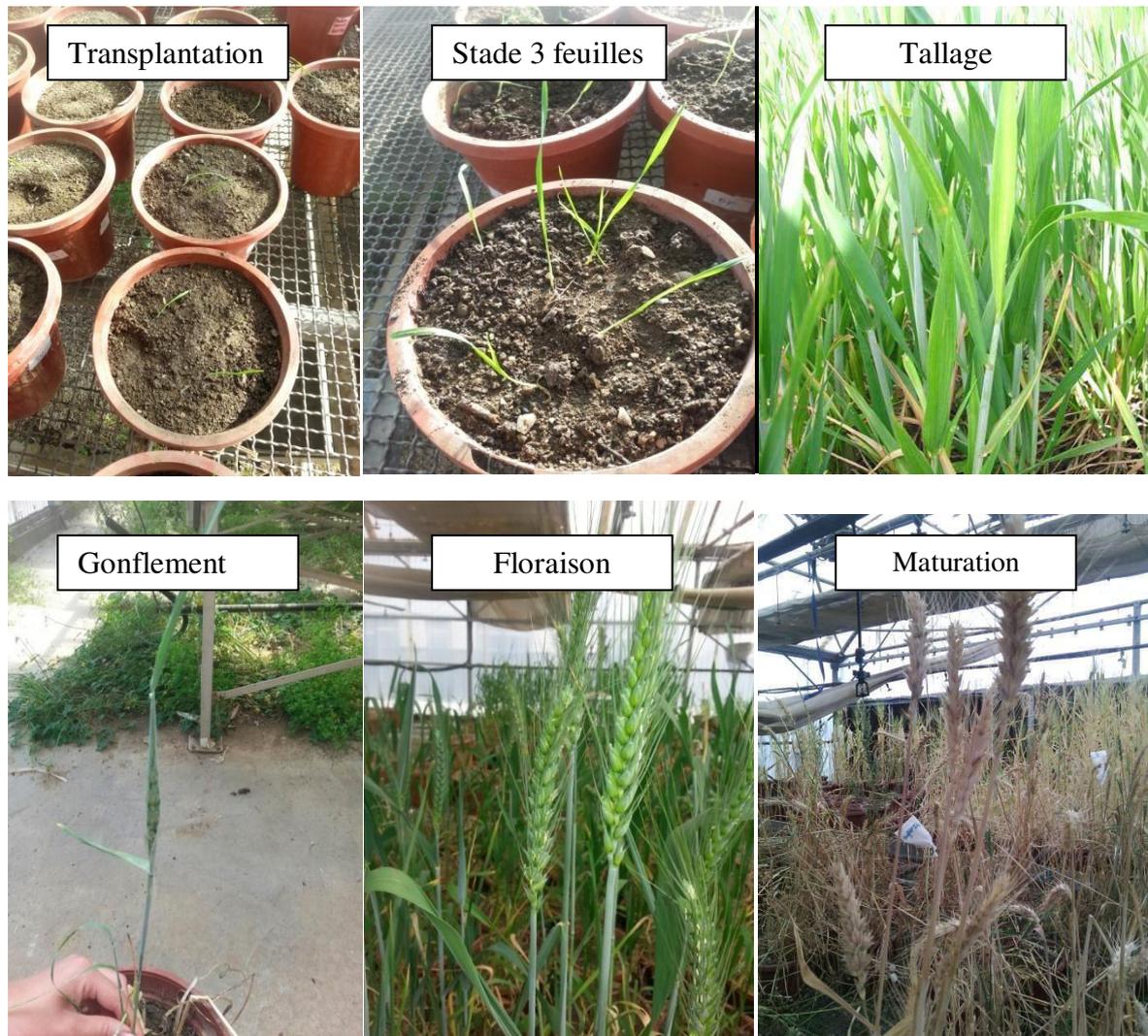


Figure 3.4: Cycle de développement du blé tendre étudié(source personnelle).

5. Génotypage de blé tendre

5.1. Prélèvement de feuille

Les feuilles sont prélevées au stade juvénile (stade 3 feuilles), elles sont coupées à l'aide de ciseaux stériles et posées dans les tubes Eppendorff, les tubes sont numérotés selon l'emplacement de chaque échantillon et ils sont mis dans l'étuve pour sécher à 50-60 °C pendant 48 heures (Fig 3.5).



Figure 3.5 :Prélèvement de feuille(source personnelle).

5.2.Broyage de feuille

Les feuilles séchées sont broyées manuellement avec du sable stérilisé jusqu'à l'obtention d'une poudre, puis conservées dans le congélateur à une température de -80°C jusqu'à l'extraction d'ADN(Fig 3.6).



Figure 3.6: Broyage de feuille(source personnelle).

5.3.Extraction d'ADN

La méthode CTAB modifiée par Udupa et *al* (1999) a été utilisée pour l'extraction d'ADN. Ce protocole permet d'obtenir une grande quantité d'ADN de qualité satisfaisante. Pour chaque 100 ml de la solution CTAB (annexe 5), on rajoute 0.2% de β -mercaptoéthanol et on préchauffe la solution dans un bain marie à 65°C pendant 10 mn sous hotte, 1400 μ l de CTAB sont apportés en deux fois (soit 700 μ l, puis 700 μ l) à chaque échantillon. Les échantillons sont mixés pendant 1 mn puis incubés pendant une heure à 65°C au bain marie avec agitation chaque 15 mn, sont ajoutés 600 μ l de chloroforme alcool isoamylique dans chaque tube et agités manuellement pendant 15 mn puis centrifugés à 1300g pendant 15mn ; 1ml de surnageant est prélevé dans un nouvel tube eppendorff pour chaque échantillon, il lui est rajouté 600 μ l d'isopropanol, mixé puis incubé pendant 60mn à -4°C. Après centrifugation à 1300g à 4°C pendant 10mn puis le surnageant est soigneusement jeté, il est rajouté 1ml d'éthanol 70%, les tubes sont centrifugés à 1300g à 4°C pendant 5 mn, l'éthanol est versé précieusement et les tubes sont laissés à sécher sous hotte; on reprend les culots d'ADN et on ajoute 100 μ l d'eau ultra pure et on conserve au congélateur.

5.3.1. Quantification d'ADN

La quantification de l'ADN ainsi que les tests de quantité et de qualité ont été réalisés par spectrophotométrie et sur gel d'agarose à 1%.

5.3.1.1. Quantification d'ADN par spectrophotométrie

Une lecture de densité optique (DO) a été réalisée pour la concentration de l'ADN dans chacun des tubes. La DO de la solution d'ADN obtenu est mesurée de 260 nm à 280 nm afin de déterminer la concentration et la pureté de l'ADN extrait.

La méthode de spectrophotométrie est utilisée pour une quantification précise de l'ADN. Ainsi, la concentration en ADN est déterminée par mesure de la DO à la longueur d'onde de 260 nm pour des solutions diluées, sachant que l'ADN a un spectre d'absorption en UV maximum à 260 nm (Fig 3.).

Suite à cette lecture, des dilutions ont été effectuées pour obtenir une concentration nécessaire pour un bon déroulement de la PCR.



Figure 3.7:Quantification d'ADN par spectrophotométrie(source personnelle).

5.3.1.2. Quantification de l'ADN par électrophorèse (qualité d'ADN sur gel d'agarose)

Le test a été réalisé sur gel d'agarose à 1% (annexe 6). Le gel est coulé dans la cuve, une fois refroidi, il est placé dans une cuve pleine de tampon de migration TBE $\times 1$ (annexe 8) jusqu'à recouvrir légèrement le gel. Le mix d'ADN (3 μl d'ADN + 4 μl de H_2O et 3 μl de bleu d'agarose) est déposé dans les puits: 7 μl pour les échantillons d'ADN et 5 μl pour marqueur de taille (Fig3.8). La migration est effectuée en deux étapes à 80v au démarrage, puis augmentée à 120 v.

La révélation des bandes a été réalisée avec BET puis observée sur une lampe UV (annexe 7).

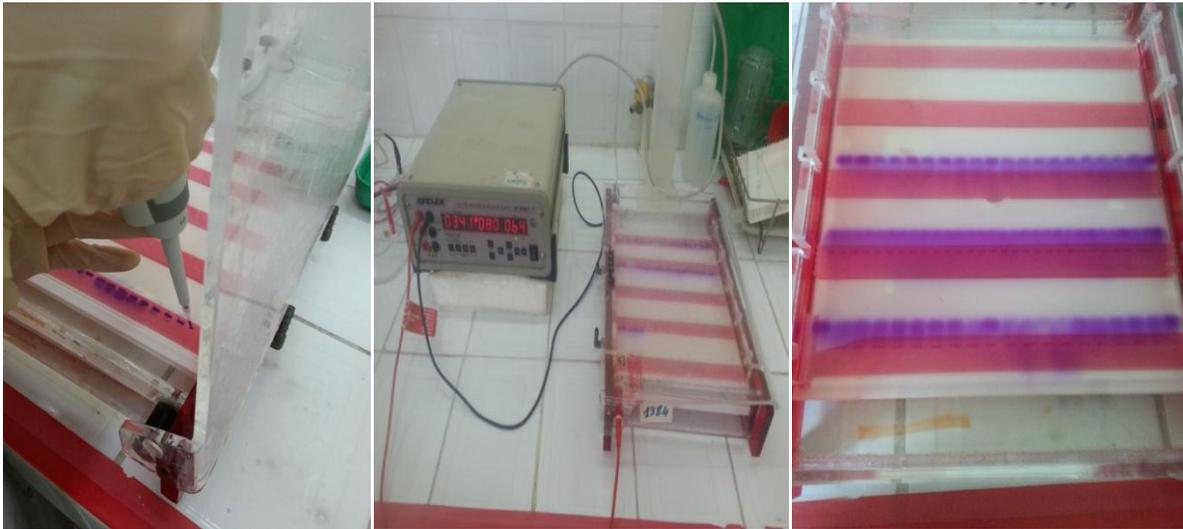


Figure 3.8: Quantification de l'ADN par électrophorèse (gel d'agarose).
(source personnelle).

5.3.2. La réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La PCR a été réalisée sur un thermocycleur applied biosystem, le mixte réactionnel pour chaque amplifia. Le mixte est composé d'eau ultra pure, dNTPs(0.2mM) et $MgCl_2$.

A ce mixte, on rajoute l'amorce .d'ADN matrice et la Taq DNA polymérase, le volume final est 10 μ l selon le tableau Tab.3.1.

Tableau 3.1. : Composition du mélange réactionnel de la PCR

	Pour 1échantillon	Pour n échantillons
Eau ultra pure	4.975 μ l	157.5 μ l
5× Buffer	2 μ l	72 μ l
MgCl₂	0.6 μ l	21.6 μ l
DNTP	1 μ l	36 μ l
Amorce	1 μ l	36 μ l
Taq polymérase	0.025 μ l	0.9 μ l
ADN	1 μ l	/

Les amplifications sont réalisées selon des différents programmes de la PCR, basés sur la température ainsi que sur le temps, le principe est le suivant :

- Pré-dénaturation à 94° C.
 - Dénaturation:
 - Dénaturation à 94° C.
 - Hybridation d'amorce.
 - Elongation à 72° C.
 - Finalisation d'élongation 72° C.
- La température d'hybridation de chaque amorces dépendant Tm des paires d'amorces (Tab.3.2.) et le temps de chaque étapes dépend de la taille des amplifias.

Un set de 7 paires d'amorces a été testé pour l'évaluation du polymorphisme des génotypes représentés au tableau suivants (Tab.3.2).

Tableau 3.2. : Microsatellites testés pour l'analyse des génotypes de blé tendre.

	Locus	Amorce gauche 5' 3' Amorce droite 5' 3'	T° d'hybridation	Type de marqueur
M1	Xwmc44 Lr46	GGTCTTCTGGGCTTTGATCCT GTTGCTAGGGACCCGTAGTGG	61 °C	SSR
M2	Xgwm140 Lr46	ATGGAGATATTTGGCCTACAA CATTGACTTCAAGGCGTGACA	60 °C	SSR
M3	Lr34	AGCTATGCTTCACGAGGAAG CTCCTCTTTATATCGCGTCCC	55 °C	STS
M4	Lr37	AGGGGCTACTGACCAAGGCT TGCAGCTACAGCAGTATGTACACA AAA	65 °C	STS
M5	RhtB1b	GGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG CATCCCCATGGCCAT CTC GAG CTA	58 °C	STS
M6	RhtD1b	CGCGCA ATTATTGGCCAGAGA TAG CCCCATGGCCAT CTC GAGCTG CTA	58 °C	STS
M7	Iag95	CTCTGTGGATAGTTACTTGATCGA CCTAGAACATGCATGGCTGTTACA	60	STS

5.3.3. Electrophorèse des produits de la réaction PCR

La révélation des échantillons a été réalisée sur gel d'acrylamide à 30% pour une meilleure résolution des bandes (annexe 6).

Cette étape est initiée par le traitement des plaques en verre au NaOH pendant 2 mn puis rincées à l'eau. Le coulage de gel est effectué après un bon serrage des plaques; puis laissé pendant 2 heures pour une bonne polymérisation. Les plaques sont déposées dans une solution de tampon TBE ($\times 0.5$) (annexe 8). Le mix PCR ($10 \mu\text{l}$ de mixte + $5 \mu\text{l}$ de bleu acrylamide) est déposé dans chaque puits : $7 \mu\text{l}$ pour les échantillons de mixte et $5 \mu\text{l}$ pour marqueur de taille, la migration se déroule sous une tension de 300 volts pendant 4 heures (fig 3.8.).

La visualisation des bandes a été réalisée dans des bains de BET (annexe 5). L'appareil lampe UV Trans-illuminateur a été utilisé pour la visualisation des amplifias des amorces.

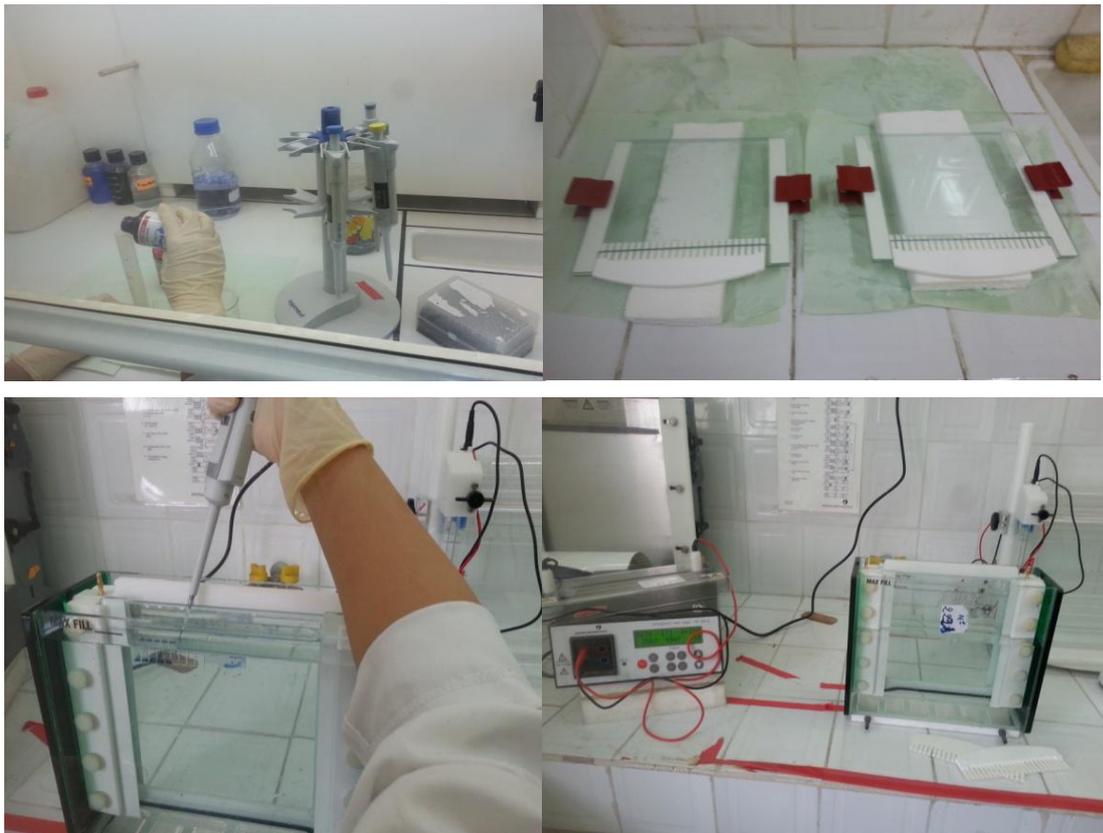


Figure.3.10 : Les étapes d'électrophorèse sur gel d'Acrylamide (source personnelle).

6 .Phénotypage des géotypes de blé tendre

Le phénotypage des géotypes de blé tendre a compris la mesure de certains paramètres morphologiques, représentant la moyenne de trois répétitions pour chaque géotype, répartis dans quatre blocs.

6.1.Hauteur de tige (HT)

Des échantillons des plantes pour chaque géotype ont été mesurés, au stade maturité, du maitre brin de la base de la tige jusqu'à la base de l'épi (Fig 3.10).

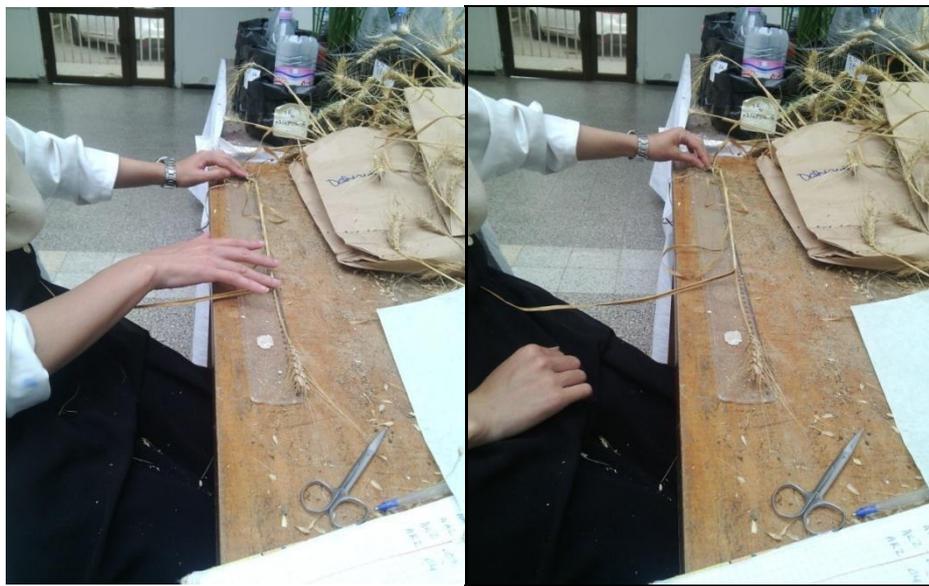


Figure .3.10 : Mesure de la hauteur des tiges du blé tendre (source personnelle).

6.2. Hauteur de l'épi (HT)

Des échantillons de plantes pour chaque géotype ont été mesurés, au stade maturité, de la base de l'épi jusqu'au haut de l'épi (Fig 3.11).



Figure 3.11 :Mesure de la longueur de l'épi du blé tendre (source personnelle).

6.3.Nombre de talles par plante

Le nombre de talles par plante est estimé à partir du comptage du nombre de talle de chaque échantillon (Fig. 3.12).



Figure 3.12 :Nombre de talles d'épi par plant du blé tendre (source personnelle).

6.4. Nombre de grains par épi

Le nombre de grains par épi est estimé à partir du comptage du nombre de grain de chaque épi (Fig 3.13).



Figure 3.13 :Nombre de grains par épi du blé tendre(source personnelle).

6.4.Poids de mille grains

Le poids de mille grains est exprimé en gramme, il est déterminé par la pesée de 10 graines du maître brin de chaque échantillon, à cause de la faiblesse du nombre de grains par épi obtenus par certains génotypes, puis extrapolé à 1000 graines.

7. Analyses statistiques

Les données recueillies ont fait l'objectif d'une analyse de la variance avec comparaison de moyennes. Cette analyse a été suivie par le test LSD qui permet de classer les moyennes dans différents groupes homogènes. Le logiciel utilisé est GenStat.

On admet que :

- **P=0.001** Effet variable très hautement significatif (THS).
- **P=0.01** Effet variable hautement significatif (HS).
- **P=0.05** Effet variable significatif (S).
- **P>0.05** Effet variable non significatif (NS).

On a considéré le coefficient de variation (CV) qui représente l'erreur, il est exprimé en pourcentage de la moyenne comme suit :

- **Faible** : $CV \leq 10\%$.
- **Moyen** : $10\% \leq CV \leq 20\%$.
- **Elevé** : $20\% \leq CV \leq 40\%$.

1. Génotypage

1.1. Analyse de la quantification d'ADN

1.1.1. Analyse des échantillons par spectrophotométrie

Le tableau suivant (Tab 4.1) représente la quantification au spectrophotomètre des extraits d'ADN des variétés du blé tendre étudiées.

Tableau .4.1. : Quantités d'ADN extraits obtenues par spectrophotomètre.

Génotype	[ADN] $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	260/280	260/230
G 1	281.1	1.89	1.88
G 2	225.1	1.74	1.64
G 3	102.9	1.75	1.63
G 4	585.5	1.45	1.20
G 5	179.9	0.96	1.02
G 6	150.2	1.53	1.36
G 7	689.4	1.58	1.35
G 8	17.5	1.74	0.35
G 9	401.7	1.36	1.37
G 10	625.2	1.32	1.10
G 11	213.2	1.54	1.28
G 12	487.9	1.96	1.49
G 13	94.7	1.91	1.75
G 14	219.4	1.67	1.13
G 15	313.5	1.59	1.17
G 16	618.2	1.86	1.25
G 17	537.1	1.22	1.18
G 18	536.2	1.29	1.11
G 19	615.5	1.18	0.68
G 20	763.2	/	/
G 21	369.1	1.38	1.38
G 22	620.2	/	/
G 23	455	1.82	1.75

Dans l'ensemble, il est noté que les quantités d'ADN obtenues après extraction sont comprises entre 17.5 µg/µl et 763.2 µg/µl avec un rapport 260/280 nm inférieur à 1.8 pour la majorité des échantillons, ce qui reflète la présence des ARN dans nos échantillons, puisqu'on n'a pas utilisé de l'ARNase lors de l'extraction.

La présence des ARN dans nos échantillons ne va pas agir sur le bon déroulement de l'amplification des SSRs.

L'analyse du rapport 260/280 nm et 260/280 nm montre la pureté d'ADN en protéine et en ARN respectivement, pour cette évaluation nous avons utilisé les normes suivants(Nolan et *al.*,2006) :

- 1.7< Contamination protéique.
- 1.8~2 ADN pure.
- 2> Présence d'ARN.

L'analyse des échantillons montre une concentration assez élevée d'ADN à une dilution de 1/4 pour la majorité des échantillons, d'où la nécessité d'une dilution, pour une concentration finale de 20 µg/µl pour la PCR.

1.1.2. Analyse des échantillons sur gel d'agarose

L'ADN extrait des différents échantillons des parents simples a été quantifié en premier sur gel d'Agarose à 1 %, l'objectif est la confirmation de la qualité et la quantité d'ADN. La visualisation des gels (Fig4.1) montre la présence d'ADN de bonne qualité et en quantité suffisante pour les prochaines analyses.

En revanche ces gels (Fig 4.1) montrent l'absence totale de contamination protéique, ce qui confirme les résultats de quantification par spectrophotomètre, en revanche, nous avons observé la présence d'ARN (smear), ceci s'explique par le fait que nous n'avons pas éliminé les ARN par l'ARNase lors de l'extraction selon le protocole(annexe 4) modifié par Udupa et *al.*, (1999)

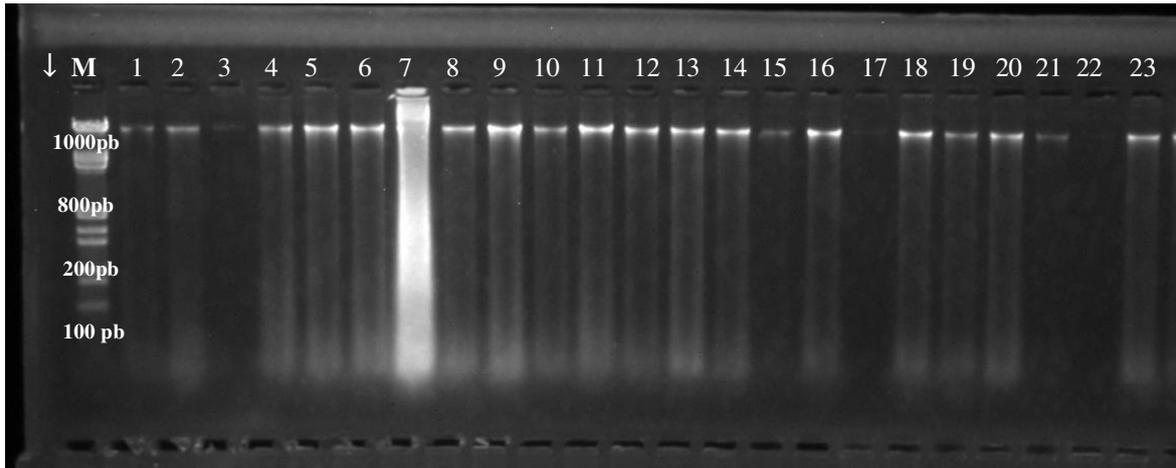


Figure 4.1 : Analyse d'extraction d'ADN génomique totale des parents sur gel d'agarose a 1%, 120 volts pour migration pendant 1h 30mn, visualisé sous UV en présenced'un marqueur de taille 1Kb.

1.2. Analyse du polymorphisme des génotypes avec 7 marqueurs

Pour cette analyse, les génotypes ont été semés dans des boites de pétri et les feuilles ont été prélevées au stade juvénile, l'extraction de l'ADN a été réalisée au CTAB selon Udupa et *al.*, (1999) .

L'utilisation des marqueurs pour caractériser les génotypes exprime les résultats sous forme d'amplification et ils sont présentés au profil électrophorétique comme suit :

1.2.1. Analyse des résultats du génotypage pour le gène de résistance à la rouille brune Lr 46 avec les marqueurs Xwmc44 et Xgwm140

Deux marqueurs SSR Xwmc44 et Xgwm140 ont été testés pour l'analyse du polymorphisme des 23 génotypes pour le gène de résistance à la rouille brune. L'analyse du gel montre la présence des amplifications de la bande à environ 250 pb chez la plupart des génotypes : Arz, Anza, Rmada, Parula, Compair (Fig 4.2 et 4.3). Ce résultat supposera que ces génotypes seraient résistants à la rouille, alors que les génotypes Dahrawar, Stylet, Sahl et Yoko ne présentent aucune amplification, ce qui traduit que ces génotypes seraient susceptibles à la rouille.

Lr46 est un gène de résistance à la rouille (slow rusting). Ce gène ne confère pas à la plante une résistance à toutes les races de rouille brune (*Puccinia triticina*), mais permet de retarder le processus de l'infection ou de réduire le développement des symptômes causés par un large éventail de race de rouilles sur plantes adultes (Martinez et al.,2001).

Lr46 a été décrit pour la première fois en 1988 par Singh et al. dans le cultivar Pavon76. En 2003, William et al, ont également constaté que Lr46 a été étroitement lié ou pléio- tropique à un gène de résistance à la rouille jaune Yr29. Martinez et al.(2001) ont montré que la période de latence des plantes adultes infectées était significativement plus faible chez les plantes portant Lr46 par rapport aux témoins sans gène(William et al.,2003).

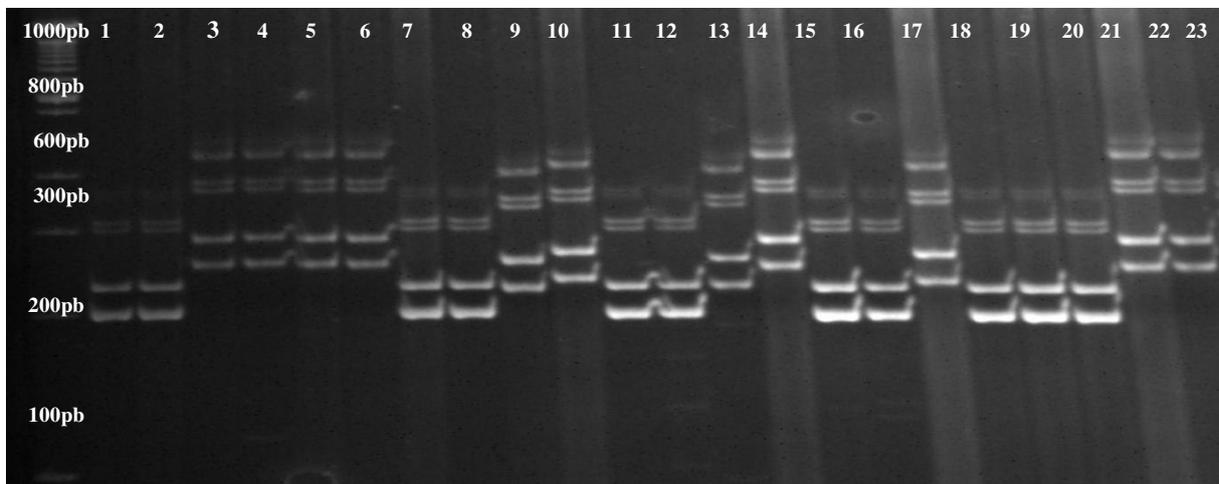


Figure 4.2 : Polymorphisme des génotypes pour le gène Lr 46 avec le marqueur Xgwm 44:1 :Compair, 2 :Dharwar/Nesser, 3 : TC*6x/Exchange, 4 :Wbll1*2/tukuru, 5 :Buckbuck, 6 :Dahrawer, 7 :Parula, 8 :Benmabrouk, 9:Sahl, 10:Stylet, 11 :Babax#1, 12 :Annuelot , 13 :Pastor, 14 :Marroco,15:Selkirk/6*TC(RL6013), 16:Pavon, 17 :AinAbid, 18 :HD, 19 :Rmada, 20 :ARZ , 21 :Anza,22 :Yoko, 23:Super Kauz .Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.

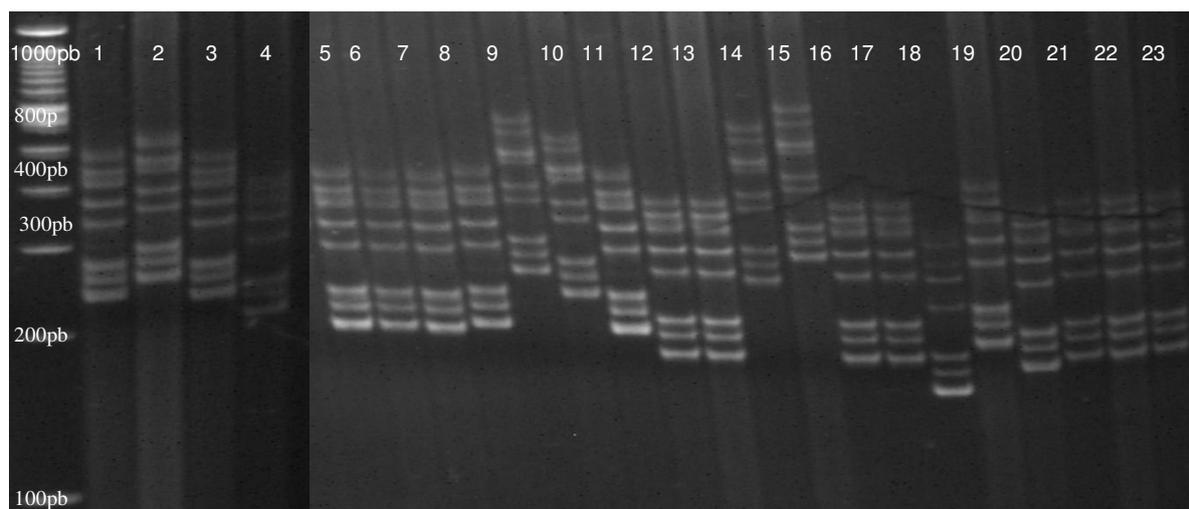


Figure 4.3: Polymorphisme des géotypes pour le gène Lr 46 avec le marqueur Xgwm 44:1 :Compair, 2 :Dharwar/Nesser, 3 : TC*6x/Exchange, 4 :Wbll1*2/tukuru, 5 :Buckbuck, 6 :Dahrawar, 7 :Parula, 8 :Benmabrouk, 9:Sahl, 10:Styilet, 11 :Babax#1, 12 :Annuelot , 13 :Pastor, 14 :Marroco,15:Selkirk/6*TC(RL6013), 16:Pavon, 17 :AinAbid, 18 :HD, 19 :Rmada, 20 :ARZ , 21 :Anza,22 :Yoko, 23:Super Kauz .Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.

1.2.2. Analyse des résultats du génotypage pour le gène de résistance à la rouille brune Lr 34

L'analyse du gel d'acrylamide du gène Lr34(Fig4.4)montre la présence des amplifications de la bande à environ 125 pb pour la majorité des géotypes : Arz, Anza, Dahrawar, HD, Parula, Compair, etc. Ce résultat supposera que ces géotypes seraient résistants à la rouille, nous pouvons supposer que ce gène est dominant, donc les géotypes sont homozygotes pour ce caractère. L'absence d'amplifia à 125 pb pour les autres géotypes Benmabrouk, Marroco, Rmada et Yoko indique que ces géotypes seraient susceptibles à la rouille et donc le gène semble récessif.

Plus de 60 gènes Lr et QTL ont été décrits dans le blé (McIntoch et al., 2005). Toutefois, beaucoup d'entre eux sont des gènes spécifiques à la race (gène pour gène) et actuellement plusieurs sont utilisés par les améliorateurs.

Cependant, la résistance fournie par ces gènes peut être de courte durée car les rouilles sont en constante évolution d'acquérir la virulence contre ces gènes, d'où la nécessité de pyramider dans les nouveaux cultivars des « slow rusting » gènes.

Selon Singh et Huerta-Espino (2003), Lr34 est un slow rusting gène qui offre une résistance des plantes adultes durable et non spécifique. Les travaux de Sucenga et *al.* en 2003 et Krattinger et *al.* en 2009 ont montré que Lr34 est le même gène que Yr 18 (résistance à la rouille jaune) ; PM38 (résistance à l'oidium) et Ltn1 (nécrose des feuilles).

Lr34 a été décrit la première fois en 1966 par Dyck et *al.* dans le cultivar Frontana. Il est situé sur le bras court du chromosome 7D (Ciuca et *al.*, 2015) à proximité de locus Xgwm295. Le phénotype de gène Lr34 comprend une plus longue période de latence (Schnurbusch et *al.*, 2004).

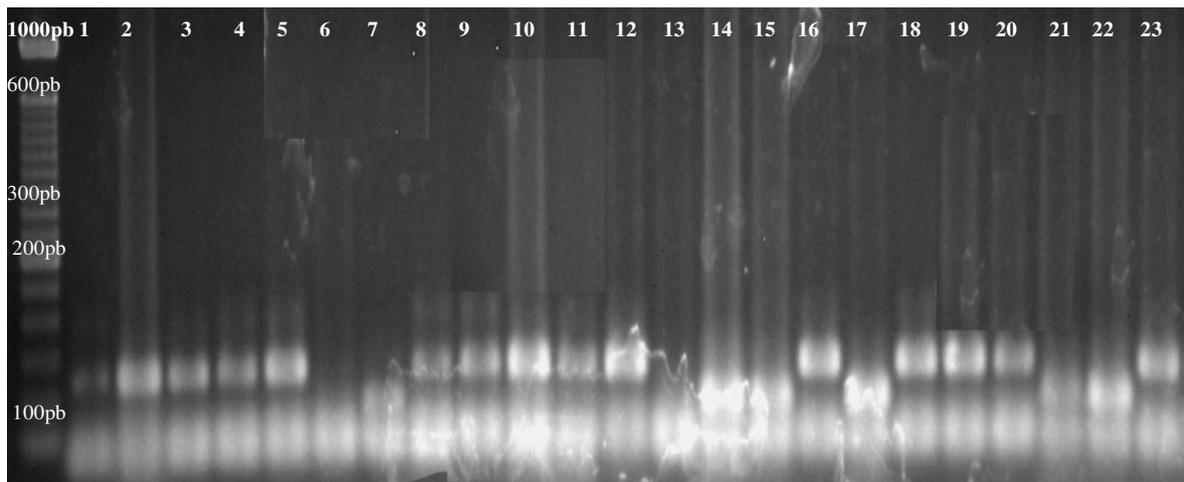


Figure 4.4: Polymorphisme des génotypes avec marqueur STS pour le gène Lr34 :1 : Pastor ;2 :Parula ;3 :Dahrawar ;4:Dharwer/Nesser ;5:Stylet;6 :Rmada;7:Yoko ;8 :WBLL1*2/T UKURU ;9 :Sahel;10:BuckBuck;11 :Annuelot ;12:Compair;13 :Benmabrouk ;14:TC*6x/Exchange ; 15 :Super Kauz ;16 : TC*6x/Exchange ; 17 : Selkirk/6*TC ;18 :Pavon 76 ; 19 : Babax #1 ; 20 :Marroco ; 21:Rmada ;22: ARZ ; 23: ANZA . Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.

1.2.3. Analyse des résultats du génotypage pour le gène de résistance à la rouille brune Lr 37

L'analyse du gel d'acrylamide du gène Lr37 (Fig 4.5) montre l'absence des amplifications de la bande à environ 259 pb pour la majorité des génotypes Arz, Anza, Dahrawar, HD, Parula, Compair, Yako, etc. Ce résultat suppose que ces génotypes seraient susceptibles à la rouille. Nous avons analysé la présence des amplifications seulement sur 5 génotypes Annuelot, Morocco, Buck Buck, Styler et Anza ; sur la base de leur généalogie nous avons supposé que ces génotypes pourraient avoir le fragment de *Triticum ventricosum* (Helguera et al., 2003).

Lr37 est un gène de résistance à la rouille des feuilles (slow rusting) originaire de *Triticum ventricosum*, ce gène de résistance est situé dans le segment 2NS (chromosome 2N). Ces gènes fournissent à la plante une large résistance à toutes les races de rouille (*Puccinia tritici*) et peuvent être utilisés en combinaison avec d'autres gènes de résistance à la rouille (Robert et al., 1999).

La présence de gène de résistance Lr 37 confère une résistance exprimée tout au long du cycle de croissance de la plante (résistance des plantes adultes) (Park et McIntosh, 1994).

Lr 37 réduit significativement la gravité de l'infection par la rouille brune (réduction de 61% de la gravité). L'amélioration de la résistance des lignées iso géniques Lr37 a entraîné des augmentations significatives du rendement. Les données moléculaires et sur le terrain ont confirmé que le segment chromosomique 2NS comprenait les gènes de résistance Lr37 (Helguera et al., 2003).

La présence de Lr37 est adaptée à enrichir une base génétique pour la résistance à la rouille des feuilles dans le matériel génétique du blé. De plus, en tenant compte du fait que Lr37 est lié aux gènes Sr38, Yr17 (Bariana et McIntosh, 1993; Jahier et al., 1996; Seah et al., 2000) qui confèrent une résistance à la rouille jaune (*Puccinia striiformis Ovest F. sp. tritici*), la rouille noire (*Puccinia graminis Pers. Eriks tritici f.sp. et E. Henn.*) et les nématode à kystes (*Heterodera avenae Woll.*), indique que ce fragment de chromosome introgressé peut être très utile dans le développement de nouvelles variétés de blé.

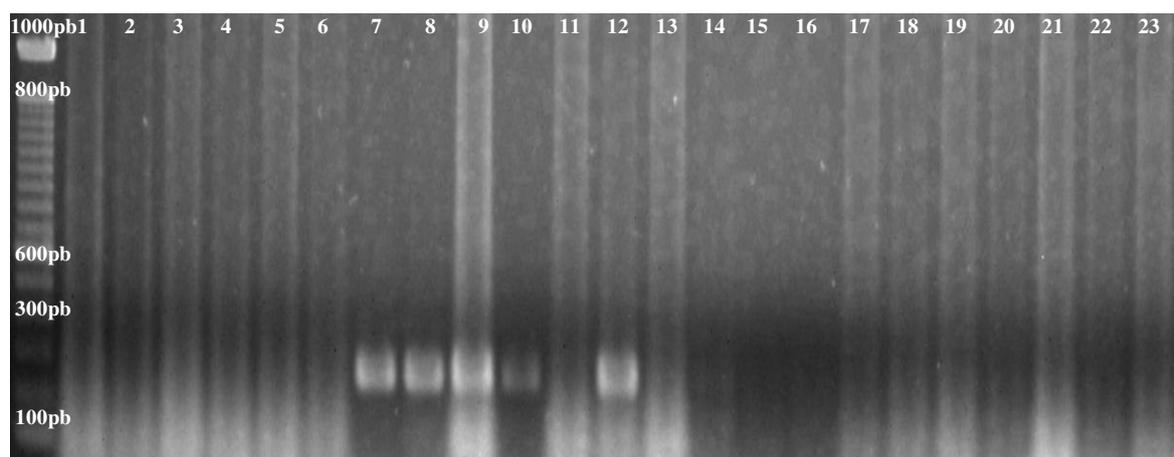


Figure 4.5: Polymorphisme des génotypes avec le marqueur STS pour le gène Lr37 :1 :TC*6x/Exchange ;2 :Benmabrouk;3:HD;4:DharwarDry/Nesser;5:Selkirk/6*TC(RL6 013) ;6: Pastor ; 7: Annuelot; 8: Morroco ; 9 : BuckBuck.; 10:Styilet ; 11 : Babax #1 ;12 : ANZA;13:Parula;14:Compair;15:SuperKauz ;16 :AinAbid ;17 :Sahl ;8 :Rmada ;19 :Dahrawar ;20 :Yoko ;21:Arz ;22 : Pavon76;23 :Wbll1*2/Tukuru. Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide,200volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.

1.2.4. Analyse des résultats du génotypage pour le gène de résistance à la rouille noire Sr par le marqueur Iag 95

L'analyse du gel d'acrylamide du gène Sr31 montre l'absence des amplifications de la bande à environ 207 pb pour la majorité des génotypes : Arz, Anza, Dahrawar, HD, Parula; Compair (Fig 4.6). Ce résultat supposera que ces génotypes seraient susceptibles à la rouille noire.

Ejaz *et al.* (2012) confirment la présence de gènes de résistance à la rouille noire, ils ont également souligné la nécessité des marqueurs plus fiables et plus efficaces pour identifier les gènes de résistance aux maladies.

La rouille noire est l'une des maladies les plus dévastatrices qui touchent le blé dans le monde entier. En Amérique du Nord, les dernières épidémies ont été enregistrées en 1955, depuis lors, la rouille noire a été sous contrôle par l'utilisation de cultivars résistants et l'éradication des hôtes alternatifs. Les cultivars résistants ont toujours été un contrôle efficace de cette maladie dans le monde entier.

Mais en 1999, une nouvelle race de *Puccinia graminis f. sp. tritici*, l'agent responsable de la rouille noire, a été détectée en Ouganda qui était virulente contre les gènes de résistance traditionnels de blé Sr31 (Pretorius et al., 2000).

Cette race a été dénommée TTKS, ou encore Ug99. En 2003, la race Ug99 a été trouvée au Kenya et en 2007 au Yémen (Stokstad, 2007 ; Wanyera et al., 2006).

Sr est le principal gène de résistance primaire contre la souche Ug99 utilisé dans le monde entier qui réduit efficacement la quantité de rouille du blé tendre (Kolmer, 2005). Il assure donc la protection du blé contre cette maladie et il a un intérêt pour l'économie car les maladies peuvent affecter le rendement des cultures, leur qualité et/ou leur commerce (Singhet al., 2006).

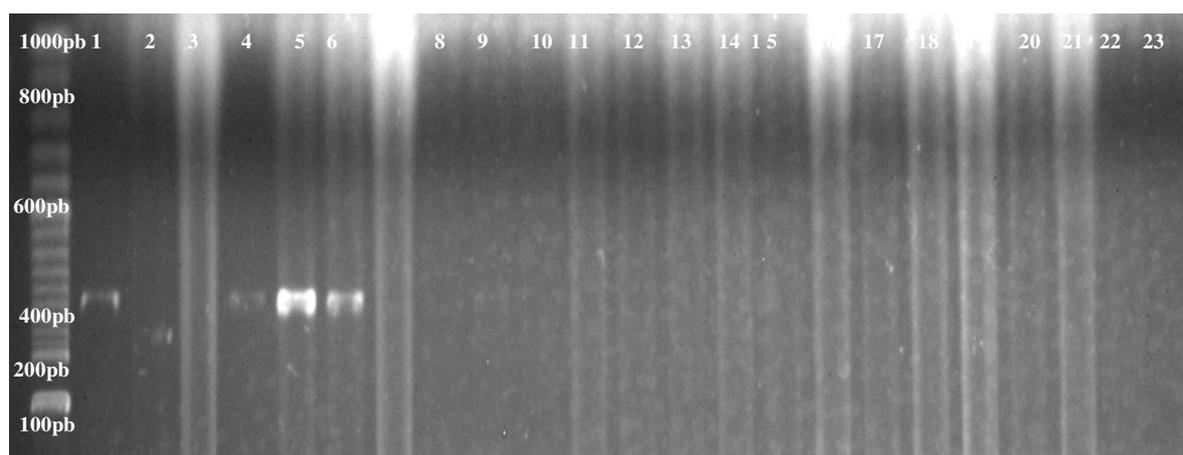


Figure 4.6 : Polymorphisme des génotypes avec le marqueur STS Iag pour le gène Sr31 : 1 :TC*6x/Exchange ; 2 :Benmabrouk; 3:HD; 4:Dharwardry/nesser; 5:Selkirk/6*TC(RL60 13) ; 6:Pastor ; 7:Pavon76 ; 8:Morroco ; 9 :WBLL1*2/TUKURU ; 10:Stylet ; 11 : Babax #1 ; 12 : ANZA; 13: Parula ; 14: Compare ; 15 :Super Kauz ; 16 :Ain Abid ; 17 :Sahl ; 18 :Rmada ; 19 : Dahrawar ; 20 : Yoko; 21 :Arz ; 22 :Annuelot ; 23 :BuckBuck. Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.

1.2.5. Analyse des résultats du génotypage pour le gène de nanisme (Rht).

Deux marqueurs STS Rht-D1b et Rht-B1b ont été testés pour l'analyse du polymorphisme des 23 génotypes pour le gène de nanisme. L'analyse du gel montre la présence des amplifications de la bande à environ 250 pb chez la plupart des génotypes : Arz, Anza, Annuelot, Yoko, Dahrawar, Sahl et Ain abid. Alors que les génotypes Rmada, Pastor, Babax, Dharwar/Nesser n'ont aucune amplification (Fig 4.7).

L'intérêt des améliorateurs pour les plantes à paille courte a commencé très tôt principalement pour améliorer la tolérance à la verse. A la révolution verte un intérêt particulier a été porté sur le gène du nanisme pour répondre à l'apport intensif d'engrais sur des plantes à paille haute sujettes à la verse et à utiliser les assimilats pour la production de biomasse.

En outre les tiges des hautes plantes sujettes à la verse ne pouvaient pas supporter le poids du grain obtenu dans les conditions de culture intensive.

Les gènes Rht-B1b et Rht -D1b ont pour origine la variété japonaise Norin10, ils ont été d'abord transférés dans les cultivars américains, puis dans les lignées mexicaines du CIMMYT et plus tard à de nombreux autres pays (Borojevic,2005).

Ces gènes Rht-B1b et Rht -D1b sont des gènes-insensibles aux GA(Gibbérellines), les allèles conférant le phénotypes nains sont Rht -B1b et Rht-D1b (Ellis et *al.*,2002).

Bulter et *al.* (2005) ont évalué les performances agronomiques des gènes Rht-B1b et Rht -D1b dans une série de 140 lignées recombinant (LR) dérivées d'un croisement Kaus X MTRWA116 dans trois environnements : sous irrigation, partiellement irriguée et sous régime pluviale sur deux ans. Le rendement en grain élevé a été obtenu sous le régime irrigué avec combinaison de gènes (Rht-B1b + Rht-D1b).

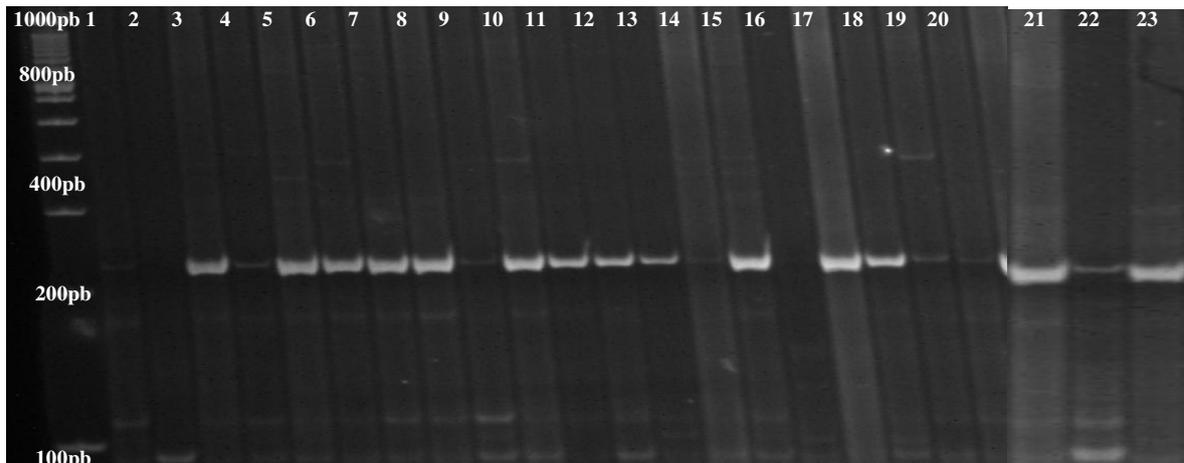


Figure 4.7: Polymorphisme des génotypes avec le marqueur STS pour le gène Rht :1 :Compair;2 :Dharwar/Nesser ;3 :Wbll1*2/Tukuru;4 :SuperKauz;5: Pavon ; 6:Dhawer ; 7 : Benmabrouk ; 8 : TC*6x/Exchange ; 9:Stylet ; 10 :Babax #; 11 : Paula ; 12 :Pastor ; 13 : Anneollo ; 14 :Marroco ;15 :Yoko ;16:Rmada ;17: HD ; 18 : Sahal ; 19 : Selkirk/6*TC - (RL6013) ; 20 : buck buck ; 21 : ARZ ; 22 :Anza; 23 :AinAbid. Analyses par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, 200volts pour migration pendant 3h, visualisé sous UV en présence d'un marqueur de taille 100pb.

2. Phénotypage

2.1.Hauteur de tige

L'analyse de la variance montre que la hauteur de tige est hautement significative (annexe 8.tab 1).Les valeurs de la hauteur varient de 47.75 à 72.25 cm pour les 23 génotypes.

Le test de LSD à 5% de seuil de signification fait ressortir l'existence de 10 groupes homogènes qui se chevauchent (Fig 4.8).

Les valeurs les plus importantes ont été obtenues par les génotypes du groupe (A) qui comprend le génotype « Annuelot » avec une hauteur moyenne de 72.25cm, alors que les valeurs les plus faibles ont été obtenues par le groupe homogène (F) qui comprend le génotype « Parula » avec une hauteur moyenne de 47.75 cm.

Les groupes homogènes AB, ABC, ABCD, ABCDE, BCDEF, CDEF, DEF et EF sont des groupes intermédiaires avec des valeurs moyennes allant de 50.25 à 66.5cm.

Ces résultats montrent l'existence d'une diversité intraspécifique, cette diversité s'explique par le potentiel génétique des variétés et par la grande diversité de l'origine du matériel génétique étudié. Nos résultats coïncident avec ceux obtenus par Boufenar-Zaghouane et Zaghouane (2006) qui ont également observé une grande variabilité de la hauteur des variétés de blé tendre Mahon Demias, Hidhab et Florance Aurore.

Selon les études de Blum (1988), Ben Abdallah et Ben Salem (1993), les génotypes à paille haute semblent être les plus adaptés au déficit hydrique et ils répondent mieux aux conditions de sécheresse.

D'après de Berger et Planchon (1990), les variétés semi-naines présentent un rendement élevé par rapport aux variétés hautes, parce qu'elles arrêtent leur croissance dès l'anthèse, contrairement aux variétés hautes. Ceci veut dire, après l'anthèse la compétition pour les assimilats entre la tige et le grain s'annule chez les variétés semi-naines et le surplus d'assimilats dégagé est utilisé pour le remplissage du grain.

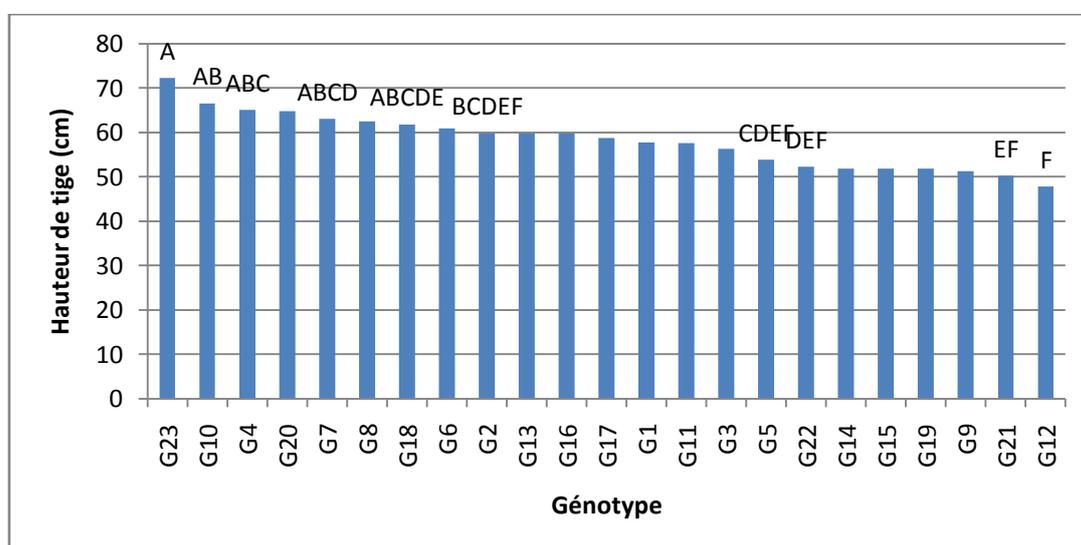


Figure 4.8: Hauteur de tige des génotypes étudiés

2.2. Longueur de l'épi

L'analyse de la variance montre que la longueur de l'épi présente une différence très hautement significative entre les génotypes (annexe8.tab 2). Les valeurs de la longueur varient de 7.5 à 13.5cm pour le 23 génotypes.

Le test de LSD à 5% de seuil de signification fait ressortir l'existence de 15 groupes homogènes qui se chevauchent (Fig 4.9).

Les valeurs les plus importantes ont été obtenues par les génotypes du groupe (A) qui comprend le génotype « Ain Abid » avec une longueur moyenne de 13.5cm ; alors que les valeurs les plus faibles ont été obtenues par le groupe homogène (J), qui comprend le génotype «Pastor » avec une longueur moyenne de 7.5cm. Les groupes homogènes AB, ABC, ABCD, ABCDE, BCDEF, CDEF, DEF et EF sont des groupes intermédiaires avec des valeurs moyennes allant de 7.75 à 13 cm.

Dans notre étude, nous avons constaté que la longueur de l'épi présente une variabilité élevée. Les résultats obtenus sont conformes aux travaux de Gorjanovic *et al* (2006) qui ont obtenu des longueurs d'épi variant de 7.69 à 14 cm, très proches de nos résultats.

D'après Kahali (1995), Monneveux et This (1997), ce paramètre a souvent été proposé comme un critère de sélection des génotypes tolérants au déficit hydrique chez le blé, en effet il a été montré que le rendement est lié positivement à la longueur de l'épi et que l'épi joue un rôle important dans la photosynthèse et la transpiration, donc la longueur de l'épi contribue dans la tolérance au stress hydrique.

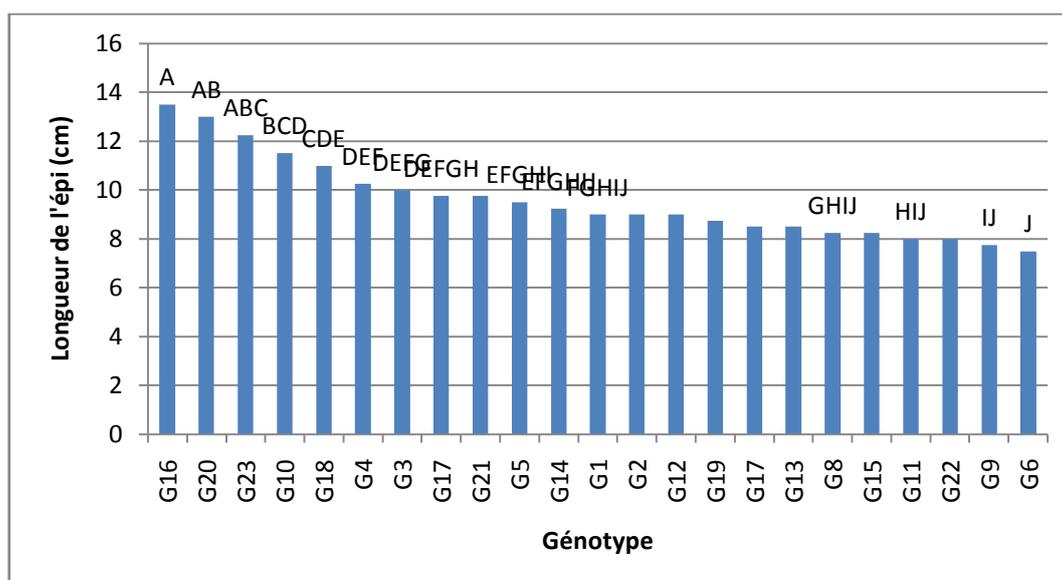


Figure 4.9: La longueur de l'épi des génotypes étudiés

2.3. Nombre de talles par plante

L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative entre les génotypes pour le nombre de talles par plante (annexe 8 .tab3.). Les valeurs varient de 1 à 2.5 pour les 23 génotypes.

Le test de LSD à 5% de seuil de signification fait ressortir l'existence de 7 groupes homogènes qui se chevauchent (fig4.10).

Les valeurs les plus importantes ont été obtenues par le groupe (A) qui comprend les génotypes «Morocco et Arz », avec un nombre de talles moyen de 2.5, alors que les valeurs les plus faibles ont été obtenues par le groupe homogène (D) qui comprend les variétés « TC*6x/Exchange (RL6004), HD, Selkirk/6*TC(RL6013), Pastor, Anza, Compair et Dahrawar » avec une moyenne de talle. Les groupes homogènes AB, ABC, ABCD, BCD, CD sont des groupes intermédiaires avec des valeurs moyennes allant de 1.25 à 2.25.

Selon Meynard (1980), Massele (1981) et Gonde *et al.* (1986), le nombre de talles est une composante qui explique indirectement le rendement en matière sèche. Ce paramètre est largement influencé par la température et le niveau d'apport d'éléments nutritifs et par les caractéristiques variétales et les techniques culturales.

Dans notre étude, nous avons constaté une très faible variabilité pour le nombre moyen des talles entre les génotypes de 1 à 2.25, ce qui peut s'expliquer par les conditions expérimentales en serre, c'est à dire la densité de semi de 3 plants par pots et que nombre de talles est influencé par la nature de génotype. Les résultats obtenus sont conformes aux travaux de Gregory (2006) ; Richard et al. (2007) ;Palta et Watt (2009).

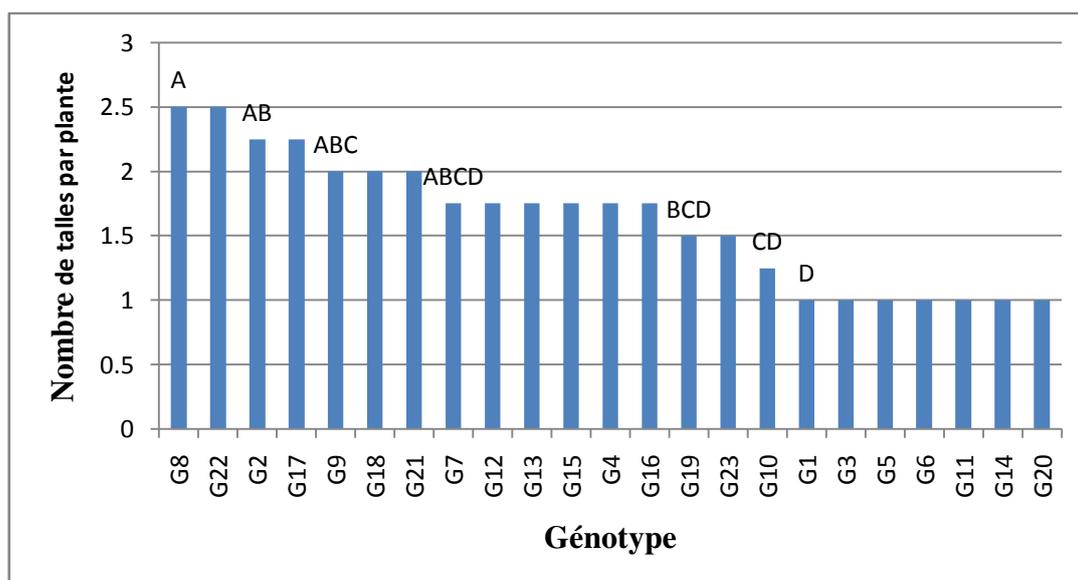


Figure 4.10 : Le nombre de talles par plantes des génotypes étudiés

2.4. Nombre de grains par épi

L'analyse de la variance montre que le nombre de grains par épi présente une différence hautement significative entre les génotypes (annexe 8.tab 4). Les valeurs varient de 12.75 à 43.75 pour les 23 génotypes.

Le test de LSD à 5% de seuil de signification fait ressortir l'existence de 7 groupes homogènes qui se chevauchent (Fig4.11).

Les valeurs les plus importantes ont été obtenues par les génotypes du groupe (A) qui comprend le génotype « Stylet » avec un nombre de grains par épi moyen de 43.75, alors que les valeurs les plus faibles ont été obtenues par le groupe homogène (D) qui comprend la

génotype «Anza» avec un nombre de grains par épi moyen de 12.75. Les groupes homogènes AB, ABC, ABCD, CDE et CD sont des groupes intermédiaires avec des valeurs moyennes allant de 17.25 à 41.25.

Les résultats de ce paramètre pour la plupart des génotypes de blé tendre rejoignent ceux obtenus par Bahloul (1988), Ali Dib et *al.*(1992), Gebeyhou et Kaolt (1993) et Hamada (2002) qui montrent que le nombre de grains par épi varie de 20 à 50 graines, ce qui nous permet de remarquer la grande variabilité intraspécifique.

Le nombre de graines joue un rôle très important dans les composantes du rendement et il dépend de la fertilité des épillets.

Maurer (1978) a constaté que ce caractère est mis en place au moment de l'induction florale, dès la fin du tallage. Ainsi, il est sensible à toute variation climatique et à toute déficience de fourniture en assimilats comme le soulignent Triboi *et al.* (1985).

L'amélioration de rendement passe nécessairement par le raisonnement du nombre de graines par épi qui explique 75% des variations du rendement.

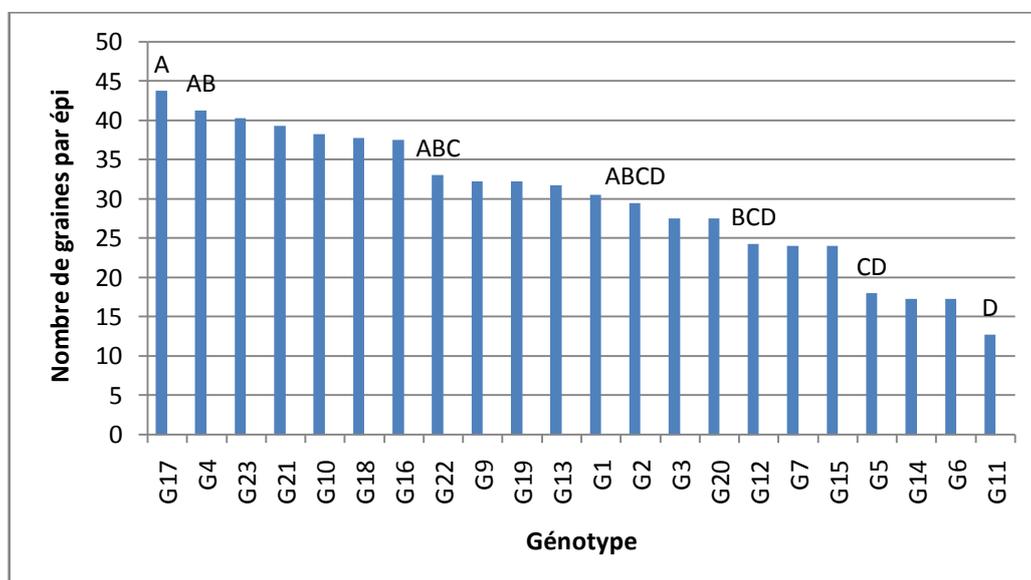


Figure 4.11 : Le nombre de graines par épi des génotypes étudiés

2.5.Poids de mille grains

L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative entre les génotypes pour le poids de mille grains (annexe 8 .tab 5). Les valeurs de poids de mille grains varient de 27.5 à 70 g pour le 23 génotypes.

Le test de LSD à 5% de seuil de signification fait ressortir l'existence de 11 groupes homogènes qui se chevauchent (fig4.12).

Les valeurs les plus importantes ont été obtenues par les génotypes du groupe (A) qui comprend le génotype «Babax #1» avec un poids de mille grains moyen de 70g, alors que les valeurs les plus faibles ont été obtenues par le groupe homogène (G) qui comprend les variétés Morocco, Buck Buck et Compair », avec un poids de mille grains moyen de 27.5g. Les groupes homogènes AB, ABC, ABCD, CDE et CD sont des groupes intermédiaires avec des valeurs moyennes allant de 32.5 à 62.5g.

Selon Grignac (1981), le poids de mille grains est un paramètre très important. Il est utilisé dans la sélection des variétés pour caractériser la grosseur et la densité des grains. Ce poids dépend fortement des conditions climatiques et de la nutrition azotée durant la maturation.

Les résultats concernant le poids de mille grains montrent que la majorité des génotypes ont un P.M.G élevé à très élevé de 40 à 70 g et montre une diversité importante entre génotypes. Les résultats obtenus sont conformes aux travaux de Morad et *al.*(2011) qui montrent que le poids de mille grains variant entre 30 et 80 g.

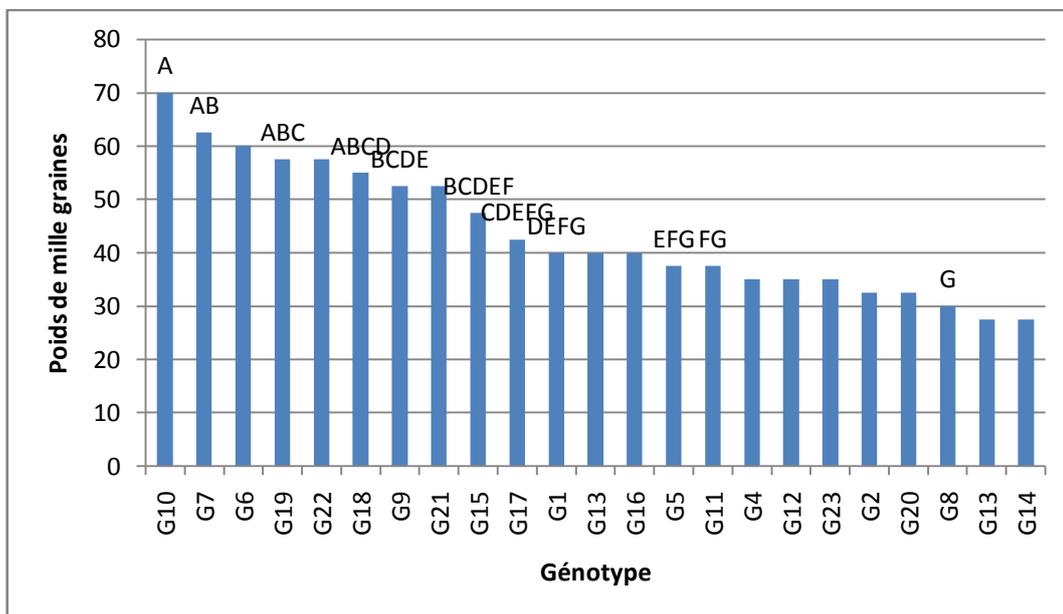


Figure 4.12 : Poids de 1000 graines des génotypes étudiés

Conclusion générale et perspectives

1. Conclusion

En Algérie, le blé occupe une place importante dans l'alimentation, malheureusement son rendement reste faible, d'où l'importance du sélectionneur à choisir une stratégie d'action qui peut maximiser ses chances de création des variétés performantes, adaptées aux conditions du milieu et de bonne qualité technologique.

Les efforts de la recherche sur le blé tendre sont à la mesure de l'importance économique de cette culture. En effet, malgré le faible polymorphisme observé, la taille et la complexité du génome du blé tendre, des cartes génétiques ont été élaborées et plusieurs caractères ont été étiquetés en utilisant les différentes techniques de marquage moléculaires.

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

Cependant, les variétés traditionnelles du blé nécessitent actuellement de très nombreux traitements phytosanitaires pour lutter contre les maladies cryptogamiques, comme les rouilles. La création de nouvelles variétés, portant des facteurs de résistance à ces maladies issue de variétés résistantes cultivées ou apparentées au blé, présente une alternative prometteuse pour limiter les intrants à la culture du blé.

Ce modeste travail est une initiation à la caractérisation morphologique et moléculaire de 23 génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

Notre démarche a été d'une part, de tester des marqueurs moléculaires déjà publiés, liés à des caractères d'intérêt pour le blé tendre (résistance à la rouille brune et noire, de nanisme) pour analyser le génotypage du blé tendre .et d'autre part, de découvrir le phénotypage des génotypes testés par les marqueurs. Pour ce travail, 7 marqueurs ont été utilisés : Xwmc44, Xgwm140, Lr34, Lr37, RhtB1b, RhtD1b, Iag95.

Par ailleurs, notre étude a procédé à la mesure de certains paramètres morphologiques (hauteur de tige, longueur de l'épi, nombre de talle par plante, nombre de graines par épi et poids de mille grains).

Les résultats préliminaires de cette analyse ont montré des amplifications pour les caractères de résistance à la rouille brune (Lr46, Lr 34) et de nanisme (*Rht*) pour la majorité des échantillons ; et l'absence des amplifications pour les caractères de la résistance à la rouille brune (Lr37) et de la résistance à la rouille noire (Sr31).

L'analyse des caractères concernant la hauteur de la tige, la longueur de l'épi, nombre de talles par plante, nombre de graines par épi, poids de mille grains présentent une variabilité phénotypique et une diversité plus ou moins marquée entre les 23 génotypes.

Parmi les paramètres considérés dans cette étude, il s'avère que le phénotype des 23 génotypes est une partie de l'expression visible des génotypes testés par des marqueurs moléculaires liés à des caractères d'intérêt pour le blé tendre. Ce travail préliminaire nous a permis de distinguer une variabilité intra-variétale, d'identifier et de regrouper les variétés en différentes classes génotypiques.

Nos résultats ont permis de mettre en évidence d'une part, les différences entre les génotypes de blé tendre étudiés et d'autre part, l'intérêt de l'utilisation de ces types de marqueurs moléculaires pour l'évaluation de la diversité génétique et de l'identification variétale.

Au terme de ce travail, on pourrait donc dire que cette étude constitue un essai préliminaire qui nous a, toutefois, permis de caractériser les 23 génotypes pour plusieurs caractères morphologiques et pour la résistance aux rouilles. Il serait nécessaire et intéressant de poursuivre ce travail qui constitue le point de départ de tout programme d'amélioration variétale raisonné. Ces essais devront être répétés et confirmés, mais ils sont néanmoins très encourageants quant à la validité de leurs résultats.

Ces résultats ouvrent bien sûr la voie aussi à l'utilisation d'autres marqueurs dans les programmes de la sélection assistée par marqueurs chez le blé tendre.

2. Perspectives

Tout en continuant d'étudier les caractères morphologiques et moléculaires qui restent importants dans la caractérisation des variétés de blé, il importe également d'utiliser l'analyse moléculaire pour une meilleure connaissance génétique des espèces, afin de mieux les discriminer.

Dans le cadre d'un travail futur, il serait souhaitable :

- D'établir une stratégie de sélection des variétés reproductives et résistantes aux multiples conditions climatiques.
- De porter plus d'intérêt à ce travail en considérant plus des populations pour évaluer la variabilité inter et intra –variétés.
- D'étudier la résistance aux stress biotiques et abiotiques.
- D'utiliser des marqueurs moléculaires spécifiques qui pourraient être liés à l'adaptation, au rendement et à la qualité.

Dans le cadre d'une réduction de la quantité d'intrants phytosanitaires apportés aux cultures du blé et de la création de variétés naturellement résistantes, il serait donc également important d'intégrer aux nouvelles variétés des facteurs de résistance aux maladies.

Références bibliographiques

1. **Abbassenne F., Bouzerzour H. et Hachemi L.,1998** - Phénologie et production du blé dur en zone semi-aride d'altitude. *Annales INA - El Harrach, Alger*,18: 24 - 36.
2. **Abeledo L. G., Savin R ., Gustavo A. et Slafer., 2008** - Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *European journal of Agronomy*. 28 : 541-550.
3. **Acevedo E ., Silva P. et Silva H., 2002** - *Growth and wheat physiology, development. In: Bread wheat: improvement and production*. Edited by Curtis BC, Rajaram S, Gomez Macpherson H: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); 2002: 567 p.
4. **Adjabi A., Bouzerzour H., Lelarge C., Benmahammed A., Mekhlouf A. and Hannachi A., 2007** - Relationships between grain yield performance, temporal stability and carbone isotope discrimination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) under Mediterranean conditions. *Journal of Agronomy*, 06 (2): 294 - 301.
5. **Ahmad M.,et Soreells M.E.,2002** – Distribution of microsatellites alleles linked to Rht8 dwarfing gene in wheat. *In :Euphytica* ,123:235-240.
6. **Ali Dib T., Monneveux Ph. et Araus J.L., 1992** - Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Caractères physiologiques d'adaptation. *Agronomie*, 12 : 381-393 .
7. **Annichiarico P., Bellah F. and Chiari T., 2006** - Repeatable genotype x location interaction and its exploitation by conventional GIS-based cultivar recommendation for durum wheat in Algeria. *Europ. J. Agronomy*, 24: 70 – 81.
8. **Badr A., Muller K.,Schafer-Pregl R.,El Rabey H., Effgen S .,Ibrahim H., Pozzi C .,Rohdi W. et Salamani F .,2000** – *On the origin and domestication history of barley (hordeumvulgares)* Mol, Biol , Evol,17(4) : pp 499-510 .
9. **Bahloul A., 1988-** *Contribution à l'étude de la dynamique de l'azote dans le système sol-plante sous culture de blé dur (Triticum durum Desf.). En zone méditerranéenne*. Thèse docteur ingénieur. 104 p.
10. **Bajji M., Lutts S. et Kinet J.M., 2001** - Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*. 160 : 669 – 681.

11. **Bartels D. and Sunkar R., 2005** - Drought and salt tolerance in plants. *Crit Rev Plant Sci.*, 24:23 - 58.
12. **Beales J., Turner A., Griffiths S., Snape J.W., Laurir D.A., 2007** - A pseudoreponse regulator is misexpressed in the photoperiodinsensitive Ppd-D1 mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 115:721-733.
13. **Belaid D., 1996** - *Aspects de la céréaliculture Algérienne*. Office des publications universitaires, Ben-Aknoun (Alger), 206 p.
14. **Ben Adballah N. et Ben Salem M., 1993** - Paramètres morphologiques de sélection pour la résistance à la sécheresse des céréales. *Les colloques n° 64, Ed, INRA, Paris,;* 275-298.
15. **Benaissa R., 2013** – production de blé : des prévisions optimistes. In ‘‘conférence de presse sur l’agriculture ’’, 23 juillet 2013, L’Econews, Algérie .
16. **Benalia S., 2014** – journal de l’expression.
17. **Benlaribi M., 1990** - *Adaptation au déficit hydrique chez le blé dur (Triticum durum Desf.) : Etude des caractères morphologiques et physiologiques*. Thèse de Doctorat d’Etat, I.S.N.- Université de Constantine, 164p .
18. **Benmahammed A., Nouar H., Haddad L., Laala Z., Oulmi A. et Bouzerzour H., 2010** - Analyse de la stabilité des performances de rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. . *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 14: 177 – 186.
19. **Berger M. et Planchon C., 1990**- Physiological factors determining yield in bread wheat : Effects of dwarfing genes. *Euphytica* 51: 33-39.
20. **Belaid D., 1996** - *Aspects de la céréaliculture Algérienne*. Office des publications universitaires, Ben-Aknoun (Alger), 206 p.
21. **Bliefert C. et Perraud R., 2001** - *Chimie de l’environnement (Air, Eau, Sols, Déchets)*. De Boeck ,477 p.
22. **Blum A., 1988** - Plant Breeding for Stress Environment. CRC. Press (éds), Boca Raton, Florida, USA; 123p .
23. **Boichard D., LeRoy P., Levéziel H., Elsen J.M., 1998** - Utilisation des marqueurs moléculaires en génétique animale. INRA Productions Animales, 11, 67-80.
24. **Bonjean A., 2001** - Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle de blé tender (*Triticum aestivum* L.). *Dossier de l’environnement de l’INRA*, n° 21 : 29-37.

25. **Bonjean B., 2001** – *intégration céréaliculture élevage en zone subsonique : cas de saïda* Thèse Doctorat 3^{ème} cycle .American society of Agronomy ,Madison, p.p.105-164.
26. **Borojevie K., 2007** - The transfer and history of reduced height genes (RHT) in wheat from Japan to Europe .*In: Journal of heredity* , 96: 455-459.
27. **Botstein D., White R.L., Skolnick M and Davis RW., 1980**-Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32:314- 331.
28. **Boufenar-Zaghouane F. et Zaghouane O., 2006** - *Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine)*. ITGC d'Alger, ,152p.
29. **Boulal H., Zaghouane O., El Mourid M. Et Rezgui S., 2007** - *Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie)*. TIGC, INRA, ICARDA, Algérie, 176 p .
30. **Bouzerzour H. and Benmahammed A., 2009** - Variation in early growth, canopy temperature, translocation and yield of four Durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes under semi arid conditions. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 5: 142 – 150.
31. **Bretting P.K. and Widrechner M.P., 1995** - *Genetic markers and plant genetic resource management*. Plant Breed. Rev. 13:11–86.
32. **Bulter J.D., Byrne P.F. Mohammadi V., Chapman P.L. and Haley S.D., 2005** – Agronomic performances of Rht alleles in a spring wheat population across a range of moisture levels. *In: Crop science* ,45:939-947 .
33. **Cattivelli L., Baldi P., Crosatti N., Di Fonzo N. and Stanca M., 2002** - Chromosome regions and stress related sequences involved in resistance to abiotic stress in *Triticeae*. *Plant Molecular Biology*, 48: 649 - 665.
34. **Chetmi D., 2009** - Croisement diallèle de six variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) ; analyse des parents et de leurs descendants en vue de l'évaluation des principaux caractères à intérêt agronomique. *Thèse de Magister en Sciences Agronomiques. I.N.A*
35. **Celive J., 2009** – *Introduction to plant biotechnology* .university of science , newyork , USA , 4 p .
36. **Cenci A., D'ovidio R., Tanzarella Oa., Ceoloni C. And Porceddu E., 1999** - Identification of molecular markers linked to PM13, an *Aegilops longissima* gene conferring resistance to powdery mildew in wheat. *Theor, Appl, Genet.* 98 (3-4), p.p 448 - 454.

37. **Chantret N., Sourdille P., Roder M., Tavaud M., Bernard M et Doussinault G.,2000** - Location and mapping of the powdery mildew resistance gene MIRE and detection of a resistance QTL by bulked segregant analysis (BSA) with microsatellites in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100 (8), p. 1217–1224 .
38. **Chaussat R . et Ledebunff Y., 1975** - *La germination des semences* .Bordars, Paris, 232p.
39. **Citron G., 2002** - *Blé tendre Marchés, débouchés, techniques culturales, récolte et conservation*. ITCF, Paris, pp. 49.
40. **Djennadi F., Dekkiche N.et Djender Z., 2011** - Cultures et coûts de production. *Ed ITGC, Alger,96p.*
41. **Djermoun ., 2009** – la production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques .
42. **Doussinault G., Pavoine M.T., Jaudean B. et Jahier J., 2001** - Evolution de la variabilité génétique chez le blé. *Dossier de l'environnement de l'INRA, N° 21. Station d'amélioration des plantes* : 91-103.
43. **Dweikat I., Ohm H., Patterson F.et Cambron S.,1997** - Identification of RAPD markers for 11 Hessian fly resistance gene in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 94 , p. 419-423.
44. **Dyck P.L., Samborski D.J.and Anderson R.G.,1966** - Inheritance of adult-plant leaf rust resistance derived from the common wheat varieties Exchange and Frontana. *In: Canadian Journal of Genetics and Cytology* , 8:665-671
45. **Eagles H.A., Bariana H.S., Ogonnaya F.C., Rebetzke G.J., Hollamby G.J., Henry R.J., Henschke, P.H. And Carter M.,2001** - Implementation of markers in Australian wheat breeding. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52: 1349 - 1356.
46. **Ejaz, M et al., 2012** - Genetic Variation for Markers Linked to Stem Rust Resistance Genes in Pakistani Wheat Varieties. *Crop Science* :52: 2638-2648.
47. **Ellis M.H., Spielmeier W., Gale K.R., Rebetzke G.J., Richards R.A.,2002** –Perfect markers for the *Rht-B1*and*Rht-D1*dwarfing genes in wheat *.In:Theoretical and Applied Genetics*,105:1038-1042 .
48. **Emille ., 2000** – *connaissance des aliments base alimentaire et nutritionnelles de la diététique* .Lavoisier , Paris .
49. **Eyal Z., Scharen A., Prescott J. M. Et Ginkel V.M., 1987** – *the septoria diseases of wheat .concept and methods of disease management*.cimmyt, Mexico, 52p.

50. **Fahima T., Chague V., Sun G., Korol A., Ronin Y. , Röder M., Grama A. et Nevo E., 1997-** Identification and potentiel use of PCR markers flanking the *Triticum dicoccoides*-derived stripe rust resistance gene *Yr15* in wheat. *5th Int. Congr. Plant Mol. Biol.*, 21–27 Sept 1997, Singapore (Abstr.), 249 p.
51. **FAOSTAT database ,2005** - Food and Agriculture Organisation of the United Nation , Rome ,Italy . <https://faostat.fao.org>.
52. **FAO., Food and Agriculture Organisation ., 2009** - Conservation et utilisation durable des ressources phylogénétiques pour la méditerranée ; Annexe du rapport de la réunion préparatoire sous-régionale pour la méditerranée. Octobre, 1995, Tunisie .
53. **Feillet P., 2000** - *Le grain de blé. Composition et utilisation* . Editions Quae, ISBN .
54. **Feldman M .,2001** – *origin of cultivated wheat* . The world wheat book :a history of wheat breeding .Intercept limited ,Andover , Angle Terre ,p.p. 3-58.
55. **Feldman M., 1995** - *Wheats*. In: SmarttJ, Simmonds NW. Evolution of crops plants Harlow, UK: Logman Scientific and Technical, p.p.185-192 .
56. **Feliachi K., 2000** - Programme de développement de la céréaliculture en Algérie . *ITGC, El- Harrach : Actes du premier Symposium International sur la filière Blé 2000 : Enjeux et Stratégies/ Alger 7-9 février2000* : 21-27.
57. **Gallais A. Et Bannerot H., 1992** - *Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection*. INRA, 768 p.
58. **Gate P. et Giban M., 2003** - *Stades du blé* . ITCF, Paris, 68 p.
59. **GATE P., 1995** - *Ecophysiologie du blé*. ITCF. Technique et Documentat ion. Lavoisier. Paris. p.419-425.
60. **Gebeyhou G. and Kaolt D.R., 1993-** Response of durum cultivars to water stress in the field and grain. *Can J. Plant, Sci*; 63: 801- 814.
61. **Gregory .p.J., 2006** - plant roots. In:Growth ,Activity and Interaction with soils, Blackwell publishing Ltd ,Oxford .
62. **Giban M., 2001** - *Diagnostic des accidents du blé tendre*. ITCF, France, 159 p.
63. **Godon ., 1982** – *biotransformation des produits céréaliers* .Lavoisier , Paris .
64. **Gonde P., Ratomahenina R., Arnaud A. and Galzy P., 1986-** Purification and properties of the exocellular β -glucosidase of *Candida molischianan* (Zikes) Meyer and Yarrow capable of hydrolyzing soluble cellodextrins. *Can, J. Biochem. Cell. Biol.* 363:1160-1166.

65. **Gonde R. Et Jussiaux M., 1980** - *Cours d'agriculture moderne*. 9ème édition, Maison Rustique, Paris, 628 p .
66. **Goodwin S.B., Hu X.et Shaner G.,1998** - An AFLP marker linked to a gene for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. In Slinkard AE , *9th Int. Wheat Genet. Symp.* 3. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 108–110.
67. **Gorjanovic B. and Balalic M .,2006** - Correlations among yield components in durum wheat. *Genetika*. 38(2):115-120 .
68. **Grignac P . , 1987** - *Tolérance au déficit hydrique et aux hautes températures de cultivars de blé . ATP ecophysiologie du blé , Rapport intermédiaire campagne INRA : 279- 289.*
69. **Guét G., 2003** - *Mémento d'agriculture biologique*. 2ème édition, Agridécisions, Paris, 416p .
70. **Gupta, P.K., Varshney, R.K., Sharma, P.C. And Ramesh, B., 1999** - Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant Breeding*, 118: 369-390.
71. **Hamadache A., 2001** - *Stades et variétés de blé*. ITGC, 22p.
72. **Hargas H., 2007-** *Identification et sélection de caractères de résistance à la sécheresse chez le blé dur (Triticum durum Desf.) dans les conditions semi-arides des Hauts Plateaux de Sétif*. Magister, Inst. Nat. Agro., El- Harrach, Alger, 73 p.
73. **Hart L., Mohler V., Zeller F., Hsam S.et Schweizer G.,1999** - Identification of AFLPmarkers closely linked to the powdery mildew resistance genes *Pm1c* and *Pm4a* in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* 42, p. 322–329.
74. **Hazmoune T., 2006** - *Le semis profond comme palliatif à la sécheresse. Rôle du coléoptile dans la levée et conséquences sur les composantes du rendement*. Thèse docteur d'état, Univ Constantine 168p.
75. **Helguera M., Khan I.A., Kolmer J., Lijavetzky D., Zhongqi L. and Dubcovsky J., 2003** - PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. In: *Crop Science*, 43:1839-1847.
76. **Helguera M., Khani A. and Dubcovsky J.,2000** – development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr47*. *Theor. Appl. Genet.* 101 (4), p.p. 625–631.

77. . **Hernandez P., Martin A. et Dorado G.,1999** - Development of SCARs by direct sequencing of RAPD products: a practical tool for the introgression and marker-assisted selection of wheat. *Mol. Breed.* **5** (3), p.p. 245–253.
78. **Hitimana L. Et Hussein K., 2006** - *Expériences de biotechnologie agricole : quels enjeux pour l'Afrique de l'Ouest*, CSAO / OCDE, Paris.
79. **Hospital F., 2001** - Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. *Genetics*, 158: 1363 - 1379.
80. **Jackson D .S .,Abbey C. S. And Nugent D. ,2006** - DNA profiling of the D1S80 locus: a forensic analysis for undergraduate biochemistry laboratory. *J. Chem*,83:774-776.
81. **Jahoor A.,1998**- Marker assisted breeding in cereals, specially with respect to synteny among loci for mildew resistance. *I n G u p t a P K. Genetics and biotechnology in crop improvement*. Meerut, India:Rastogi Publ., p. 237-254.
82. **Jeam P ., Catmrine T. et Giues L., 1998** - *Biologie des plantes cultivées*. L'Arpers, Paris, 150 p.
83. **Jones M., Dingkuhn M., Aluko G.K. and Semon M., 1997** - Interspecific *Oryza sativa* L. x *O. glaberrima* Steud. progenies in upland rice improvement. *Euphytica*, 94: 237 - 246.
84. **Kahali A.,1995** - Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *Plant. Physiol*, **145**: 363-366.
85. **Kahali A.,1995** - Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *Plant. Physiol*, **145**: 363-366.
86. **Kamoshita A., Babu R.C., Boopathi N.M. and Fukai S., 2008** - Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. *Field Crops Research*, 109: 1 - 23.
87. **Kandimalla E. R. and Agrawal S., 2000** - “Cyclicons” as hybridation-based fluorescent primer-probes: synthesis, properties and application in real-time PCR. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* # 8: 1911-1916.
88. **Khush G.S., 1999** - Green Revolution :preparing for the 21st Century .*Genome* 42:645-655 .
89. **Kolmer J.A.,2005** - Tracking wheat rust on a continental scale. In:*Current Opinion in Plant Biology*, 8:441-449.

90. **Krattinger S.G., Lagudah E.S., Spielmeier W., Singh R.P., Huerta-Espino J., McFadden H., Bossolini E., Selter L.L. and Keller B., 2009** - A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *In: Science*, 2009, 323:1360-1363.
91. **Kribaa M., 2003** - *Effet de la jachère sur les sols en céréaliculture pluviale dans les zones semi-arides méditerranéennes Cas des hautes plaines Sétifiennes en Algérie. Impact des différentes techniques de travail de la jachère sur les caractéristiques structurales et hydrodynamiques du sol*. Thèse Doctorat d'Etat, INSA, El-Harrach, Alger, 121p.
92. **Lafianadra D., Masel S., Dovidio R., Turchetta T., Margiotta B. et Macritchie F., 1995** - Structural difference in allelic glutenin subunits of high and low Mr and their relationships with flour technological properties, In : *Wheat structure : biochemistry and functionality* .J.P. Schofield, *The Royal society of Chemistry .special publication n 212* : pp.117-127.
93. **Lalam N., 2006** - Estimation of the reaction efficiency in polymerase chain, reaction. *J. Theor. Biol*, 242:947 – 953.
94. **Lambert C., 2006** - *Création- réalisation. Semences et biodiversité. Semences et biodiversité. Préservation et enrichissement de la biodiversité par la filière semences*. GNIS.
95. **Langridge P., Lagudah E.S., Holton T.A., Appels R., Sharp P.J. and Chalmers, K.J., 2001**- Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52: 1043 – 1077.
96. **Laroche A., Demeke T., Gaudet DA., Puchalski B., Frick M. et McKenzie R., 2000** - Development of a PCR marker for rapid identification of the *Bt-10* gene for common bunt resistance in wheat. *Genome* 43 (2), p. 217–223.
97. **Lecomte C., 2005** - *L'évaluation expérimentale des innovations variétales. Proposition*
98. *d'outils d'analyse de l'interaction génotype - milieu adaptés à la diversité des besoins et des contraintes des acteurs de la filière semences*. Thèse de Doctorat, INA P-G, Paris, France. 173 p.
99. **Lery F., 1982** - *L'agriculture au Maghreb ou pour une agronomie méditerranéenne*. Maisonneuve et Larose, Paris, 338 p.

100. **Lin, M.H., Chen, T.C., Kuo, T., Tseng C. and Tseng C., 2000** - Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Clinical Microbiology* 38: 4121-4125.
101. **Linott L., Davoren J., Gaudet D., Pichalski B.et Laroche A. 1998** - Development of molecular markers for resistance to common bunt in hexaploid wheats. *In Slinkard AE., 9th Int. Wheat Genet. Symp. 3.* Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. Of Saskatchewan, p. 126–127.
102. **Liu DJ., Liu JY., Tao WJ.et Chen P .D.,1998** – Molecular markers and breeding wheat for powdery mildew resistance. *In Slinkard AE. 9th Int. Wheat Genet. Symp. 3.* Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p.p. 128–131.
103. **Liu S.X.,Chao S.M .et Anderson J.A., 2008** - New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat . *Thear Appl Genet* 118: 177-183.
104. **Liu XM., Smith CM., Gill BS. et Tolmay V.,2001** - Microsatellite markers linked to six Russian wheat aphid resistance genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 102 (4), p. 504–510.
105. **Liu XM., Smith C.M.et Gill B.S.,2002** - Identification of microsatellite markers linked to Russian wheat aphid resistance genes *Dn4* and *Dn6*. *Theor. Appl. Genet.* 104, p. 1042–1048.
106. **Liu Z., Sun Q., Ni Z. and Yang T.,1999** - Development of SCAR markers linked to the *Pm21* gene conferring resistance to powdery mildew in common wheat. *Plant Breed.* 118 (3), p. 215–219.
107. **Madhava Rao K.V., Raghavendra A.S. et Janardhan Reddy K., 2006** – Printed in the Netherlands .*Phisiology and molecular Biology of stress Tolerance in plants .springer* ,1-14p.
108. **Madr., 2011** - *Bulletin statistiques de la compagne 2009-2010.* Ministère de l’Agriculture et du Développement Rural , 23 p .
109. **Ma J.X., Zhou R.H., Dong Y.S., Wang L.F., Wang X.M et Jia J.Z., 2001-** Molecular mapping and detection of the yellow rust resistance gene *Yr26* in wheat transferred from *Triticum turgidum* L. using microsatellite markers. *Euphytica* **120** (2), p. 219–226.

110. **Martínez F., Niks R.E., Singh R.P. and Rubiales D., 2001** - Characterization of *Lr46*, a gene conferring partial resistance to wheat leaf rust . *In: Hereditas*, 135:111-114.
111. **Massele M.J., 1981** - Relation entre croissance et développement pendant la montaison d'un peuplement de blé d'hiver. Influence des conditions de nutrition. *Agronomie*, 13 :365-370.
112. **Maurer D., 1978** - Phytoplancton et pollution. Lagune Ebrié (Abidjan). Secteur de Cortiou (Marseille). Thèse Doc. 3ème cycle, Aix-Marseille II: 121 p.
113. **Mazlaik., 1982** - *Physiologie végétale, croissance et développement. Tome 3.* Hermann éditeurs des sciences et des arts, collecte méthodes, Paris, 420p.
114. **Ma Z.Q., Saidi A., Quick J.S. et Lapitan N.L., 1998**- Genetic mapping of Russian wheat aphid resistance genes *Dn2* and *Dn4* in wheat. *Genome* 41, p. 303–306.
115. **McIntosh R.A., Yamazaki Y., Devos K.M., Dubcovsky J., Rogers R. and Appels R., 2005** - Catalogue of gene symbols for wheat . *In: KOMUGI, Integrated wheat Science Database* .
116. **Meyer S., Reeb C. et Bosdeveix R., 2004** - *Botanique, biologie et physiologie végétale* . Moline, Paris, 461p.
117. **Meynard J.M., 1980**- *L'élaboration du nombre d'épis chez le blé d'hiver. Influence des différentes caractéristiques de la structure du peuplement sur l'utilisation de l'azote et de la lumière.* Thèse Doct Ing "Sci. Agr" INA. Paris- Grignon: 274p.
118. **Mhlanga M. M. and Malmberg, L., 2001**- Using molecular beacons to detect single nucleotide polymorphisms with real-time PCR. *Methods* 25: 463-471.
119. **Molinié A., Faucet V., Castegnaro M. and Pfohl-Leszkowicz A ., 2005**- Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in OTA, Citrinin and Fumonisin B1. Development of a new method for simultaneous extraction of OTA and Citrinin. *Food chemistry* 92 :391- 400.
120. **Monneveux P. et This D., 1997** - La génétique face aux problèmes de la tolérance des plantes cultivées à la sécheresse : espoirs et difficultés. *Sécheresse* 8(1): 29-35.
121. **Morad A. A., Hashash M. A., Hoger and Zaaza E., 2011**- Inheritance of yield and yield components for mutated population using gamma irradiation in some bread wheat cultivars. *Agric. Res. J. Suez Canal University*, 11 (2): 7-16.

122. **Morgante M. and Olivieri A.M.,1993** - *PCR-amplified microsatellite as markers in plant genetics*. *Plant J.* 3: 175-182.
123. **Morot-Gaudry J.Fet Briat J.F.,2004** - La génomique en biologie végétale. *INRA-Quae. Collection . Science update*, 582 p.
124. **Mullis K., Faloona F., Fcharf S., Saiki R., Horn G.and Rlich H ., 1986** - Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb, Symp ,Quant , Biol* 51 :263-273.
125. **Najimi B., El Jaafari S., Jlibène M. et Jacquemin J., 2003** - Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 7: 17 - 35.
126. **Nelson J.C., Sing EP., Autrique J.E.et Sorrells M.E.,1997-** Mapping genes conferring and suspecting leaf rust resistance in wheat. *Crop Sci.* **37**, p. 1928–1935
127. **Nolan T.,Hand R.E.et Bustin S.A., 2006** - Quantification of mRNA using real-time RT-PCR .*Nature protocols*.1(3):1559-82.
128. **Olson M., Hood C .,Cantor and Botsein D.,1989** – A common language for physical mapping of the humain genome .*Science* 245 :1434-1435.
129. **Palta J.,Watt, M.,2009** - vigorous crop root systems: from and function for improving the capture of water and nutrients .In : Sadras,V.O.,Calderini,D.F.(Eds),*Crops physiology. Applications for Genetic Improvement and Agronomy. Elsevier Inc.*
130. **Paterson A.H., Damon S., Hewitt J.D., Zamir D., Rabinowitch H.D., Lincoln S.E., Lander E.C. and Tanksley S.D., 1991-** Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generation and environments. *Genetics*, 127: 181 - 197.
131. **Peng J. H., Fahima T., Roder MS., Li YC., Grama A et Nevo E.,2000** - Microsatellite high-density mapping of the stripe rust resistance gene *Y r H 5 2* region on chromosome 1B and evaluation of its marker-assisted selection in the F-2 generation in wild emmer wheat. *New Phytologist.* **146** (1), p. 141–154 .
132. **Petrequin P. et Baudain D., 1997-** *Les sites littoraux néolithiques de clairvaux- les-lacs (Jura). I problématique générale. L'exemple de la station III.* Edition de la maison des sciences de l'homme , Paris,508p.

133. **Poitrat E., 1999** - The potential of liquid biofuels in France. *Renewable Energy* 16, 1084-1089.
134. **Pretorius Z.A., Singh R.P., Wagoire W.W. and Payne T.S., 2000** - Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici* in Uganda .In: *Plant Disease*,84:203.
135. **Prévost P., 1990** - *Les bases de l'agriculture moderne*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 262 p.
136. **Prins R., Groenewald J.Z., Marais G.F., Snape J.W. et Koebner R.M.D.,2001-** AFLP and STS tagging of Lr19, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 103 (4), p. 618–624
137. **Ramade F., 2003** - Elément d'écologie écologique fondamentale. 3ème édition, Dunod, Paris, 690p.
138. **Rastoin J et Benabderrazik E.H.,2014** - Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb Pour un développement de filières territorialisées. *IPEMED, Algérie*.32 p.
139. **Raupp WJ., Sukhwinder S., Brown-Guedira G.L.et Gill B.S.,2001-** Cytogenetic and molecular mapping of the leaf rust resistance gene *Lr39* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 102 (2–3), p. 347–352.
140. **Rebetzke G.J., Ellis M.H., Bonnett D. G. and Richards R.A.,2007** - Molecular mapping of genes for coleoptiles growth in bread wheat (*Triticum aestivum* L.).*Theor. Appl Genet.*,114: 1173 - 1183.
141. **Reynolds M., Dreccer F. and Trethowan R., 2007** - Drought-adaptive traits derived from wheat wild relatives and landraces. *Journal of Experimental Botany*, 58: 177 – . 186.
142. **Richards R.A., Watt, M. et Rebetzke G.J.,2007** - Physiological traits and cereal germplasm for sustainable agricultural systems. *Euphytica*154, 409-425.
143. **Robert O., Abelard C. and Dedryver F.,1999** - Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene *Yr17* in wheat. *In:Molecular Breeding* .
144. **Rong J.K., Millet E., Manisterski J.et Feldman M.,1998** - A powdery mildew resistance gene from wild emmer transferred into common wheat and tagged by molecular markers. *In Slinkard AE. (ed.), 9th Int. Wheat Genet. Symp. 3*. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 148–150.

145. **Rorat T. , 2006** - Plant dehydrins tissue location, structure and function. Cellular & molecular biology letters. *Institute of plant genetics*. 11(4):536-556.
146. **Sacco F., Suarez E.Y. et Naranjo T.,1998** - Mapping of the leaf rust resistance gene *Lr3* on chromosome 6B of Sinvalocho MA wheat. *Genome* 41, p. 686–690.
147. **Samouelian F., Gaudin V. et Boccara M., 2009** - Génétique moléculaire des plantes. *Quae* , 208p.
148. **Sanchez-Garcia M., Álvaro F., Martín-Sánchez J. A., Sillero J. C., Escribano J. and Royo C., 2012** - Breeding effects on the genotype × environment interaction for yield of bread wheat grown in Spain during the 20th century. *Field Crops Research*, 126: 79-86.
149. **Sayoud R et Benbelkacem A .,1996** – *Situation des maladies des céréales en Algérie . In ‘proceeding du symposium régional sur maladies des céréales et des légumineuses alimentaires’*. Rabat , Maroc , p.p.96-70 .
150. **Schnurbusch T., Paillard S., Schori A., Messmer M., Schachermayr G., Winzeler M. and Keller B.,2004** - Dissection of quantitative and durable leaf rust resistance in Swiss winter wheat reveals a major resistance QTL in the *Lr34* chromosomal region. *In: Theoretical and Applied Genetics*, 108:477-484 .
151. **Schachermayr GM., Siedler H., Gale MD., Winzeler H., Winzeler M. and Keller B.,1994** - Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* rust gene in wheat. *Theor ,Appl, Genet.* 88, p.p. 110-115 .
152. **Sharma HC and Gill BS., 1983** - Current status of wide hybridization in wheat. *Euphytica* 32:17–31.
153. **Shewry P.R., 2009** - Wheat. *Journal of Experimental Botany* 60: 1357-1553.
154. **Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Huerta-Espino J., Kinyua M.G., Wanyera R., Njau P. and Ward R.W., 2006** - . Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen . *In: CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, No.054 .
155. **Singh R.P., Huerta-Espino J.,2003** - Effect of leaf rust resistance gene *Lr34* on components of slow rusting at seven growth stages in wheat. *In: Euphytica* 129:371-376.

156. **Singh R.P., Mujeeb-Kazi A., Huerta-Espino J., 1998**- *Lr46*: A Gene Conferring Slow-Rusting Resistance to Leaf Rust in Wheat .*In:Phytopathology* 88(9) :890-894 .
157. **Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M. et Zid E. D., 2005** - Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse* (16) 3 :225-229.
158. **Spielmeier W., Huang L., Bariana H., Laroche A . , Gill B.S.et Lagudah E.S.,2000**- NBS-LRR sequence family is associated with leaf and stripe rust resistance on the end of homoeologous chromosome group 1S of wheat. *Theor. Appl. Genet.* **101** (7), p. 1139–1144.
159. **Soltner D., 2007** - *Les bases de la production végétale tome III, la plante*. Collection sciences et technique agricole Paris, 304p .
160. **Soltner D., 2005** - *Les grandes productions végétales*. 20ème Edition. Collection science et techniques agricoles , 472p.
161. **Soltner D., 1999** - *Les grandes productions végétales*.19 ème édition, Collection sciences et techniques agricoles, France, 464 p .
162. **Soltner D . , 1998** - *Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies*. Sainte Gemme-sur-Loire . Sciences et Techniques Agricoles .
163. **Soltner D., 1990** - Phytotechnie spéciale, *Les grandes productions végétales. Céréales, plantes sarclées, prairies*. Sciences et Technique Agricoles .
164. **Stokstad E., 2007** - Deadly wheat fungus threatens world's breadbaskets.*In:Science*, 315:1786-1787 .
165. **Suenaga K., Singh R.P., Huerta-Espino J.,and William H.M.,2003** - Microsatellite Markers for Genes *Lr34/Yr18* and Other Quantitative Trait Loci for Leaf Rust and Stripe Rust Resistance in Bread Wheat .*In:Phytopathology*, 93(7):881-890 .
166. **Sun G.L., Fahima T., Korol A.B., Turpeinen T., Grama A., Ronin Y.I.et Nevo E.,1997**- Identification of molecular markers linked to *Yr15* stripe resistance gene of wheat originated in wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*. *Theor. Appl. Genet.* 95, p. 622–628.
167. **Surget A.et Barron C .,2005** – *histologie du grain de blé , industrie des céréales*.
168. **Tardieu F., 2003** - Virtual plants: modeling as a tool for the genomics of tolerance to water deficit. *Trends Plant Sci.*, 08: 9 - 14.

169. **Triboï E., Lemerrier E. et Rousset M., 1985** - Elaboration du poids de grain. *Ecophysiologie du blé C.R.INRA* :67-100.
170. **Udupa S.S., Robertson L.D., Weigand F., Baum M. and Kahl G., 1999** - Allelic variation at (TAA) microsatellite loci in a world collection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm. *Molecular and General Genetics*, 261: 354–363.
171. **Viaux P., 1999** - Une 3 ème voie en grande culture. *Environnement Qualité Rentabilités*. Agridécisions, Paris, 211p.
172. **Vilain M ., 1989** - *La production végétale. Volume 2 : La maîtrise technique de la production. 1ère édition*, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 361p.
173. **Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van De Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. and Zabeau M., 1995** - AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23, p.p. 4407- 4414.
174. **Walton C., Handley M., Kuvangkilok C., Collins F.H., Harbach R.E., Baimai, V. and Butlin, R.K., 1999** - Identification of five species of the *Anopheles dirus* complex from Thailand using allele-specific polymerase chain reaction. *Medical and Veterinary Entomology*, 13, 24-32.
175. **Wanyera R., Kinyua M.G., Jin Y. and Singh R., 2006** - The spread of stem rust caused by *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, with virulence on *Sr31* in wheat in Eastern Africa. *In: Plant Disease*, 90:113 .
176. **Wei B., Jing R.L., Wang C.S., Chen J.B., Mao X.G ., Chang X.P., Jia J.Z., 2009** - *Dreb 1* genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) : development of functional markers and gene mapping based on SNPs .*Mol Breed* 23 :13-22.
177. **William M., Singh R.P., Huerta-Espino J., Ortiz Islas S., and Hoisington D., 2003**- Molecular Marker Mapping of Leaf Rust Resistance Gene *Lr46* and Its Association with Stripe Rust Resistance Gene *Yr29* in Wheat. *In: Phytopathology*, 93(2):153-159.
178. **William Hm., Hoisington D., Singh R P., Gonzalez L., and Leon D., 1999** - Detection of quantitative trait loci associated with leaf rust resistance in bread wheat. *Genome* 40, p.p. 253-260.
179. **Yang J.C., Zhang J.H., and Wang, Z.Q., 2003** - Involvement of abscisic acid and cytokinins in the senescence and remobilization of carbon reserves in wheat subjected to water stress during grain filling. *Plant. Cell. Environ.*, 26: 1621 - 1631.

180. **Zohary D. and Hopf M., 2000** - *Domestication of plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley*. Oxford University Press.

.

.

.

Annexe1:

- Liste des géotypes de blé tendre étudiés

Géotype	Nom de variété ou lignée
G1	TC*6x/Exchange (RL6004)
G2	Benmabrouk
G3	Hidhab (HD)
G4	Dharwar dry/nesser
G5	Selkirk/6*TC(RL6013)
G6	Pastor
G7	Pavon 76
G8	Marroco
G9	Wbll1*2/tukuru
G10	Babax #1
G11	Anza
G12	Parula
G13	Buck Buck
G14	Compair
G15	Super Kauz
G16	Ain Abid
G17	Stylet
G18	Sahl
G19	Rmada
G20	Daharwar
G21	Yoko
G22	Arz
G23	Annuelot

- Caractéristiques de quelques variétés de blé tendre étudiées (Boufenar-Zaghouane et Zaghouane, 2006)

Variétés	Caractéristiques
ARZ	Résistante à : l'oïdium sur l'épi, rouille jaune, fusariose et la septoriose. Faiblement sensible à : l'oïdium sur les feuilles et la rouille brune
Anza	Résistante à : oïdium sur les feuilles, oïdium sur l'épi, rouille brune, fusariose et septoriose ; moyennement sensible à la rouille jaune.
Rmada	Résistante à : oïdium sur les feuilles, oïdium sur l'épi, rouille brune, rouille jaune, fusariose et septoriose.
Ain Abid	Résistante à : oïdium sur les feuilles, fusariose et septoriose .
Yoko	Bonne qualité technologique, à haut rendement. Sensible aux maladies (rouilles).
Dahrawar	Résistance aux maladies Présence les gènes morphologique
Stylet	Résistance aux maladies Présence les gènes morphologique Présence les gènes de qualité
Annuelot	Résistance aux maladies Présence les gènes phéonlogique Présence les gènes de qualité
Dhawer/Nesser	Résistance aux maladies Taille moyenne , Haut rendement
Hidhab	Résistance à la verse et à la rouille brune Présente des bonnes caractéristiques technologiques

Annexe 2 : Equipement et produits de laboratoire

Verrerie et Petit matériel	Appareil	Solution et produit
-Bicher	-Bain marie	-Eau distillée stérilisée
-Boite pétri	-Centrifugeuse	-CTAB
-Tube Eppandof	-Congélateur	-NaCl
-Eprouvette graduée.	-La hôte	-EDTA
-Entonnoir verre	-Agitateur	-TRIS
-Micropipette	- ph mètre	-Marcrapro éthanol
-Papier absorbant	-Balance	-Chloroforme
- papier filtre	-Spectrophotomètre	-Isopropanol
- Papier aluminium	-Electrophorèse	-Ethanol 70%
-Ciseau	-PCR	-Eau ultra pure
-Pince	-Etuve	-TBE
- Barreaux magnétiques.	-Autoclave	-APS
-Icones	-Appareil à glace	-Master mixe
-Plaque PCR	-Etallomage (pH) basique	-Naoh
-Pot	-Agitateur balance	-Marqueur
	- Réfrigérateur	-BET
	- Lampe ultra-violet	-Acrylamide
		-Alcool

Annexe 3 : Dispositif expérimental des géotypes du blé tendre

B1			B2			B3			B4		
G1	G1	G1	G2	G2	G2	G13	G13	G13	G6	G6	G6
G2	G2	G2	G10	G10	G10	G5	G5	G5	G9	G9	G9
G4	G4	G4	G9	G9	G9	G3	G3	G3	G17	G17	G17
G8	G8	G8	G17	G17	G17	G7	G7	G7	G23	G23	G23
G10	G10	G10	G23	G23	G23	G12	G12	G12	G19	G19	G19
G22	G22	G22	G19	G19	G19	G14	G14	G14	G21	G21	G21
G16	G16	G16	G21	G21	G21	G12	G12	G12	G11	G11	G11
G6	G6	G6	G11	G11	G11	G1	G1	G1	G18	G18	G18
G9	G9	G9	G13	G13	G13	G2	G2	G2	G1	G1	G1
G17	G17	G17	G5	G5	G5	G4	G4	G4	G2	G2	G2
G23	G23	G23	G3	G3	G3	G8	G8	G8	G4	G4	G4
G19	G19	G19	G7	G7	G7	G10	G10	G10	G8	G8	G8
G21	G21	G21	G12	G12	G12	G22	G22	G22	G10	G10	G10
G11	G11	G11	G14	G14	G14	G23	G23	G23	G22	G22	G22
G18	G18	G18	G12	G12	G12	G19	G19	G19	G16	G16	G16
G7	G7	G7	G7	G7	G7	G21	G21	G21	G7	G7	G7
G13	G13	G13	G18	G18	G18	G11	G11	G11	G13	G13	G13
G5	G5	G5	G10	G10	G10	G18	G18	G18	G5	G5	G5
G3	G3	G3	G22	G22	G22	G7	G7	G7	G3	G3	G3
G7	G7	G7	G16	G16	G16	G16	G16	G16	G7	G7	G7
G12	G12	G12	G6	G6	G6	G6	G6	G6	G12	G12	G12
G14	G14	G14	G9	G9	G9	G9	G9	G9	G14	G14	G14
G12	G12	G12	G1	G1	G1	G17	G17	G17	G12	G12	G12

Annexe 4 : Protocol d'extraction d'ADN

Les étapes suivantes se feront sous la hotte (sauf les centrifugations) :

- Pour 100ml de CTAB avec 0.2% μ l de β -mercaptoéthanol et préchauffer la solution dans un bain marie à 65° pendant 10 min.
- Ajouter 700 μ l d'une solution CTAB/ β -mercaptoéthanol dans chaque tube puis agiter manuellement pour homogénéiser la solution après ajouter 700 μ l d'une solution dans chaque tube puis agiter manuellement.
- Incuber pendant une heure à 65 °au bain marie avec agitation chaque 15 min.
- Ajouter 600 μ l chloroforme : alcool isoamylique dans chaque tube et agiter manuellement (par inversement des tubes) pendant 15 min.
- Centrifuger les tubes pendant 15 minutes accélérer la phase de séparation, si nécessaire cette étape est répétée sur le surnageant pour clarifier la phase aqueuse.

Pour les étapes suivantes on ne travaille plus sous hotte

Dans des nouveaux tubes, ajouter 600 µl d'isopropanol.

- Après centrifugation, récupérer la phase aqueuse supérieure sans aspirer l'interphase et la transférer dans des nouveaux tubes puis laisser précipiter au congélateur pendant 1 heure.
- Centrifuger à 13000g à 4°C pendant 10 minutes.
- Eliminer l'isopropanol par retournement lent et progressif du tube sur papier absorbant ; on peut voir apparaître un filament blanc ou un amas correspondant à l'ADN extrait.
- Ajouter 1000 µl d'éthanol 70% dans chaque tube pour rincer le culot.
- Centrifuger à 13000g à 4°C pendant 5 minutes.
- Retourner les tubes afin d'éliminer l'éthanol et récupérer seulement le culot d'ADN qui reste collé au fond du tube. Attention l'ADN peut se détacher du fond du tube et être éliminé avec l'éthanol, on utilise alors la pipette afin d'éliminer l'éthanol sans le culot.
- Laisser sécher les culots obtenus dans la hotte pendant 20min (en laissant les bouchons des tubes ouverts).
- Reprendre le culot d'ADN et ajouter 100 µl de l'eau ultra pure.
- Agiter les échantillons doucement et mettre dans le congélateur.

Annexe 5 : Mode de préparation des solutions

Solution	Mode de préparation
1M Tris-HCl (Ph=8)	Pour 100ml : -Tris base : 12.114g -Compléter par l'eau distillée jusqu'à 100 ml -Ajuster le pH avec le HCl jusqu'à pH=8
5M NaCl	Pour 250ml : -NaCl : 73.05g -Compléter par l'eau distillée jusqu'à 250 ml
0.5M EDTA (Ph=8)	Pour 100ml - EDTA : 18.6g -Compléter par l'eau distillée jusqu'à 100 ml -Ajuster le PH avec le NaOH jusqu'à pH=8
CTAB	Pour 100ml : -EDTA : 4ml -NaCl : 28ml -Tris : 10ml -CTAB : 2g -Compléter par l'eau distillée jusqu'à 100 ml
TBE x5	Pour 1L : -Acide borique : 27.5g -Tris base : 54g -EDTA (pH=8) :20ml -Compléter par l'eau distillée jusqu'à 1L
NAOH	-NAOH : 40g -L'eau distillée : 1L
APS 10%	-Ammonium persulfate : 1g -L'eau distillée : 10ml
BET	-pour 1L -Bromure d'éthidium(10lg/ml) :100 µL -Eau distillée : 1L

Annexe 6 :Préparation de gel

- **Gel d'Agarose 1%**
 - **Pour grande cuve :**
 - Agarose : 3g
 - TBE x5 :30ml
 - Compléter par l'eau distillée jusqu'à 300ml.
- **Gel d'Agarose 3%**
 - **Pour grande cuve**
 - Agarose : 9g
 - TBE x5 :30ml
 - Compléter par l'eau distillée jusqu'à 300ml.
- **Gel d'acrylamide 30%**
 - Acrylamide 30%:40ml
 - TBE x5: 20ml
 - APS: 700µl
 - TEMAD:40µl
 - Compléter par l'eau distillée jusqu'à 100ml.

Annexe 7 : Protocol de préparation de gel d'agarose

L'électrophorèse d'ADN est constituée de cinq étapes importantes :

1) Préparation du gel d'agarose

Le gel est constitué de 1.08g d'agarose et 18ml d'un tampon TBE (5×) puis compléter jusqu'un 100 ml d'eau distillée. En fonction des cuves à électrophorèse, il faut environ 50ml de solution par gel à constituer.

Porter à ébullition la solution aux micro-ondes à 1000W jusqu'à ce que celle-ci soit transparente et sans grumeaux (2 à 3 minutes), refroidir le gel.

Pour cela mettre en place le moule et le peigne puis y couler l'agarose fondu pour obtenir un gel d'environ 5mm d'épaisseur(le moule est en plastique transparent qui possède généralement des côtés en caoutchouc détachablespour démouler le gel. Il est fourni avec un peigne qui permet de constituer les puits du gel).Laisser ensuite refroidir jusqu'à solidification. Laisser le peigne en place jusqu'au début du dépôt ADN.

Au moment du dépôt ADN, enlever le peigne et placer le gel dans la cuve à électrophorèse avec son support en veillant à ce que les puits du gel soient orientés du côté de l'électrode négative de la cuve (borne noire).

2) Dépôt de l'ADN dans les puits

Remplir la cuve de tampon TBE1x jusqu'à recouvrir légèrement le gel. Les fragments d'ADN sont mélangés avec du bleu d'agarose (10 µL d'ADN +5 µL de bleu d'agarose). Le bleu d'agarose permet d'alourdir l'ADN pour qu'il tombe bien au fond des puits lors des dépôts et de suivre l'avancée de la migration car un de ses constituants (le bleu) marque le front de migration des plus petits morceaux d'ADN.

Déposer à l'aide d'une micropipette 7 µL d'ADN au fond de chaque puits (le volume peut varier selon le nombre de puits, les kits et l'épaisseur des gels). Les échantillons sont également déposés ainsi qu'un marqueur de taille avec des fragments d'ADN de taille connue.

3) Migration

Fermer le couvercle de la cuve. Brancher la cuve au générateur et le générateur à la prise de courant. Préférer un réglage de la tension à 70V.

En utilisant un voltage plus élevé, la séparation des bandes lors de la révélation sera moins nette. Plus la tension est élevée et plus la migration est rapide mais elle devient moins précise. La durée de migration est proportionnelle à l'épaisseur du gel et à la quantité de tampon dans la cuve (compter entre ¾ heure et 1h30).

4) Coloration

Retirer délicatement le gel de la cuve et le placer dans un récipient, rincer le gel à l'eau distillée. Recouvrir le gel de solution BET et laisser le gel dans ce bain de colorant pendant 30 minutes placer sur Agitateur balance, afin d'homogénéiser la coloration, puis décolorer le gel. Rincage le gel dans un bain d'eau ou bien à l'eau courante sous le robinet et ils seront prêts à la lecture.

5) Observation

Placer le gel sur unelampe UV Trans-illuminateur pour une observation par la classe entière.

Annexe 8 : Dilution de TBE x5

- Pour l'électrophorèse, on a besoin du TBE X0.5 donc on va diluer le TBE X5 déjà préparé

$$C1V1=C2V2$$

$$V1= C2V2/C1$$

$$V1=0.5 \times 4000/5$$

$$V1= 400ml$$

Donc pour 4L de TBE 0.5× on prend 400ml du TBE plus compléter avec 3600ml d'H₂O distillée et autoclave.

- Pour l'électrophorèse on a besoin du TBE X 1 donc on va diluer le TBE X5.

$$C1V1=C2V2$$

$$V1= C2V2/C1$$

$$V1=1 \times 1000/5$$

$$V1= 200ml$$

Donc pour 1L de TBE 1× on prend 200ml du TBE plus compléter avec 3600ml d'H₂O distillée.

Annexe 9: Les analyses statistiques

Tableau 1 : Hauteur de tige

Source de variation	DL	SCE	Cm	F	P	Signification	cv%
Bloc	3	1281.60	427.20	5.88			
variété	22	3314.08	150.64	2.07	0.012	H.S	7.5
résiduel	66	4796.59	72.68				
total	91	9392.27					

Tableau 2 : Longueur d'épi

Source de variation	DLL	SCE	Cm	F	P	Signification	cv%
Bloc	3	4.467	1.489	0.82			
5variété	22	243.717	11.078	6.08	<.001	T.H.S	2.5
résiduel	66	120.283	1.822				
total	91	368.467					

Tableau 3 : Nombre de talle par plante

Source de variation	DLL	SCE	Cm	F	P	Signification	cv%
bloc	3	1.8587	0.6196	1.42			
Bloc-variété	22	22.9748	1.0425	2.38	0.004	T.H.S	10.1
residuel	66	28.8913	0.4377				
total	91	53.6848					

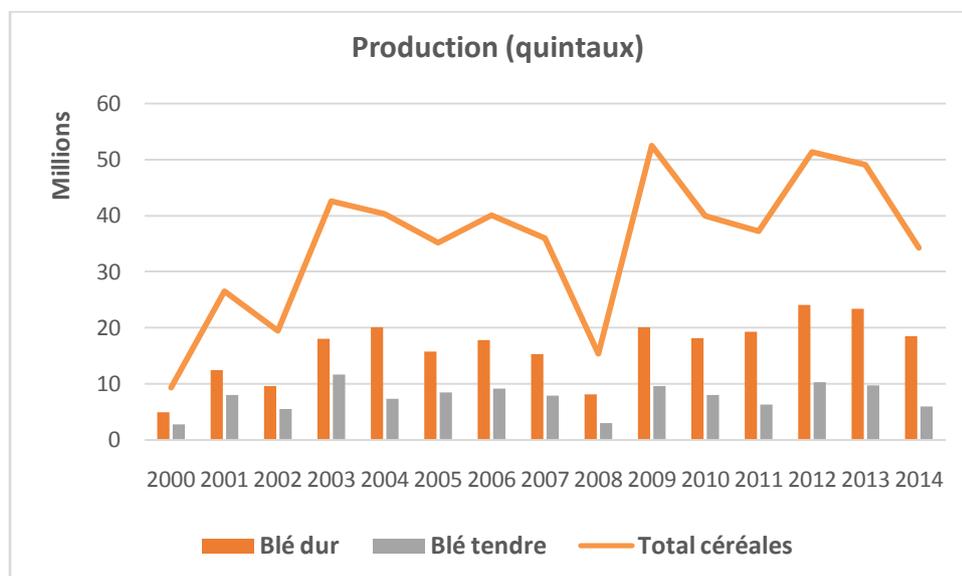
Tableau 4 : Nombre de grains par épi

Source de variation	DLL	SCE	Cm	F	P	Signification	cv%
bloc	3	1330.2	443.4	2.93			
Bloc-variété	22	6517.2	296.2	1.96	0.019	H.S	14.5
résiduel	66	9977.3	151.2				
total	91	17824.7					

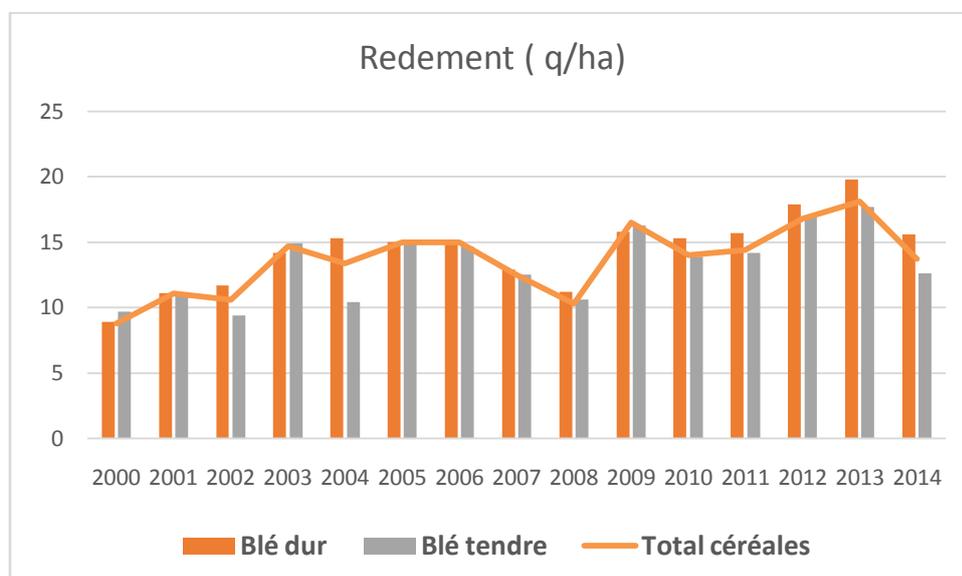
Tableau 5 : Poids de milles graines

Source de variation	DLL	SCE	Cm	F	P	Signification	cv%
bloc	3	281.5	93.8	0.70			
Bloc-variété	22	13193.5	599.7	4.45	<.001	T.H.S	4.6
résiduel	66	8893.5	134.7				
total	91	22368.5					

Annexe 10 : Production du blé tendre en Algérie



Annexe 12 Rendement du blé tendre en Algérie



Annexe 12 :Fiche technique de la culture du blé tendre**La culture du blé tendre (ITGC, 2006)**

Espèce : *Triticum aestivum*

Famille : Graminées

Genre : Triticum

Français : Blé tendre

Anglais : Bread wheat

Arabe : قمح لين

Le blé tendre, céréale d'hiver, est l'espèce la plus importante des blés cultivés dans le monde. En Algérie, le blé tendre est cultivé annuellement sur des superficies importantes.

Les grains de blé tendre sont destinés à la meunerie, pour la production de la farine panifiable, utilisée dans la boulangerie.

1. Exigences de blé tendre**• Température**

Le blé tendre est une espèce des climats tempérés qui s'adapte aux hautes altitudes. La température optimale de germination se situe entre 12 et 20°C. Le zéro de végétation est compris entre 3 et 4°C. Il est sensible aux basses températures, notamment les gelées printanières qui provoquent la coulure des fleurs. Les hautes températures (vents chauds), qui coïncident avec le remplissage du grain, provoquent l'échaudage, ce qui réduit le rendement et affecte la qualité de la récolte.

• Eau

L'eau peut constituer un facteur limitant de la croissance du blé, dès la germination. Sa culture convient au niveau des zones dont la pluviométrie est comprise entre 400 et 600 mm. Les besoins en eau de la culture augmentent à partir du stade montaison.

- **Sol**

Les sols les plus favorables à la culture de blé tendre sont :

- Les sols limono-argileux, limono-argilo-siliceux ou argilo-calcaire;
- les sols profonds (plus de 30 cm de profondeur);
- les sols suffisamment riches en matières organique et minérale
- les sols meubles en surface, de bonne structure et drainants pour éviter tout développement des maladies;
- les sols capables de maintenir une réserve en eau suffisante pour assurer une bonne alimentation, au moment de l'accumulation des réserves dans le grain.

2. Itinéraire technique

- **Assolement-rotation**

Un bon précédent à blé doit libérer le sol suffisamment tôt afin de permettre une bonne préparation du sol et du semis; laisser une terre propre et débarrassée des graines de mauvaises herbes, améliorer la structure du sol et laisser un sol enrichi en éléments organiques et minéraux.

Les meilleurs précédents du blé sont les cultures nettoyantes et les légumineuses.

Il est préconisé ce qui suit selon les zones agro-climatiques :

- unassolement triennal, au niveau des zones subhumides : légumineuse alimentaire/blé/fourrage
- un assolement biennal, au niveau des zones semi-arides : jachère travaillée/blé ou blé/légumineuse fourragère ou légumineuse alimentaire/blé.

- **Préparation du sol**

Trois opérations sont recommandées pour le travail du sol et sont nécessaires à la préparation d'un bon lit de semences :

- **Le labour** : généralement réalisé en automne, il consiste à retourner la terre sur une profondeur comprise entre 25 et 30 cm, avec une charrue à disques ou à socs permettant l'augmentation des réserves hydriques en profondeur du sol, l'amélioration de la fertilité naturelle du sol par la restitution et l'enfouissement des résidus de récolte et la réduction de l'infestation des adventices ainsi que la diminution de l'évaporation du sol.

En conditions de sol sec, sur sols légers et peu profonds, on utilise le chisel pour remplacer la charrue à socs, travaillant ainsi le sol moyennement.

- **La reprise du labour** : cette opération succède au labour pour compléter la préparation du sol et pour diminuer le volume des mottes laissées par le labour. Elle permet aussi de mélanger les débris végétaux sur une profondeur comprise entre 10 et 15 cm. Les outils utilisés sont le pulvériseur (cover-crop) ou le cultivateur à dents. Ce dernier est préconisé en sols secs et sur sols peu profonds afin de limiter l'émiettement excessif du sol et l'érosion.
- **Les façons superficielles** : réalisées avec une herse (à cages roulantes ou à lames), elles permettent un affinement et un nivellement adéquat du lit de semences.

- **Fumure de fond**

Apporter au moment de la préparation du sol, 50 unités/ha de potassium (1 ql/ha de sulfate de potasse) et 92 unités/ha de phosphore (2 qx/ha de TSP 46%) en zone sub-humide et 46 unités/ha de phosphore (1 ql/ha de TSP 46%) avec 50 unités/ha de potassium, en zone semi-aride.

- **Semis**

Période de semis : le semis est effectué de la mi-novembre à la mi-décembre.

Densité de semis : la densité de semis du blé tendre est comprise entre 300 et 350 grains/m², ce qui équivaut à une dose de 100 à 130 Kg/ha, en fonction du poids de milles grains (PMG) et de la faculté germinative de la variété utilisée.

- **Mode de semis** : il est recommandé le semis en lignes avec un semoir mécanique, préalablement réglé.
- **Profondeur de semis** : elle est de 2 à 4 cm, en conditions optimales d'humidité et elle peut aller jusqu'à 6 cm en conditions sèches.

- **Roulage**

Après le semis et en conditions sèches, il est préconisé d'effectuer un roulage en utilisant un rouleau croskill ou lisse pour assurer un bon contact de la graine avec le sol. Il est déconseillé d'effectuer le roulage, en conditions humides.

- **Fertilisation azotée**

L'apport de l'azote est raisonné en fonction de la pluviométrie, du précédent cultural et de la variété cultivée. Il faut apporter :

- 46 unités/ha d'azote (1ql/ha d'urée 46%), en zone semi-aride ;
- 92 unités/ha d'azote (2 qx/ha d'urée 46%), en zone sub-humide, à fractionner en 1/3 au semis et 2/3 au stade plein tallage (épis 1 cm).

- **Désherbage**

Les mauvaises herbes sont des plantes qui concurrencent le blé et elles peuvent réduire son rendement de 30% et plus. Elles appartiennent à deux groupes :

1. Les monocotylédones : la folle avoine, le ray-grass, le Phalaris, l'orge des rats, le brome, le chiendent, etc.
2. Les dicotylédones : la moutarde des champs, l'oxalis, le papaver, le chardon, le faux fenouil, etc.

Il existe deux méthodes de lutte contre les mauvaises herbes :

1. La lutte mécanique qui par diverses façons culturales contribue à détruire les mauvaises herbes et à réduire le stock de leurs semences dans le sol.
2. La lutte chimique qui consiste à détruire les adventices par l'application d'herbicides anti-monocotylédones, anti-dicotylédones ou polyvalents. La période optimale d'intervention chimique efficace est le stade 3-4 feuilles des adventices. L'application des herbicides est raisonnée, en fonction de l'espèce et du taux d'infestation observé.

La lutte chimique doit être effectuée, en respectant les conditions suivantes :

- Choix de l'herbicide en fonction du type d'adventice à combattre, de la plante cultivée et du taux d'infestation.
- Respect des conditions d'emploi : application de la dose prescrite, réglage du pulvérisateur et tenir compte des conditions climatiques (vent, température, humidité).

Contrôle des maladies et ravageurs

Les ennemis des cultures de blé sont divers et peuvent intervenir en végétation, à l'épiaison ou au cours du stockage des grains. Les maladies et ravageurs les plus courants sont les suivants :

- Maladies cryptogamiques : la septoriose (*Septoria tritici*), la rouille jaune (*Puccinia striiformis*), la rouille brune (*Puccinia triticina*), la rouille noire (*Puccinia graminis fsp. Tritici*), le charbon nu (*Ustilago tritici*, *Ustilago nuda*), la carie (*Tilletia caries*), tache helminthosporienne (*Pyrenophora tritici-repentis*), jaunisse nanisante (Barley Yellow Dwarf Virus), etc.
- Insectes : les criocères, les larves du hanneton ou vers blancs, la mouche de Hesse, la punaise, la tordeuse des céréales, la mouche grise, des chaumes, etc.

Pour le contrôle de ces maladies et ravageurs, il existe deux alternatives :

1- La lutte mécanique qui est un moyen préventif par l'application de certaines techniques culturales, telles que :

- Eviter la pratique de la monoculture (céréale sur céréale) et adopter plutôt une rotation de cultures bien raisonnée;
- Effectuer le travail du sol et le déchaumage pour la destruction des œufs, des spores parasites et des mauvaises herbes qui sont des foyers de parasites ;
- Utiliser des variétés résistantes ou tolérantes ;
- éviter les semis denses ;
- éviter les fumures azotées excessives ;
- éviter les sols mal drainés.

2-La lutte chimique qui consiste en l'utilisation de produits fongicides et/ou insecticides appropriés, en végétation ou en traitement de semences (contre la carie et le charbon).

- **Irrigation**

Le recours à l'irrigation d'appoint devient impératif, afin de palier à un éventuel déficit hydrique. En cas d'hiver sec, il est préconisé l'apport de 20 mm d'eau à chacun des stades levée, tallage et plein tallage.

En cas de printemps sec, apport de 20 mm à la montaison, 40 mm à l'épiaison, 60 mm à la floraison et 60 mm à la formation du grain.

Les fréquences d'irrigation dépendent de la texture du sol, réduire ces fréquences en sol lourd et les augmenter en sol léger.

- **Récolte**

Il faut récolter en combinant stade optimum de maturité, avec une humidité du grain entre 13 et 15% et un bon réglage de la moissonneuse-batteuse. La pleine maturité est atteinte lorsque :

- la paille et l'épi ont une couleur jaunâtre .
- les graines se détachent facilement et se cassent sous la dent .
- la tige ne se plie pas mais se casse facilement.

- **Utilisation**

Le blé tendre est principalement utilisé, pour l'alimentation humaine (en farine mais aussi en grain) et pour l'alimentation animale (paille).

Le grain de blé tendre, transformé en farine, est utilisé principalement en boulangerie, pour la fabrication du pain et en pâtisserie, pour la fabrication des gâteaux et des biscuits.

Du point de vue technologique, on distingue les blés vitreux (hard wheat), riches en protéines et à albumen résistant, ce qui facilite leur broyage, par opposition aux blés farineux (soft wheat).

Parmi les blés vitreux, on trouve les blés de force (strong wheat) dont l'abondance et la qualité du gluten déterminent une forte absorption d'eau et une élasticité élevée de la pâte, favorable à la rétention de gaz ; à l'opposé, les blés faibles (weat wheat) sont plus pauvres en protéines, et se prêtent bien à l'utilisation en biscuiterie et en pâtisserie.

Les farines industrielles combinent des blés différents pour obtenir des farines de qualités régulière.

Les sous-produits du blé tendre sont utilisés en pharmacie, en industrie, pour la fabrication de biocarburant « éthanol ».