

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABOU BEKER BELKAÏD – TLEMÇEN

Faculté des sciences de la nature et de la vie, et de la terre et de l'univers

Département d'Agronomie



THÈSE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN AGRONOMIE

OPTION : **AMÉLIORATION DE LA PRODUCTION VÉGÉTALE ET BIODIVERSITÉ**

INTITULÉ :

Caractérisation génétique de la diversité du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) au niveau de l'Oranie

Présenté par : M^{me} BOURI Amina

Devant la commission du jury :

Président : GHEZLAOUI Bahaa Eddine

Prof. Université de Tlemcen

Rapporteur : GAOUAR Semir Bechir Souheil

Prof. Université de Tlemcen

Examineur : BENMAHIOUL Benamer

Prof. Université de Tlemcen

Examineur : MEHDADI Zoheir

Prof. Université de Sidi Bel Abbès

Examineur : HADDAD Mostéfa

MCA. Université de Sidi Bel Abbès

Année universitaire : 2019-2020

Dédicace :

A la mémoire de ma grande mère.

A la mémoire de mon Oncle.

A mes parents à qui je dois tout.

A mon mari.

A ma fille.

A tous les membres de ma famille.

A tous mes amis (es).

Remercîments :

Au terme de ce travail, je tiens en premier lieu à présenter mes Sincères remerciements à monsieur GAOUAR Semir Bachir, Souheil Professeur à l'université ABOU BEKER BELKAID de Tlemcen. Pour Avoir accepté de diriger ce travail et pour m'avoir constamment conseillé.

Je tiens aussi à présenter mes remerciements à monsieur : GHEZLAOUI Bahaa Eddine Professeur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de La Terre et de l'Univers, université ABOU BEKER BELKAID de Tlemcen pour avoir accepté de présider mon jury.

Monsieur BENMAHIOUL Benameur, Professeur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de La Terre et de l'Univers, université ABOU BEKER BELKAID de Tlemcen, Mr MEHDADI Zoheir Professeur à l'université de Sidi Bel Abbes ainsi que Monsieur HADDAD Mostéfa ; Maitre de conférence «A » à l'université de Sidi Bel Abbes pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à Mr BABA Ahmed Djawed, Mr MEDIOUNI Mohammed Rida et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

التشخيص الجيني لتنوع الحمص في منطقة وهران.

تهدف هذه الدراسة إلى توصيف مجموعة من 10 جينية من محصول الحمص عبر منطقة الدراسة المتمثلة في منطقة وهران أنتج هذا التحليل 59 أليل ، بمعدل ثلاثة أليلات لكل علامة. 20 زوجًا من الميكروساتليت من نوع تكرار تسلسل واحد. يتراوح مؤشر التنوع الجيني من 0.32 إلى 0.78 بينما تتراوح قيم محتوى التعدد الجيني بين 0.27 إلى 0.74. هذا يشير إلى وجود تنوع جيني في، الميكروساتليت و يكشف عن مستوى معتدل من التنوع الوراثي في مجال المادة الوراثية .

اوضح التحليل التطوري أن العناصر التي تمت دراستها قد تم تجميعها وفقًا مما يشير إلى وجود تأثير للمنشأ في عملية التنسيق الخاصة بهم، ونوع الحمص الذي يرتبط أيضًا بالأصل الجغرافي.

الكلمات المفتاحية

الميكروساتليت، الجيني، منطقة وهران.

Résumé:

Caractérisation génétique de la diversité du pois chiche “*Cicer arietinum* L.)” au niveau de l’Oranie.

La présente étude vise à caractériser un ensemble de 10 accessions de pois chiches récoltées (*Cicer arietinum* L.) à travers la zone d’étude “Oranie”, en utilisant 20 couples de marqueurs SSR (Single Sequence Repeat). Cette analyse a produit 59 allèles, avec une moyenne de trois allèles par marqueur. L’indice de diversité génétique des microsatellites (H) varie de 0,32 pour le TA22 à 0,78 pour le TA72 et le TA117, avec une moyenne de 0,66. Les valeurs du contenu de l’information du polymorphe (PIC) vont de 0,27 à 0,74. Ceci suggère la présence d’un polymorphisme considérable au niveau des loci microsatellites étudiés et révèle un niveau modéré de diversité génétique au niveau du matériel génétique de pois chiche existant sur terrain.

L’analyse phylogénétique (dendrogramme) a montré que les accessions étudiées ont été regroupées en fonction de leur population d’origine, ce qui suggère un effet de provenance dans leur ordination, le type d’accession (Kabuli ou Desi) qui est également liée à l’origine géographique.

Mots clefs: pois chiche, *Cicer arietinum* L., Microsatellite, SSR, diversité génétique, Oranie.

Abstract:

Genetic characterization of the diversity on chickpea “Cicer arietinum. L” in Oranian region.

The present study aims to characterize a set of 10 accessions of chickpeas (*Cicer arietinum* L) collected across the study area “Oranian region”, using 20 pairs of SSR (Single Sequence Repeat) markers.

This analysis produced 59 alleles, with an average of three alleles per marker. The genetic diversity index of microsatellites (H) varies from 0.32 for TA22 to 0.78 for TA72 and TA117, with an average of 0.66. The values of the polymorphic information content (PIC) range from 0.27 to 0.74. This suggests the presence of a considerable polymorphism at the level of the microsatellite loci studied and reveals a moderate level of genetic diversity in the field of chickpea genetic material existing in the field.

Phylogenetic analysis (dendogram) showed that the studied accessions were grouped according to their population of origin, which suggests an effect of provenance in their ordination, the type of accession (Kabuli or Desi) which is also linked at the geographical origin.

Keywords: Chickpea, *Cicer arietinum* L., microsatellite, SSR, genetic diversity, Oran region.

ACRONYMES ET ABREVIATIONS :

AAC : agriculture et Agroalimentaire Canada.

ADN : acide désoxyribonucléique.

AFC: Analyse factorielle des composantes.

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism.

APS : persulfate d'ammonium.

BET : bromure d'éthidium.

BNL : bactéries nodulant les légumineuses.

bp : paire de base.

°C : degré Celsius.

C.C.L.S : Coopérative des Céréales et des Légumes Secs.

C : cytosine.

cM : centiMorgan.

CTAB : Cetyl Trimethyl ammonium Bromide.

dATP : désoxy Adénine tri-phosphate.

dCTP : désoxy Cytosine Tri-Phosphate.

dGTP : désoxy Guanine Tri-Phosphate.

dNTP : deoxy Nucleoside Tri-Phosphate.

DSA : Direction des services agricoles.

dTTP : désoxy Thymidine Tri-Phosphate.

EDTA : Ethylene diamine tetra acetic Acid.

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

G : Guanine.

GM : modification génétique (genetic modification).

GC % : pourcentage des bases azotées (guanine et cytosine).

GCRAI : Groupe consultatif pour la recherche agricole internationale.

ha : hectare.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

ICARDA : International Center for Agricultural Research in the Dry Areas.

ICRISTAT : International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropic.

INA : institue nationale agronomique.

INRAA : Institut national de la recherche agronomique d'Algérie.

ITGC : Institut techniques des grandes cultures.

Kg/ha : kilogramme par hectare.

LTR : Long-terminal repeat.

m : mètre.

M : molaire.

m² : mètre carré.

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

Mbp : méga paire de base.

Mg : milligramme.

Mg Cl₂ : chlorure de magnésium.

Min : minute.

ml : millilitre.

μl : microlitre.

MPb : Méga paire de base.

Mt : million de tonne.

NaCl : chlorure de sodium.

NaOH: Sodium Hydroxide .

ng : nano gramme.

ng/μL : nano gramme/ microlitre.

OAIC : office Algérien interprofessionnel des céréales.

Pb : paire de base.

Pcg : poids de cent graines.

PCoA: Analyse en composantes principales .

PCR : amplification en chaîne par polymérase (polymerase chain reaction).

pH: potentiel hydrogène.

PIC : Contenu de l'information du polymorphisme (polymorphism information content).

Pmol : picomole.

PNDAR : Plan Nationale du Développement Agricole et Rural.

PNUD : Programme des Nations Unies pour le développement.

Prod : production.

Qx: quintaux.

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA.

Rdt : rendement.

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism.

RPGAA : Ressources Phytogénétiques pour l'alimentation et L'agriculture.

Rpm : révolution par minute.

Sec : seconde.

SNP : single-nucleotide polymorphism.

SSR : Simple Sequence Repeat.

STMS : sequence tagged microsatellite site.

Sup : superficie.

T : thymine.

t : tonne.

t/ha : tonne par hectare.

TAS : Taux d'Autosuffisance Alimentaire.

Taq : Thermus aquaticus.

TBE : Tampon Tris-Borate-EDTA.

TEMED : Tetra Methyl Ethylene Diamine.

Trs/min : tour par minute.

UI : unité internationale (1UI=2/3mg).

UPGMA : Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean.

USDA : United States Department of Agriculture, USDA).

UV : ultra-violet.

V : volt.

LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES :

TABLEAUX :

Tableau n°1 : Les principaux pays producteurs de pois chiche	08
Tableau n°2 : Périodes indicatives de semis du pois chiche	16
Tableau n°3 : mauvaises herbes du pois chiche rencontrés en Algérie	20
Tableau n° 4 : Variétés botaniques constituant l'espèce <i>Cicer arietinum</i> L. en Algérie	21
Tableau n°5 : Variétés sélectionnées et recommandées pour la culture en Algérie en 1956	22
Tableau n°6 : teneur en protéine, lipides, somme des acides aminés de quelques cultivars Algériens	23
Tableau n°7 : caractérisation phénotypiques de six cultivars Algériens de <i>Cicer arietinum</i> L.	23
Tableau n°8 : Caractéristiques des principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie	25
Tableau n°9 : Accessions de pois chiche récoltées	53
Tableau n°10 : Pureté d'un échantillon d'ADN	60
Tableau n°11 : composition du mélange réactionnel de l'amplification selon la technique SSR	64
Tableau n°12 : paramètres de diversité génétique obtenus après l'analyse de 10 génotypes de pois chiche par 15 loci SSR.	77
Tableau n° 13 : Distance génétique entre les 10 accessions étudiées	85

FIGURES :

Figure n°1 : Aire d'origine des principales plantes cultivées.	09
Figure n°2 : Place de pois chiche parmi les légumineuses alimentaires cultivées en Algérie	13
Figure n°3 : Evolution des superficies et des productions du pois chiche en Algérie.	14
Figure n°4 : Zones d'aptitude de la culture du pois chiche en Algérie	15
Figure n°5 : Symptômes et dégâts d'anthracnose sur la gousse, la feuille, la tige et les graines du pois chiche	18
Figure n°6 : Plantes de pois chiche desséchée causée par le Wilt..	19
Figure n°7 : le pois chiche: <i>Cicer arietinum</i> , Tige feuillue (A), feuille composée de 16 folioles (B), fleurs zygomorphe(C), étamines, pistil et ovaire (D), gousses en développement (E), graines (F).	27
Figure n°8 : plante entière modèle du pois chiche.	27
Figure n°9 : forme et aspect des graines de pois chiches <i>cicer arietinum</i> .L	28

Figure n°10 : Types de cultivars de pois chiche	29
Figure n°11 : marqueur AFLP.	43
Figure n°12 : marqueur RFLP	44
Figure n°13 : technique RFLP	44
Figure n°14 : marqueurs RAPD	45
Figure n° 15 : Etapes de la technique SSR	48
Figure n°16: la technique d'amplification de fragment d'ADN par PCR	51
Figure n° 17 : Aire d'étude et de prospection	52
Figure n°18: Photo des graines des accessions de pois chiche récoltées	55
Figure n°19 : Etapes d'extraction de l'ADN à partir des feuilles, suivant la technique CTAB 2X	58
Figure n°20 : le spectre d'absorption caractéristique d'ADN pur	60
Figure n°21 : étapes de Test de qualité par électrophorèse en gel d'agarose (1.2%)	63
Figure n°22 : Thermocycleur utilisé dans la PCR	65
Figure n° 23 : Analyse sur gel de polacrylamide, montage, coloration au BET et lecture sous UV	70
Figure n°24 : Profil électrophorétique d'ADN total extrait à partir de 10 accessions de pois chiche sur gel d'agarose. (1.2%).	75
Figure n°25 : nombre d'allèles par marqueur (Na)	79
Figure n°26 : fréquence de l'allèle majeur par SSR	79
Figure n°27 : paramètre du modèles alléliques.	80
Figure n°28 : : taux d'hétérozygotie (He)	83
Figure n°29 : taux de l'hétérozygotie non biaisée (Hnb)	83
Figure n°30 : L'index d'information de Shannon (I)	82
Figure n°31 : l'indice de diversité génétique H	83
Figure n°32 : Contenu de l'information du polymorphisme (PIC)	84
Figure n°33 : Dendrogramme montrant la relation entre 10 accessions de pois chiche	87
Figure n°34 : classification des 10 accessions de pois chiche par l'analyse des coordonnées principales (PCoA).	88
Figure n°35 : Analyse factorielle de la correspondance (AFC) dérivée de 15 loci SSR sur 10 accessions de pois chiche.	89

PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**CHAPITRE 1 : POIS CHICHE DANS LE MONDE**

I.	La production mondiale des légumineuses alimentaires	5
	I.1 Les principaux exportateurs de légumineuses dans le monde	5
	I.2 Les principales légumineuses cultivées dans le monde	5
	I.3 La consommation mondiale de légumineuses	5
	I.3.1 La consommation de légumineuses par habitant	6
	I.3.2 Les légumineuses et les substituts de viande	6
	I.3.3 Une production en hausse	6
II.	Superficie et production mondiale du pois chiche	6
III.	Origine et répartition géographique	9
IV.	Importance de la culture des pois chiches	10
	IV.1 Importance économique	10
	IV.2 Importance alimentaire	10
	IV.3 Importance agronomique	11

CHAPITRE 2 : CULTURE DES POIS CHICHES EN ALGERIE

I.	Aperçu sur la situation de la culture	13
II.	Répartition et Zones de culture du pois chiche	14
III.	Conduite de culture	15
	III.1 Mode et doses de semis	15
	III.2 Préparation du sol	15
	III.3 Période de semis	16
	III.4 Rotation/assolement	16
	III.5 Récolte	17
IV.	Ennemies de la culture en Algérie	18
	IV.1 maladies cryptogamiques	18
	IV.2 ravageurs	19
	IV.3 mauvaises herbes	19
V.	Diversité génétique de l'espèce en Algérie	20

VI.	Evaluation des érosions génétiques	24
VII.	Principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie	24

CHAPITRE 3 : ETUDE DE LA PLANTE

I.	Taxonomie et Caractéristiques botaniques	26
	I.1 Taxonomie	26
	I.2 Caractères botaniques	26
II.	Types de pois chiche	28
	II.1 Type kabuli	28
	II.2 Type Desi	28
	II.3 Type Gulabi	29
III.	Exigences édapho-climatiques de la culture	30
	VI.1 Exigences édaphiques	30
	VI.2 Exigences climatiques	30
	VI.2.1 Température	30
	VI.2.2 Eau	30
IV.	Types de culture de pois chiche	31
	IV.1 Pois chiche de printemps	31
	IV.2 Pois chiche d'hiver	31
V.	Ennemies de la culture	32
	V.1 Maladies cryptogamiques	32
	V.2 Insectes et nématodes	33
	V.3 Ravageurs vertébrés	33
	V.4 Accidents climatiques	34
	V.5 Mauvaises herbes	34
VI.	Composantes du rendement	34

CHAPITRE 4 : GENETIQUE DU POIS CHICHE

I.	Génétique de l'espèce	35
	I.1 Séquençage du génome de pois chiche	35
	I.2 Organisation du génome et évolution	35
	I.3 Utilité des flux de gènes pour l'amélioration des plantes cultivée	35

I.4 Impact de la culture sur la diversité génétique	36
I..5 Ressources génétiques	36
II. Amélioration génétique du pois chiche	37
II.1 Travaux réalisés en amélioration génétique	37
II.1.1 Exemple : L'amélioration de la résistance à l'ascochytose	39
II.2 Outil pour l'amélioration génétique du pois chiche	39
II.2.1 Polymorphisme de la plante	40
II.2.2 Marqueurs génétiques	40
II.2.2.1 Marqueurs morphologiques	41
II.2.2.2 Marqueurs biochimique	41
II.2.2.3 Marqueurs moléculaires	41
II.2.2.3.1 Les marqueurs moléculaires comme outil d'aide aux programmes de sélection	42
a. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	42
b. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)	43
c. RAPD (Random-Amplified Polymorphic DNA)	45
d. Marqueurs STMS (sequence tagged microsatellitesite)	46
e. Marqueurs SSR (Simple Sequence Repeat, SSR)	46
f. Techniques de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	48

PARTIE II : EXPERIMENTATION

CHAPITRE 5 : MATERIELS ET METHODES

I. Objectifs du travail	52
II. Matériels végétal et site de collecte	52
III. Mise en place du semis	55
IV. Analyse moléculaire	56
IV.1 Extraction d'ADN	56
IV.2 Analyse de pureté	59
IV.2.1 Test de qualité par électrophorèse en gel d'agarose	61
IV.3 Réaction de Polymérisation en Chaîne ou PCR	64
IV 3.1 Amplification des ADN	64
IV.3.2 Test d'amplification de l'ADN cible par SSR	65

IV.4 Electrophorèse sur gel de polyacrylamide	66
Iv.4.1 Utilisation	66
Iv.4.2 composition	66
Iv.4.3. Préparation du gel	66
Iv.4.4. Dépôt des échantillons et migration	67
IV.4.5 Révélation du gel	67
IV .5 Révélation des profils électrophorétiques	67
V. Analyse statistiques des données	69
V.1.Calcul des fréquences alléliques	69
V.2 Calcul du taux d'hétérozygotie théorique (He)	70
V.3 Calcul du taux d'hétérozygotie non biaisé (Hnb)	70
V .4 Calcul de l'indice de la diversité génétique (H)	71
V.5 Calcul de l'information du contenu du polymorphisme (PIC)	71
V 6. Calcul des distances génétiques	71
V.7 Dendrogramme phylogénétique	72
V.8 L'analyse en composantes principales (pcoa) et l'analyse factorielle des correspondances (AFC)	72

CHAPITRE 6 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Résultats des prospections sur terrain	73
II. Matériels végétale collectés et constatation	73
III. Analyse moléculaire	74
III.1 Extraction de l'ADN génomique et test de qualité	74
III.2 Amplification d'ADN par PCR	75
IV. Analyse statistique des données	76
IV. 1 Paramètres de diversité génétique	77
IV.1.1 Fréquences alléliques	78
IV.1.2 Le taux d'hétérozygotie théorique (He) et Le taux d'hétérozygotie non biaisé (Hnb)	80
IV.1.3 L'index d'information de Shannon (I)	81
IV.1.4 l'indice de diversité génétique (H)	82
IV.1.5 Indice PIC (Contenue d'information du polymorphisme)	83

SOMMAIRE

IV.2 Distance génétique et dendrogramme	84
IV.3 Analyse en composantes principales (PCoA)	87
IV.4 Analyses factorielle de la correspondance (AFC)	88

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	90
-----------------------------------	-----------

Références bibliographiques	93
------------------------------------	-----------

Annexes.

INTRODUCTION

Les légumineuses alimentaires sont parmi les cultures vivrières les plus cultivées par l'homme. Elles constituent une importante source protéique et se présentent comme un substitut aux protéines animales, disponibles à travers les viandes rouges et blanches qui sont difficilement accessibles à de larges couches de la population. Les Légumineuses sont cultivées pour leur capacité à fixer l'azote atmosphérique et pour rompre les successions céréalières préjudiciables aux rendements et aux productions à travers les assolements (Hamadache et *al.*,1997).

Sur le plan agronomique, la présence des légumineuses dans les systèmes de culture est une opportunité pour améliorer la fertilité des sols et les rendements des cultures. L'intérêt des légumineuses est directement lié à la capacité d'établir une association symbiotique spécifique avec des bactéries nodulant les légumineuses (BNL) (Moulin, 2002), où leur importance est due entre autres à leur contribution, à la fixation annuelle d'environ 65 millions de tonnes d'azote atmosphérique intégrés dans la biosphère (Graham et Vance , 2003), et leur capacité d'adaptation à des conditions pédoclimatiques difficiles, ainsi que leur faible exigence culturale. Du point de vue nutritionnel, la richesse des légumineuses en protéines permet de corriger dans une certaine mesure les carences en protéines animales, ainsi que le déséquilibre alimentaire des populations qui ont tendance à se nourrir exclusivement de céréales.

En Algérie La culture des légumineuses alimentaires a fait partie de nos systèmes agraires depuis très longtemps dans différentes zones agro-écologiques du pays. Actuellement la production nationale ne couvre pas les besoins internes du pays et l'État à recours à des importations. Ainsi, 1.800.000 quintaux de légumineuses alimentaires sont importées chaque années ce qui équivaut

123 millions de dollars (FAO, 2006).

La culture du pois chiche constitue une composante importante dans les systèmes de production en Algérie, Dans les régions semi-arides du bassin méditerranéen où les ressources en eau sont en constante régression, les agriculteurs se rendent compte, de plus en plus, du rôle appréciable que joue cette espèce dans la fertilisation organique du sol, surtout, et dans le système de l'agriculture durable.

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L), est considéré comme l'une des plus principales légumineuses à graine dans notre pays dont le type cultivé est Kabuli, occupant la deuxième position après la fève. La majeure partie des superficies cultivées de cette espèce sont concentrée à l'Ouest du pays. Cette espèce est cultivée sur une superficie annuelle moyenne de 33 mille ha soit 36.78% de la superficie des légumineuses à graines. La production, est caractérisée par des fluctuations interannuelles, de l'ordre de 351 mille quintaux en moyenne avec un rendement moyen de 10 q/ha (MADR, 2014). La production de pois chiche en Algérie est très faible et le taux d'autosuffisance alimentaire (TAS) ne représente que 27.7%) (MADR, 2014).

Durant la période coloniale plusieurs travaux d'inventaires, de caractérisation et d'amélioration ont été entrepris sur les cultivars locaux et ont montré que les souches tirées des populations locales sont plus intéressantes (précocité, productivité, résistance...) que les variétés d'introduction (surtout européennes) mais avec le temps aucune collection n'a pu être entreprise ou conservée.

Beaucoup de cultivars locaux ont disparu et cette perte a été compensée en partie par des introductions de variétés étrangères. Ces efforts d'intensification et de l'introduction de variétés étrangères n'ont souvent pas permis d'atteindre les résultats escomptés. Les variétés introduites et dites à haut potentiel de production n'ont souvent pas été cultivées selon les normes ; en outre, les contraintes climatiques ont réduit leur impact au niveau de la production. Par ailleurs, ces introductions ont entraîné le délaissement et la perte de nos ressources génétiques adaptées.

Cependant, si dans un passé récent, l'Algérie avait une trentaine de variétés, actuellement les cultivars locaux ne semblent exister que dans quelques régions reculées et les seuls travaux qui traitent de la diversité de quelques légumineuses alimentaires en Algérie sont ceux réalisés par Laumont et Chevassus (1956) (Abdelguerfi, Laouar *et al.*, 2001).

Les conséquences des efforts d'intensification de la culture du pois chiche par le biais de l'importation de variétés étrangères et le délaissement de nos populations locales de pois chiche ont conduit à la perte de la variabilité génétique locale existante. Cette érosion génétique impose la mise en place de programmes de conservation pour une meilleure exploitation des ressources génétiques. Cette conservation nécessite une meilleure connaissance de la variabilité dont on dispose et devra débiter par la collecte et l'évaluation adéquate de ces ressources génétiques ou réellement ce qui reste de nos phyto-ressources, en vue d'éventuelle études d'amélioration génétique.

En effet c'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à l'étude de la diversité génétique de nos ressources en pois chiche. Une prospection et une collecte des accessions de *Cicer arietinum* ont été entamées au niveau de l'Oranie. Les échantillons collectés comportant dix populations différentes ont été à l'origine d'une caractérisation génétique faite à l'aide des marqueurs moléculaires du type SSR. Vingt couples d'amorces SSR ont été utilisés dans le but de révéler les différents paramètres de la mesure de la diversité génétique. Cette action étant un préalable indétournable pour la gestion, la conservation et la préservation de nos ressources génétiques.

Notre thèse s'articule sur deux parties ; une analyse bibliographique comportant quatre chapitres : pois chiche dans le monde, culture des pois chiches en Algérie, étude de la plante et génétique du pois chiche ; la deuxième partie concerne le volet expérimental comportant deux chapitres : matériels et méthodes, résultats et discussions et à la fin conclusion et perspectives.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. La production mondiale des légumineuses alimentaires :

En 2018, la production mondiale de légumineuses, portée par une forte demande en Inde, atteindrait 80 millions de tonnes par an soit 2540 kg avec comme principaux producteurs l'Inde (22 millions de tonnes), le Canada (8 Mt), la Birmanie (6 Mt). Les légumineuses sont de plus en plus consommées dans le cadre de régimes de type végétarien car elles sont une source de protéines végétales qui sert de substitut à la viande (FAO, 2018)

L'Inde est à la fois le plus gros consommateur de légumineuses au monde (30 % de la demande mondiale) et le plus gros producteur avec 25 % du total mondial. Elle joue donc un rôle déterminant sur l'évolution du marché et des prix portés par une demande croissante de produits à base de sources protéiques d'origine non animale (FAO, 2018)

I.1 Les principaux exportateurs de légumineuses dans le monde :

La croissance tendancielle de la consommation bénéficie au premier aux gros exportateurs que sont :

- ✓ le Canada, surtout lentilles et pois sec
- ✓ l'Australie, pois chiches
- ✓ la Birmanie, haricots.

I.2 Les principales légumineuses cultivées dans le monde :

Le marché des légumineuses, du fait du très grand nombre d'espèces cultivées, est un marché très fractionné et donc une grande partie des volumes, cultivés par des petits producteurs pour leur propre consommation, échappe à la comptabilisation des circuits officiels du commerce mondial. À lui seul, le haricot représente un tiers de la production mondiale de légumineuses, le pois chiche 17 % et le pois sec 16 %.

I.3 La consommation mondiale de légumineuses :

Depuis 50 ans, la consommation mondiale de légumineuses connaissait une baisse de consommation aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays développés. La consommation de blé, de soja ou de riz ainsi que de produits laitiers et de viande progressait beaucoup plus vite.

1.3.1 La consommation de légumineuses par habitant :

Selon la FAO, la consommation mondiale moyenne de légumineuses par habitant devrait rester stable dans les années à venir autour de 7 kg par personne et par an. Cependant le déséquilibre entre la demande et la production de légumineuses, poussée par la demande croissante de produits protéiques d'origine végétale redonne des couleurs à ce marché (FAO, 2018).

1.3.2 Les légumineuses et les substituts de viande :

Malgré la demande croissante pour des produits d'origine végétale riche en protéines, les légumineuses ne représentent encore qu'un faible part de la protéine utilisée dans les substituts de viande. Selon les statistiques, en 2018 « les protéines de soja, de blé, d'œufs, de produits laitiers sont majoritaires ». En 2025, les substituts de viande devraient représenter que 2 % de toutes les légumineuses consommées dans le monde (FAO, 2018).

1.3.3 Une production en hausse :

De manière générale, la production mondiale de légumineuses a constamment augmenté. En 2014, la production mondiale a atteint les 77 millions de tonnes, en hausse de 21 millions de tonnes depuis 2001.

Ainsi plusieurs voix se sont élevées pour poursuivre cette dynamique et continuer les activités entreprises après 2016. La FAO continuera donc de travailler avec les principaux protagonistes, tels que les gouvernements ou encore les agriculteurs familiaux, afin de défendre les légumineuses qui se révèlent être de puissantes alliées en vue de réaliser les objectifs de développement durable (FAO, 2017).

II. Superficie et production mondiale du pois chiche :

Le pois chiche possède un rôle important dans l'alimentation humaine. Il est classé en 14^{ème} ordre en ce qui concerne la superficie occupée et vient en 16^{ème} ordre quant à la production mondiale (Knights et al., 2007).

Le pois chiche est cultivé dans 49 pays et dans les 5 continents ce qui le rend la 2^{ème} légume sec dans le monde (17% du total) après le petit pois, il se cultive dans les régions semi-aride et tropicales. (Chakraborti et al, 2006 in Tlemsani M, 2010) En occupe la seconde place avec une superficie de 11,2

millions d'hectares et une production annuelle estimée à 9,2 millions de tonnes et un rendement moyen de 820 kg/ha (AAC, 2006 *in* Ben Mbarek, 2011).

D'après les statistiques de la FAO, la production mondiale annuelle de pois chiche et la superficie récoltée sont restées relativement stables entre 1961 et 2003, la première avoisinant les 7 millions de t et l'autre les 10 millions d'ha. La production en 1999–2003 s'est élevée à 7,9 millions de t par an, sur 10,3 millions d'ha (Brink et *al.*, 2006).

L'Asie est le continent le plus important de la production du pois chiche avec plus 90% de la surface totale et de la production mondiale (Babar et *al.*, 2009). L'Inde représente le plus grand pays producteur avec une production estimée à 6 millions de tonnes par an et recouvre plus de la moitié de la production mondiale (Muehlbauer et Rajesh, 2008).

Le Canada exporte plus de la moitié de sa production, et vise le marché Indien et européen (55% de la récolte type Desi ; 45% Kabuli). La Turquie produit essentiellement des grains de type Kabuli. C'est un gros exportateur mais qui, du point de vue de l'approvisionnement, présente une énorme variabilité de quantité et de qualité. C'est un pays qui, à la vue de sa situation géographique et de sa volonté de participer à l'Union Européenne, peut être un sérieux concurrent, dans une stratégie d'exportation de la France (Tableau 1) (Fabre, 2008).

Dans l'Union Européenne, la production est de l'ordre de 90000 tonnes de pois chiche consommation. Actuellement 90% de la production est destinée à l'alimentation humaine et concerne le type Kabuli. Les importations s'élèvent à 120 000 tonnes dont 9 000 tonnes pour la France. L'Espagne y est le plus gros producteur, mais avec un rendement très faible entre 4 et 7q/ha. (Fabre, 2008).

La production annuelle en Afrique subsaharienne était d'environ 280 000 t sur 430 000 ha, les principaux producteurs étant l'Éthiopie (168 000 t sur 191 000 ha), le Malawi (35 000 t sur 88 000 ha), le Soudan (25 000 t sur 13 000 ha), la Tanzanie (25 000 t sur 63 000 ha) et le Kenya (20 000 t sur 55 000 ha). En Afrique tropicale, la superficie et la production de pois chiche ont connu récemment une augmentation, alors que dans le nord de l'Afrique elles étaient en baisse (Brink et *al.*, 2006).

Les échanges mondiaux de pois chiches sont en régulière progression : ils sont passés de 100 000–150 000 t par an dans les années 1970 à près de 700 000 t par an entre 1998–2002. Les principaux exportateurs en 1998–2002 étaient l'Australie (192 000 t par an), le Mexique (155 000 t), la Turquie (114 000 t), le Canada (85 000 t) et l'Iran (75 000 t). L'Éthiopie a exporté près de 50 000 t en 2002, mais en 1998–2001 les quantités étaient insignifiantes. Les exportations depuis la Tanzanie, qui avoisinaient les 20 000 t en 2002, étaient inférieures à 10 000 t par an en 1998–2001. Pendant cette période, les principaux importateurs étaient l'Inde (183 000 t par an), le Pakistan (98 000 t), l'Espagne

(57 000 t), l'Algérie (43 000 t) et le Bangladesh (40 000 t). Les importations en Afrique subsaharienne ont été très faibles (Brink et *al.*, 2006).

Le type kabuli et le type desi sont cultivé a travers le monde et possèdent des noms très différent i.e : Chickpea (UK), Garbanzo (Latin Amérique), Bengal gram (Inde), Hommes, Hamaz (monde arabe), Shimbra (Ethiopie) et Nohud et Loblebi (Turkie) (Smithson et *al.*, 1985; Singh,1987).

Tableau n°1 : Les principaux pays producteurs de pois chiche (Fabre, 2008).

Pays	Type	Production (t)	Importation (t)	Exportation (t)	Atouts et difficultés
Inde	Desi	+5 million	40% des importations		2/3 de la production mondiale
Pakistan	Desi	543 000			Le plus grand importateur 29%
Turquie	Kabuli	630 000		50 000	Vers Inde et Moyen Orient, 3100 t vers UE (qualité médiocre)
Canada	Kabuli	465 000		133 000	Développement spectaculaire mais problèmes climatiques
Australie	Desi	285 000		307 000	Problèmes de compétitivité liée à l'éloignement, déstockage.
Iran	Kabuli	160 000		19 000	
Mexique	Kabuli	150 000		150 000	Déstockage- vers l'Algérie et 65000 t et vers UE
USA	Kabuli	70 000		35 000	
Union Européenne	Kabuli	90 000	120 000=18 % des importations		Production marginale : 2% de la production mondiale
Maghreb	kabuli	60 000	11% des importations		Marché potentiel pour la France

III. Origine et répartition géographique :

Le pois chiche est parmi les premières légumineuses à graines domestiquées par l'homme depuis l'antiquité (Van Der Maesen, 1987). Les premières traces d'utilisation du pois chiche comme aliment remontent à environ 7000 ans.

Le pois chiche est originaire du Moyen-Orient, plus précisément du sud-est de la Turquie et de la Syrie (Singh, 1997). Il arriva sur les côtes du bassin méditerranéen après avoir traversé de nombreux pays et les Phéniciens pourraient être à l'origine de cette diffusion (Baumgartner, 1998).

Le pois chiche s'est diffusé progressivement vers l'ouest de la Méditerranée, ainsi qu'en Asie orientale et australe et en Afrique de l'Est (Brink, 2006). Il a atteint le sous-continent Indien 2000 avant J.C. La culture du pois chiche connaît une expansion dans les pays où son introduction est récente, comme l'Australie, la Nouvelle-Zélande, les Etats-Unis et le Canada. En Afrique tropicale, il est cultivé principalement en Afrique de l'Est (Soudan, Erythrée, Ethiopie, Kenya, Tanzanie) et au Malawi ; il est surtout cultivé dans les régions où la saison froide est marquée. Lesotho et l'Afrique du Sud ont récemment introduit le pois chiche à titre expérimental. Le pois chiche se rencontre semi-naturalisé, comme échappé des cultures cas de la Tanzanie (Brink, 2006).

L'espèce spontanée ancestrale a été identifiée par l'analyse des profils électrophorétiques des protéines et des enzymes comme étant *Cicer reticulatum* Ladiz. ($2n=16$) distribuée dans le sud de la Turquie (Yadav et al., 2007).

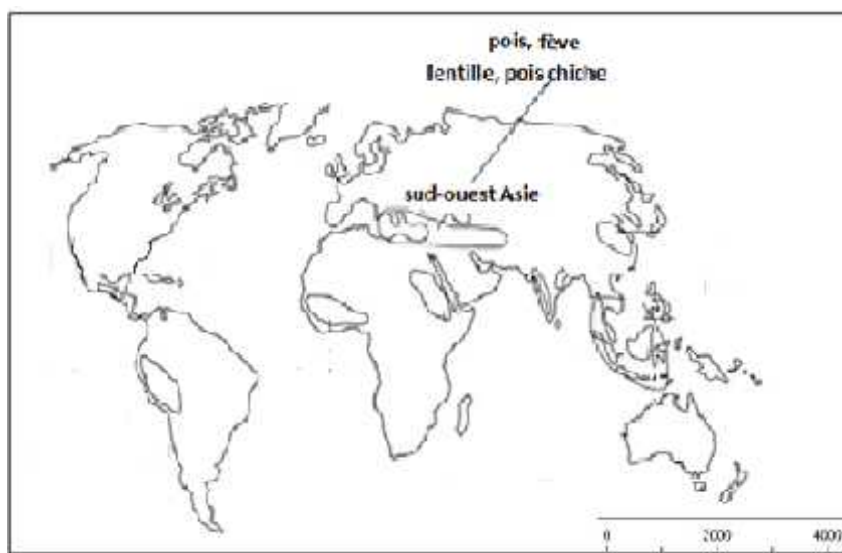


Figure n°1 : Aire d'origine des principales plantes cultivées (Lévêque et al., 2008).

IV. Importance de la culture des pois chiches :

Les légumineuses alimentaires sont parmi les cultures vivrières les plus cultivées par l'homme. Elles constituent une importante source protéique et se présentent comme un substitut aux protéines animales, disponibles à travers les viandes rouges et blanches qui sont difficilement accessibles à de larges couches de la population. Les Légumineuses sont cultivées pour leur capacité à fixer l'azote atmosphérique et pour rompre les successions céréalières préjudiciables aux rendements et aux productions à travers les assolements (Hamadache et *al.*, 1997 in Bouri et Gaouar, 2018).

IV.1 Importance économique :

A travers le monde, le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est l'une des plus importantes légumineuses à graines. Le pois chiche occupe la troisième position Dans la famille de la légumineuse après l'haricot (*Phaseolus vulgaris*) et le pois (*Pisum sativum* L.) (FAO, 2007).

Les prix varient de 15 à 50 €/quintal, selon les années en fonction du cours des marchés et de la qualité (propreté, calibre, couleur) des grains. Les gros grains >10mm à moyen >7 mm se valorisent le mieux : vente à des grossistes, vente au détail, à la restauration et l'industrie des plats cuisinés (Fabre, 2008).

Les petits grains < 7mm ou cassés sont valorisés par l'alimentation animale. Certaines structures proposent des contrats prix-production avec un prix tous calibres confondus, d'autres privilégient des prix par calibre (Fabre, 2008).

Le marché est étroit et peu en expansion. Le choix de la culture du pois chiche rentre en concurrence avec le tournesol. Le marché de la vente directe est assez confidentiel, réel mais concerne peu de volume. Il y a une demande, mais restreinte, en pois chiche issu de l'agriculture conventionnelle et/ou de l'Agriculture Biologique (Fabre, 2008).

IV.2 Importance alimentaire :

A travers le monde, le pois chiche est un aliment de base Il a une composition alimentaire très riche en protéines digestibles et contient une fraction lipidique qui renferme des acides non saturés tels que les acides linoléiques et oléiques. D'autant plus, il est réputé comme plante médicinale pour ses vertus cosmétiques et diététiques (Berger et *al.*, 2003).

Propriétés : La composition de graines mûres crues de pois chiche, par 100 g de partie comestible, est : eau 11,5 g, énergie 1525 kJ (364 kcal), protéines 19,3 g, lipides 6,0 g, glucides 60,7 g, fibres alimentaires 17,4 g, Ca 105 mg, Mg 115 mg, P 366 mg, Fe 6,2 mg, Zn 3,4 mg, vitamine A 67 UI, thiamine (B₁) 0,48 mg, riboflavine (B₂) 0,21 mg, niacine (B₃) 1,5 mg, vitamine B₆ 0,54 mg, et acide ascorbique (C) 4,0 mg (USDA, 2004).

La composition en acides aminés essentiels, par 100 g de partie comestible, est : tryptophane 185 mg, lysine 1291 mg, méthionine 253 mg, phénylalanine 1034 mg, thréonine 716 mg, valine 809 mg, leucine 1374 mg et isoleucine 828 mg (USDA, 2004).

Les principaux acides gras, par 100 g de partie comestible, sont : acide linoléique 2593 mg, acide oléique 1346 mg, acide palmitique 501 mg, acide linoléique 101 mg et acide stéarique 85 mg (USDA, 2004).

La teneur en protéines du pois chiche, plus faible que celle de la plupart des autres légumes secs, est compensée par une meilleure digestibilité. Parmi les facteurs antinutritionnels, il faut citer des inhibiteurs de trypsine, les hémagglutinines, les tanins et les oligosaccharides (McPhee et al., 2002).

IV.3 Importance agronomique :

Dans les régions semi-arides du bassin méditerranéen où les ressources en eau sont en constante régression, les agriculteurs se rendent compte, de plus en plus, du rôle appréciable que jouent les légumineuses à graines dans la fertilisation organique du sol, surtout, dans le système de l'agriculture durable (Pacucci et al., 2006).

En fait, le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est cultivé sur une large gamme de zones bioclimatiques qui s'étendent du subtropical, l'Inde et le Nord-est de l'Australie, aux zones arides et semi-arides des régions du Bassin méditerranéen et de l'Australie Méridionale (Pacucci et al., 2006).

Le pois chiche peut fixer, par voie symbiotique, plus de 140 kg/ha d'azote atmosphérique et satisfaire plus de 80% de ses besoins en azote (Pacucci et al., 2006).

En raison des importantes quantités d'azote, incorporées dans le sol et délaissées dans les résidus, la culture du pois chiche maintient, pour une longue durée, la fertilité du sol et entre dans le système d'agriculture durable (ICRISAT, 2008).

Le pois chiche est une culture intéressante pour promouvoir une agriculture durable. Une légumineuse avec un système racinaire dense et pivotant profond, le pois chiche peut supporter des épisodes de sécheresse en extrayant l'eau dans les couches profondes du sol. Il est souvent cultivé en seconde culture pour profiter de l'humidité résiduelle, par exemple après récolte du riz. (ICRISAT ,2013).

Pourtant, malgré ces qualités indéniables, le pois chiche est loin de son potentiel. Le rendement moyen est autour de 800 kg par hectare quand en conditions optimales on peut atteindre 2 tonnes/hectare (ICRISAT ,2013).

I. Aperçu sur la situation de la culture

La culture des légumineuses alimentaires fait partie de nos systèmes agraires depuis très longtemps dans différentes zones agro-écologiques du pays. Elles constituent une composante importante dans les systèmes de production céréalières. Leur utilité dans l'alimentation humaine et animale comme source de protéines ainsi que leur effet bénéfique sur la fertilité des sols sont largement connus. Bien qu'elle ait bénéficié de quelques programmes de développement, la production de ces cultures en Algérie n'a pas connu l'évolution, alors que la demande de consommation ne cesse d'augmenter, d'où le recours systématique à l'importation. Ainsi, 1800.000 quintaux de légumineuses alimentaires sont importés chaque année, qui est l'équivalent de 123 millions de dollars (FAO, 2017).

L'importance alimentaire du pois chiche fait qu'il est très demandé par les ménages algériens. La production nationale qui est en moyenne de 290 000 quintaux, reste insuffisante et ne couvre pas les besoins de consommation de la population qui sont de 816 130 quintaux (DSASI, 2015).

Ainsi, le rendement moyen de cette culture n'est seulement que 9,8 q/ha. Cette faiblesse de rendement est la résultante d'un ensemble de facteurs abiotiques (faible pluviométrie, sécheresse, pH et salinité du sol) et biotiques (mauvaises herbes, ravageurs et maladies dues aux champignons, bactéries et virus), ainsi qu'une sous-utilisation des semences réglementaires. Le pois chiche occupe la 2^{ème} position après la fève durant la période 2014-2016. (Figure 2) (FAOSTAT ,2017).

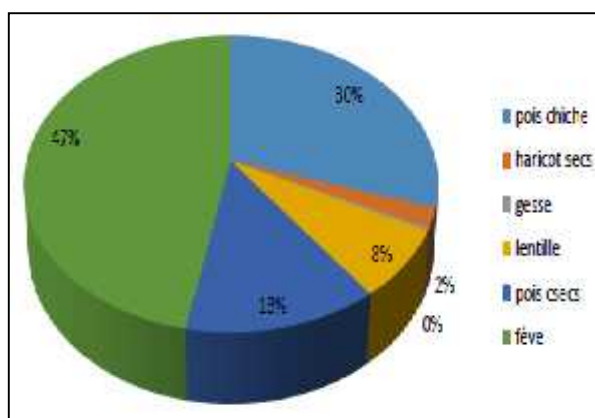


Figure n°2 : Place de pois chiche parmi les légumineuses alimentaires cultivées en Algérie (FAOSTAT, 2017).

En Algérie, la culture du pois chiche occupe une superficie moyenne de 27 000 ha, pour une production nationale qui oscille entre 17800 et 35000 tonnes par an (Figure 3).

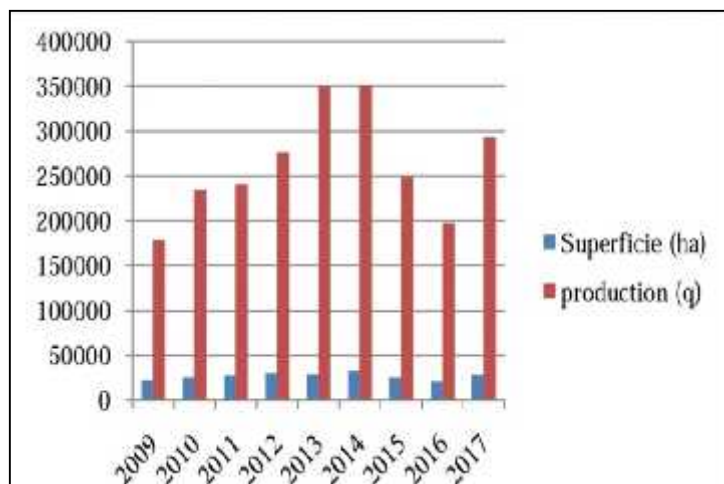


Figure n°3 : Evolution des superficies et des productions du pois chiche en Algérie.
(DSASI, 2009-2017).

L'Algérie est contrainte d'importer annuellement des quantités importantes de pois chiche pour faire face aux besoins sans cesse croissants. L'accroissement des superficies et l'amélioration des rendements permettront une diminution de ces importations. L'introduction de cette culture dans la rotation permettra aux agriculteurs d'augmenter leurs revenus par la diminution des superficies en jachère, notamment dans les zones potentielles où la pluviométrie annuelle est située entre 450 et 600 mm, ainsi qu'une économie dans les amendements en engrais azotés utilisés dans la culture des céréales (ITGC, 2018).

II. Répartition et Zones de culture du pois chiche :

Le pois chiche résiste bien à la sécheresse en raison de son système racinaire pivotant, mais par contre, il n'est pas bien adapté aux zones de grande humidité, aux sols salins et aux sols gorgés d'eau. En Algérie, les zones favorables à la culture du pois chiche se situent essentiellement à l'Ouest au niveau des plaines de Maghnia, Ain Témouchent, Sidi Bel Abbès, la plaine de Ghris, et le bas Chélif, ainsi qu'au niveau des Hauts Plateaux de Saida et de Tiaret. A l'Est, au niveau des Hauts Plateaux de Bordj Bou Arreridj, d'Oum El Bouaghi (Plateaux de Ain M'Lila, Ain Fekroun, Oum El Bouaghi et Ain El Beida), ainsi que le Nord de Tébessa.

Le pois chiche de printemps est cultivé dans le Nord-Ouest, le Centre et le Nord-Est du pays, alors que le pois chiche d'hiver est cultivé dans les Hauts Plateaux de l'Est, Centre et Ouest (ITGC, 2018).

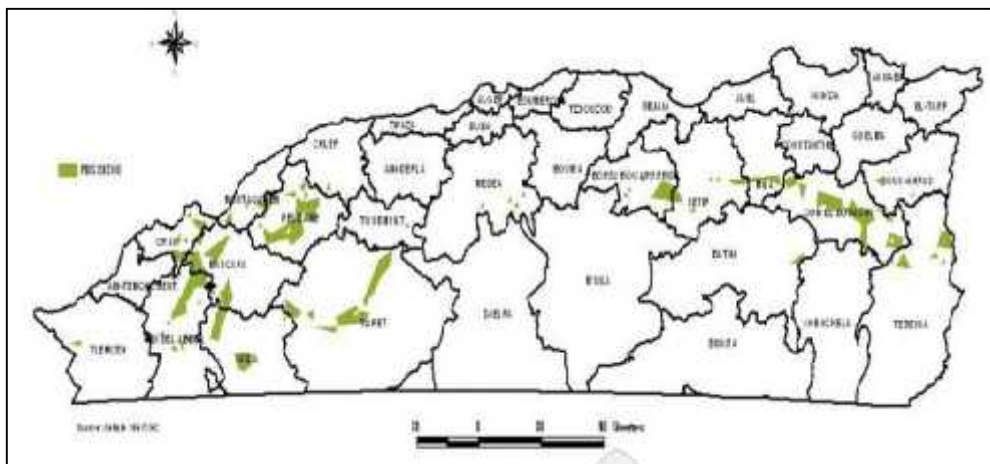


Figure n°4 : Zones d'aptitude de la culture du pois chiche en Algérie (ITGC ,2018).

III. Conduite de culture :

Le mode de conduite actuelle du pois chiche varie selon les régions, en zones littorales et sub-littorales, il s'apparente au maraichage en se limitant à des parcelles réduites. Dans les hautes plaines, il s'intègre aux grandes cultures en prenant des dimensions importantes. Seulement la production parcellaire, destinée à l'autoconsommation a tendance de s'éclipser tandis qu'elle est remplacé par la production en grande culture, destiné à la satisfaction des besoins croissants de notre population (ITGC, 2018).

III.1 Mode et doses de semis :

Le semis mécanique avec un semoir de précision reste la meilleure solution, il assure un bon emplacement de la graine, une levée homogène et une économie de semences. Le semis mécanique peut aussi être réalisé à l'aide d'un semoir à céréales muni de tubes de descente. L'opération de semis peut être réalisée manuellement, précédée par un billonnage. Les doses de semis utilisées à l'hectare sont de 50 à 80 kg, un roulage est indispensable afin de minimiser les pertes à la levée et faciliter la récolte.

L'expérimentation menée au niveau de l'ITGC montre que le pourcentage de pertes est en relation avec le mode de semis, avec un net avantage du semoir monograin (ITGC, 2018).

III.2 Préparation du sol :

Une première étape consiste en la réalisation d'un déchaumage après la récolte de la culture précédente, suivi d'un labour de 20 à 25 cm avec la charrue à socs en automne en conditions humides ou un chisel en conditions sèches. La reprise du labour est réalisée avec le cover-crop et le cultivateur, ces derniers sont préconisés dans des conditions sèches et sur les sols peu profonds. La préparation du lit de semences est déterminante pour la réussite des semis et la garantie d'une bonne levée de la culture. Cette opération est réalisée avec la herse (à cage roulante ou à lame), elle permet un affinement et un nivellement du lit de semences. Un roulage est à recommander après semis (lisse) (ITGC, 2018).

III.3 Période de semis :

Les expérimentations menées par l'ITGC montrent que le semis d'hiver donne des rendements supérieurs à celui du printemps traditionnellement semé en Algérie, à condition d'utiliser des variétés résistantes aux maladies et de contrôler les mauvaises herbes. En zones littorales et sub-littorales, les variétés tardives sont préconisées, par contre en zones d'altitude, ce sont les variétés précoces qui sont recommandées (ITGC, 2018).

Tableau n°2 : Périodes indicatives de semis du pois chiche (Djennadi et al., 2017 in ITGC,2018)

Régions	Périodes indicatives du semis	Recommandations ITGC
Littorales	15 décembre à début février	*Décembre-janvier (semis d'hiver)
Sublittoral		*Février (semis de printemps)
Haut-Plateaux	1 ^{er} décembre à 15 janvier	*Novembre-décembre (semis d'hiver)
Plaines Intérieures	15 décembre à début février	* Décembre-janvier (semis d'hiver) *Février (semis de printemps)

III.4 Rotation/assolement :

La culture du pois chiche convient en tête d'assolement, car il permet de nettoyer le sol, améliorer sa structure et de fixer l'azote atmosphérique qui peut servir aux cultures suivantes. Il convient de laisser un intervalle minimum de 3 à 4 ans entre deux cultures de pois-chiche, à cause des risques de dégâts

due aux champignons, notamment l'antracnose. Il est recommandé de pratiquer les assolements suivants, selon la pluviométrie (ITGC, 2018).

*en zones de fortes potentialités, a pluviométrie supérieure à 400mm/an.

1 ^{ère} année :	2 ^{ème} année	3 ^{ème} année	4 ^{ème}
Pois chiche	Blé	Fourrage	Blé

*en zone de moyenne à faible potentialités, à pluviométrie inférieure à 400mm/an.

1 ^{ère} année	2 ^{ème} année	3 ^{ème} année	4 ^{ème} année
Pois chiche	Blé	Jachère	Blé

III.5 Récolte :

La récolte du pois-chiche ne pose pas de problèmes particulier, même en sols caillouteux grâce au port dressé et à la quasi absence de verse et d'égrenage. La période de récolte oscille entre le mois de juin et juillet (ITGC, 2018)

En Algérie, deux modes de récolte sont pratiqués :

a. Récolte directe :

À la moissonneuse batteuse, lorsque les gousses commencent à jaunir avec un taux d'humidité du grain de 13%. L'utilisation de la moissonneuse-batteuse nécessite quelques réglages, tels que:

- L'utilisation de grille du trieur de forme ronde de 16 mm,
- Grille arrière ronde de 16 mm,
- Rallonge des grilles relevées de 30 ou 40 degrés,
- La vitesse du rabatteur doit être fixée au minimum,
- Le batteur doit être à vitesse minimum,
- La ventilation doit être adaptée à la grosseur du grain et généralement proche du maximum.

b. Récolte en deux temps :

- Fauchage mécanique ou arrachage manuel à un taux d'humidité du grain de 20 à 25%.
- Battage à poste fixe 4 à 5 jours après l'arrachage, avec une batteuse fixe ou à l'aide de passage répétés d'un tracteur sur l'aire de battage.

IV. Ennemies de la culture :

Le pois chiche (*cicer arietinum*) est sensible à plus de cinquante agents pathogènes (Ayadi, 1986).

IV.1 Maladies cryptogamiques :

Les principales maladies affectant le pois chiche en Algérie sont l'antracnose et le Wilt ou le flétrissement vasculaire.

- ✓ **L'antracnose** est la principale maladie fongique du pois chiche causée par *Ascochyta rabiei*. Il s'attaque aux parties aériennes de la culture. Le champignon est transmis par les semences, les débris infectés, ainsi que par les plantes non-hôtes. L'invasion de toutes les parties aériennes de la plante engendre des dommages majeurs pouvant causer la perte totale de la récolte (Saxena *et al.*,1984).
- ✓ **Le flétrissement vasculaire** ou **wilt** est causé par un parasite *Fusarium oxysporum*.sp ciceri, qui vit en saprophyte dans le sol et à travers les débris infestés. Il peut se conserver jusqu'à 6 ans. La maladie se développe quand la température du sol est voisine de 25°C.



Figure n°5 : Symptômes et dégâts d'antracnose sur la gousse, la feuille, la tige et les grains du pois chiche (ITGC, 2018)



Figure n°6 : Plantes de pois chiche desséchées causé par le Wilt (ITGC, 2018).

IV.2 Ravageurs :

Le pois-chiche est la légumineuse alimentaire la plus tolérante aux insectes du fait de l'importante quantité d'acide malique secrété par ses feuilles et qui agit comme répulsif vis-à-vis des insectes. On observe, cependant des attaques de ravageurs rencontrés sur d'autres cultures, comme les taupins et quelques dégâts de noctuelles (*Héliothis armigéra*) qui percent les gousses et mangent les jeunes graines. Mais seule la mineuse des feuilles (*Liriomyza cicérina*) qui creuse des galeries dans les feuilles, pourrait présenter un risque sérieux (ITGC, 2018).

IV.3 Mauvaises herbes :

Le pois chiche est très sensible à la concurrence des adventices, particulièrement au cours des 4–6 premières semaines après le semis. La lutte contre les mauvaises herbes s'effectue d'habitude par des moyens mécaniques. Les populations d'adventices peuvent être élevées si la culture ne reçoit des pluies que tard après le semis ; dans ce cas, il est nécessaire de désherber immédiatement (Hanelt *et al.*, 2001).

En Algérie La culture du pois chiche est sensible à la concurrence des mauvaises herbes, surtout au début de son développement, Notons que les dégâts engendrés par les mauvaises herbes chez le pois-chiche peuvent atteindre 30 à 50% (Saxena, 1980 *in* Melakhessou, 2007) et que Saxena, 1987 a montré que le rendement d'une culture désherbée à la main augmente de 42 % par rapport au témoin non désherbé. Les principales mauvaises herbes rencontrées sont illustrées dans le tableau ci-dessous.

Tableau n°3 : mauvaises herbes du pois chiche rencontrés en Algérie
(Hamadache, 2014).

Espèces	Nom commun
<i>Sinapis arvensis</i>	Moutarde des champs
<i>Scandixpecten-veneris</i>	Ombellifère
<i>Polygonum aviculare</i>	Renouée
<i>Amaranthus spinosus</i>	Amarante
<i>Galium tricorne</i>	Gaillet à trois cornes
<i>Convolvulus arvensis</i>	Liseron des champs
<i>Avena sterilis</i>	Folle avoine
<i>Phalaris sp</i>	Phalaris
<i>Bromus sp</i>	Brome

V. Diversité génétique de l'espèce en Algérie :

Dans le monde, Il existe de nombreuses variétés de pois chiche, plus de 20 mille variétés (Plancquaert et Wery , 1991).

En Algérie, Il est important de signaler que le matériel de base utilisé entre (1946 à 1955) pour ces recherches d'amélioration de pois chiche était constitué de 31 variétés locales. Les variétés cultivées sont rencontrées en mélanges plus ou moins accusé. En effet, les variétés à grains fortement colorés ne font pas l'objet de culture séparée mais sont rencontrées en proportion plus ou moins fortes.

Cependant, dans certaines régions, il a été constaté, une certaine homogénéité variétale dans les cultures due soit à une sélection naturelle ou à une sélection massale, soit à des importations périodiques de semence d'origine espagnole. Et les travaux de recherche réalisés, depuis plus de 25 ans par les différentes structures (INA, ITGC...), ont porté essentiellement sur des aspects de techniques culturales et de comportement.

Quelques travaux ont bien traduit la grande variabilité génétique du pois chiche existants en Algérie. Cependant nous constatons que cette diversité génétique n'a pas fait l'objet de gestion et / ou de conservation. C'est ainsi qu'à l'état actuel les anciennes variétés, du moins la trentaine de variétés citées par les différents auteurs, ne sont plus cultivées à grande échelle (INRAA, 2006).

En 1956, Ducellier (*in* Laumont et Chevassus, 1956) a donné des indications très intéressantes sur la large gamme des pois chiches cultivés en Algérie. L'auteur, qui s'est intéressé à la culture et à l'amélioration du pois chiche, indique qu'on peut rencontrer en Algérie 5 variétés botaniques à l'intérieur de l'unique espèce cultivée (*Cicer arietinum* L.) (Tableau 4).

Tableau n°4 : Variétés botaniques constituant l'espèce *cicer arietinum* L. en Algérie.

Espèce	Variétés botaniques	Noms communs	Caractéristiques du grain
<i>Cicer arietinum</i>	<i>C. arietinum</i> var edule	Pois chiche comestible	Gros, blanc, rosé, sphéroïde, plus ou moins ridé
	<i>C. arietinum</i> var globulosum	Pois chiche rond	Gros, blanc, jaunâtre, rond, sans ride
	<i>C. arietinum</i> var commune	Pois chiche commun	Oblong, ridé, anguleux, blanc, jaunâtre à roux foncé
	<i>C. arietinum</i> var dentatum	Pois chiche denté	Grain voisin du pois chiche commun mais à grain noir mat.
	<i>C. arietinum</i> var <i>nigrum</i>	Pois chiche à grain noir	Très voisin du pois chiche commun mais à grain noir

Ducellier (1956, *in* Laumont et Chevassus, 1956) a entrepris l'amélioration du pois chiche et s'est imposé de :

- Dresser l'inventaire des populations locales ou introduites,
- Séparer et décrire les différentes formes rencontrées,
- Faire la nomenclature des caractères de description,
- Etudier la variabilité de ces caractères, ainsi que leur corrélation et leur valeur génétique.

A la suite de cela, il a été remarqué que les caractères variétaux les plus importants sont : le port de la plante, la couleur du feuillage, la dimension des feuilles, le nombre et la forme des folioles, la forme de la gousse et sa dimension, le nombre, la forme et la grosseur des grains, la hauteur de la tige. Ainsi, l'observation des caractères variétaux et l'amélioration par la sélection massale et généalogique ont permis en 1956 de distinguer les variétés cultivées mentionnées par Laumont et Chevassus (1956).

Les variétés sélectionnées dont la culture était recommandées en Algérie, en 1956, étaient près d'une trentaine (Laumont et Chevassus, 1956. (Tableau 5).

Tableau n°5 : Variétés sélectionnées et recommandées pour la culture en Algérie en 1956

Variétés sélectionnées dont la culture était commandée	
Abdellys 101/13, 199,50/13, 499/13	Oran 177/34, 219, 425/4
Attec 1,3,7,10,28,126,161	Oran précoce 534/36
Cunin 9,11	Sidi Bel Abbes 123,523
Isser 537/10	Souf el Tell
Maroc 674	Syrie 11,660/12,424
Mogador	Tassalah 453,445

Anthelme et *al.*, (1978) ont établi un classement biochimique des diverses variétés de pois chiche concernant les protéines et leur équilibre respectif en acide aminés (tableau 6), tout en traitant d'autres variétés locales que Laumont (1965) n'a pas signalé. Cette étude biochimique a révélé que, du point de vue équilibre chimique de protéines tant sur le plan quantitatif que qualitatif, les variétés les plus dignes d'intérêt sont : Cumin 11, Issers 537, Ain Temouchent 161 et ATEC 10.

Par ailleurs, ont été décrit plusieurs anciennes variétés (Sebdou, Sidi Bel Abbès, Rabat 9, Aïn Témouchent, Abdellys et Oran Précoce) dont trois seulement (Aïn Témouchent, Abdellys et Oran Précoce) ont été mentionnées par Laumont (1956). (Tableau 6).

Par ailleurs, Boughrarou (1992) a décrit plusieurs anciennes variétés (Sebdou, Sidi Bel Abbès, Rabat 9, Aïn Témouchent, Abdellys et Oran Précoce) dont trois seulement (Aïn Témouchent, Abdellys et Oran Précoce) ont été mentionnées par Laumont (1956).

En 1992, Boughrarou (1992) n'a pu caractériser que six cultivars locaux. Les autres cultivars n'étaient plus disponibles (extrêmement rares ou inexistants. (Tableau 7).

Tableau n°6 : composition en protéine, lipides, somme des acides aminés de quelques cultivars algériens Anthelme *et al.*, (1978).

En % de matière sèche			
Variétés :	Teneur en protéines :	Teneur en lipides :	Somme des acides aminés :
Cunin 11	23.40	4.60	58.79
Isser 537	21.80	4.80	60.19
ATEC10	21.20	5.20	56.55
Tessalah	20.40	6.40	-
Oran précoce	20.40	6.20	-
Misserghin	20.40	6.20	50.92
Rabat 57	20.20	5.10	-
Ain temouchent 161	18.90	6.10	52.66
Abdellys 494	18.50	5.40	-
Abdellys 493	17.10	5.30	-
Menerville	16.60	4.90	76.19

Tableau n°7: caractérisation phénotypiques de six cultivars algériens de *cicer arietinum L.*
Boughrarou (1992) modifié

Cultivars :	Caractères descriptifs :
Sidi Bel Abbes	Variété haute à port érigé, grain lisse et beige clair, feuillage très dense, précoce
Sebdou	Port étalé à grande envergure, feuillage vert foncé, grain lisse beige marron, précoce
Rabat 9	Variété courte à port érigé, grain ridé, beige clair, tardive
Ain Temouchent	Variété courte à port érigé, feuillage vert jaune, grain ridé, beige clair, précoce
Abdellys	Port étalé, grande envergure, feuillage très dense, vert jaune, grain beige clair, ridé, précoce
Oran précoce	Port étalé, petite envergure, feuillage vert jaune, grain ridé, beige clair, précoce

VI. Evaluation des érosions génétiques :

Quelques travaux mentionnés traduisent bien la variabilité génétique existante chez le pois chiche en Algérie. Cependant, cette diversité génétique n'a pas fait l'objet de gestion et/ou de conservation. C'est ainsi qu'actuellement les anciennes variétés, du moins la trentaine de variétés citées par les différents auteurs, ne sont plus cultivées à grande échelle (Abdelguerfi *et al.*, 1998).

Actuellement, seules six variétés (dont une seule locale) sont utilisées en grandes cultures (à grande échelle) (Zine et Laouar, 1998). Ceci n'exclue pas l'existence de cultivars locaux ou anciennement introduits encore utilisés par quelques agriculteurs des zones reculées (régions montagneuses...) (Abdelguerfi-Laouar *et al.*, 2000).

VII. Principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie :

L'utilisation de semences règlementaires est le facteur de production le plus facilement transférable en milieu producteur. Dans le cas des variétés de pois chiche, le choix doit être orienté selon l'adaptation aux conditions agro-écologiques, la qualité culinaire recherchée et le potentiel productif de la variété. Les principales variétés cultivées en Algérie (Tableau 8), sont du type Kabuli et Gulabi (ITGC, 2018)

Tableau n°8 : Caractéristiques des principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie (ITGC, 2018).

	Variétés	Type	Caractéristiques
Variété locales	Ain Témouchent, Sebdu, Rabat9	kabuli	Port étalé, semi-précoce, sensible à l'antracnose et au flétrissement, faible productivité. A semer au printemps. Bonne valeur culinaire.
Variétés en multiplication	Chetoui (ILC 32 79)	Gulabi	Port très érigé, hauteur élevée, tardive, tolérante à l'antracnose. sensible au flétrissement, bonne productivité, à semer en hiver, valeur culinaire assez bonne.
	Beni chograne (Flip 84-92c) Seraidi (Flip 90-13c)	kabuli	Port semi-érigé, semi tardive, tolérante à l'antracnose, à semer en hiver
	Oued Rhumel (Ghab04) Ain Zada (Ghab5)	kabuli	
Variétés nouvellement introduites	Souagui, Makerra, Beni Aziz, Beni Hamiden, El Ogbane, Tafna, Tikejda		

I. Taxonomie et Caractéristiques botaniques :

I.1 Taxonomie :

La classification de cette espèce est la suivante (USDA, 2008) :

Règne Plantae

Embranchement Spermatophyta (plantes à graines)

Sous embranchement Magnoliophyta (=angiospermes, phanérogames ou plantes à fleurs)

Classe Magnoliopsida

Sous-classe Rosidae

Ordre Fabales

Famille Fabaceae

Genre *Cicer*

Espèce *Cicer arietinum* L.

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une espèce herbacée, annuelle diploïde

I.2 Caractères botaniques :

Le pois chiche est une plante appartenant à la famille des Fabaceae, sous famille de Papilionoideae, tribu de *Cicereae*, genre *Cicer* (Paterson *et al.*, 2000).

Sur le plan botanique, il est décrit comme une plante herbacée annuelle, dressée ou rampante couverte de poils glanduleux. Sa germination est du type hypogé (les cotylédons restent souterrains). Ses racines peuvent atteindre un mètre de profondeur, mais la plupart se trouvent dans les premiers centimètres (Duke, 1981). Sa tige anguleuse a une hauteur de 0.20 à 1 mètre de haut. Ses feuilles se composent de 7 à 17 folioles ovales et dentées. Les fleurs peuvent être blanches, bleues ou violettes ; solitaires et pédonculées. Les gousses sont renflées à 1 - 2 graines presque rondes. Le poids de 1000 graines varie de 200 à 600 grammes (Vander Maessen, 1972).

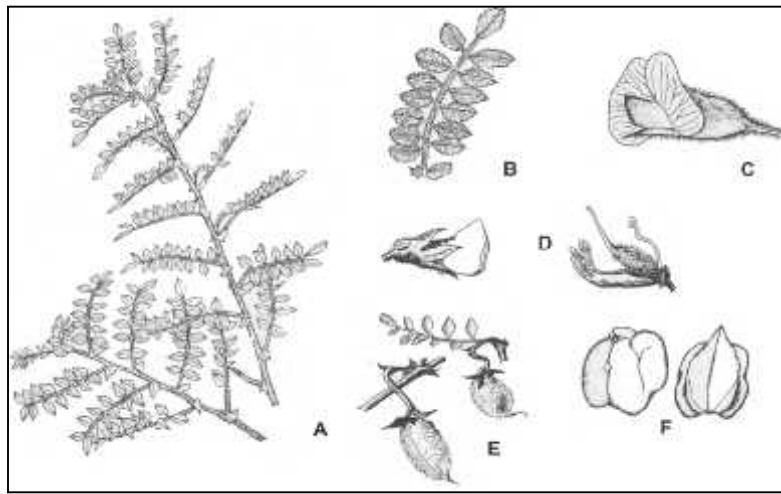


Figure n°7 : le pois chiche : *Cicer arietinum*

Tige feuillue (A), feuille composée de 16 folioles (B), fleurs zygomorphe (C), étamines, pistil et ovaire (D), gousses en développement (E), graines (F) (Blumber., 1991).

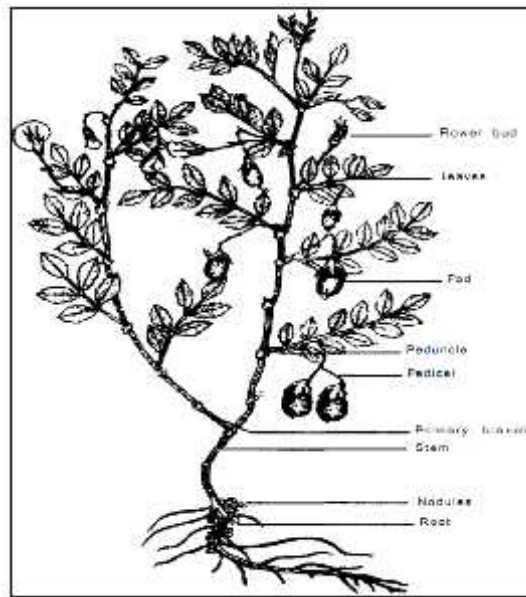


Figure n°8 : plante entière modèle du pois chiche (Singh et Diwakar , 1995).

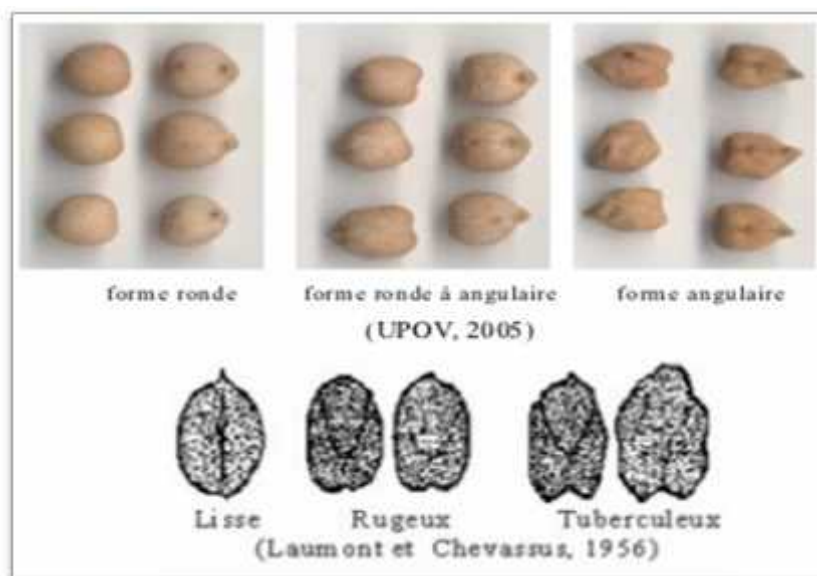


Figure n°9 : forme et aspect des graines de pois chiches (*cicer arietinum .L*)
(Laumont et Chevassus., 1956).

II. Types de pois chiche :

le pois chiche est représenté par deux grands groupes morphologiquement bien distincts et qui sont importants: Kabuli et Desi (Ayadi,1986 ; Ben Mbarek, 2011). Quelques auteurs ajoutent un troisième type qui est le type Gulabi , ce type présente des caractères intermédiaires entre les deux précédents. Caractérisé par des graines lisses et claires, d'une taille moyenne, le poids de 100 graines est compris entre 15 et 25 g. prédomine en Asie (Plancquart et Werry, 1991).

II.1 Type Kabuli :

Cultivé en Méditerranée Il est appelé aussi Garbanzo, est caractérisé par un feuillage dont la couleur varie du vert claire au vert foncé et une floraison blanchâtre (Il a un port érigé ou semi érigé qui permet la mécanisation de la récolte. Généralement, la hauteur de la plante varie de 30 à 90 cm. En cas d'un sol fertile et profond et d'une alimentation hydrique suffisante, elle peut dépasser 1 m. Les graines sont de couleur crème, couvertes d'un tégument mince (AAC, 2006).

II.2 Type Desi :

Cultivé surtout en Asie méridionale et en Ethiopie Il est caractérisé par un feuillage dont la couleur tend du vert violacé au glauque et une floraison violacée. Il a un port retombant et un aspect touffu. Les graines sont de plus petite taille, de forme irrégulière et à surface ridée couverte d'un tégument

épais de couleur foncée qui varie du marron au noir Le poids de 1000 graines varie de 100 à 130 g (AAC, 2006).

II.3 Type **Gulabi** :

Ce type est généralement de couleur blanc-crème, sans tanin, comme le Kabuli, mais plus petit, presque lisse et surtout le bec typique du pois chiche est très réduit, ce qui, une fois décortiqué, le fait ressembler à un pois jaune , Caractérisé par des graines lisses et claires, d'une taille moyenne, le poids de 100 graines est compris entre 15 et 25 g. prédomine en Asie. Il est utilisé dans de nombreux croisement avec le type Kabuli (Plancquart et Werry, 1991).

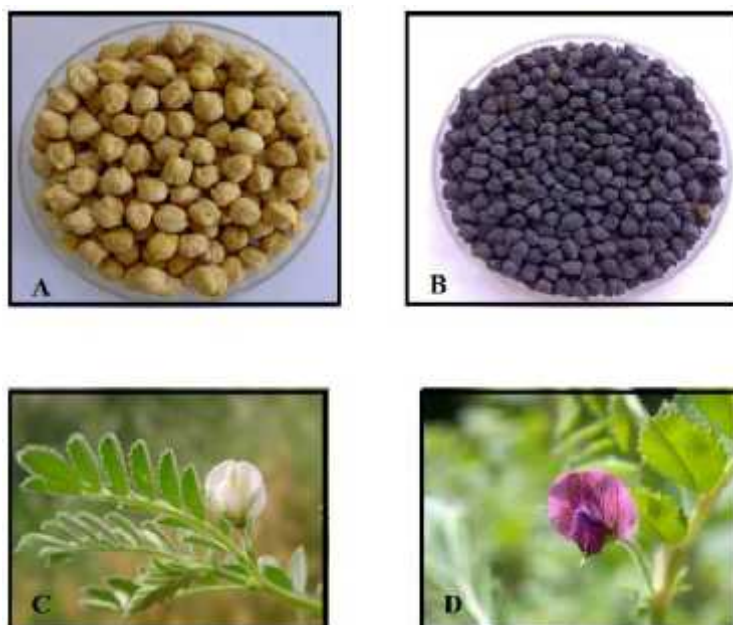


Figure n°10 : Types de cultivars de pois chiche (Maheri *et al.*, 2008 *in* Djenadi *et al.*, 2017).

A : Grains de Pois chiche de type Kabuli **B** : Grains de Pois chiche de type Desi

C : Fleur de pois chiche de type kabuli **D** : Fleur de pois chiche de type Desi

III. Exigences édapho-climatiques de la culture :

III.1 Exigences édaphiques :

Le pois chiche est peu exigeant en qualité du sol. A l'origine, les premiers écotypes ont été collectés à partir des sols marginaux, rocheux, à texture grossière et des sols profonds à texture fine dont le pH est neutre ou alcalin, variant de 7,3 à 8,2 (Berger *et al.*, 2003 *in* Ben Mbarek, 2011). Néanmoins, il est adapté aux sols bruns et bruns foncés (Jaiswal et Singh, 2001 *in* Ben Mbarek, 2011)).

Le pois chiche est très sensible à une mauvaise aération due à une mauvaise préparation du sol ; ce qui engendre des problèmes d'asphyxie racinaire et par conséquent des pertes à la levée (Berger *et al.*, 2003).

III.2 Exigences Climatiques :

III.2.1 Température :

Une température ambiante, variant de 20 à 30 °C le jour et de l'ordre de 20 °C la nuit, assure un bon développement végétatif du pois chiche. Le pois chiche du type kabuli craint les gels et il est facilement infecté par les champignons telluriques. Au moment du semis, la température du sol doit être supérieure à 10 °C. En fait, un sol relativement chaud permet une réduction de l'exposition des semences aux maladies, une germination des graines et une émergence des plants rapides (Jaiswal et Singh, 2001 *in* Ben Mbarek, 2011).

III.2.2 Eau :

Par comparaison aux autres espèces de la tribu des Viciées, grâce à son système racinaire profond, le pois chiche est doté d'une certaine rusticité et d'une tolérance à la sécheresse (Verghis *et al.*, 1999).

D'après Wery, (1990), une consommation en eau de 100 à 150 mm confirme que le pois chiche est doté de bonnes capacités pour extraire l'eau stockée dans le sol. Néanmoins, quelque soit le type de culture, de printemps ou d'hiver, et le type de pois chiche, la phase critique pour les besoins en eau est entre les phases phénologiques fin floraison et stade laiteux (Verghis *et al.*, 1999).

IV. Types de culture de pois chiche :

Le pois chiche est une espèce de jours longs. Les photopériodes prolongées et les températures élevées accélèrent les phases de développement végétatif et reproducteur (Summerfield *et al.*, 1984).

Deux types de culture de pois chiche sont pratiqués, notamment le pois chiche d'hiver et le pois chiche de printemps. Ils diffèrent entre eux par les dates de semis en novembre-décembre pour le pois chiche d'hiver et en fin février-début mars pour le pois chiche de printemps (Saccardo *et al.*, 1990). Le cycle de culture est de huit mois pour un semis d'hiver et de trois mois seulement pour un semis de printemps.

Le pois chiche **d'hiver** et le pois chiche de **printemps**. Les dates de semis du pois chiche varient selon le type de culture et les régions bioclimatiques.

V.1 Pois chiche de printemps :

Dans les zones bioclimatiques subtropicales, arides et semi-arides des régions méditerranéennes, le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est semé au printemps (Loomis et Connor, 1992).

Dans le bassin méditerranéen, il est l'unique légumineuse à graines conduite en culture pluviale de printemps (Bamouh *et al.*, 2002). Il est soumis à des contraintes climatiques telles que la sécheresse et la gelée printanières (ICARDA, 1992).

V.2 Pois chiche d'hiver :

Suite à la sélection des variétés résistantes au froid et à l'anthracnose, les premiers essais de culture du pois chiche d'hiver ont été effectués vers 1978 par l'ICARDA (Saccardo et Calcagno, 1990).

Singh *et al.*, (1994) ont indiqué que le semis précoce permet à la culture de pois chiche de profiter des pluies hivernales engendrant un développement végétatif et un rendement meilleurs. En fait, le pois chiche d'hiver a un rendement potentiel plus élevé que celui du pois chiche de printemps (Malhotra, 1998). Néanmoins, le pois chiche d'hiver ne manque pas d'inconvénients. L'occupation du sol est plus longue et les travaux d'entretien, notamment le désherbage, sont multiples. La date du semis du pois chiche d'hiver du type kabuli affecte significativement le cycle biologique de la culture, la production de la matière sèche et le rendement en graines.

L'expression du potentiel génétique du rendement en graines du pois chiche d'hiver, est généralement, plus élevée que celui du pois chiche du printemps (Singh, 1990 *in* Ben Mbarek, 2011).

V. Ennemies de la culture et moyens de lutte :

Le pois chiche (*cicer arietinum*) est sensible à plus de cinquante agents pathogènes (Ayadi, 1986).

Les maladies les plus fréquentes sont L'Anthracnose (*Ascochyta rabiei*) transmis par la semence et les résidus de récolte, pouvant entraîner jusqu'à 80% de perte et le complexe de flétrissement (ensemble de champignons dont surtout *Fusarium oxysporum*) (Melakhessou, 2007).

VI.1 Maladies cryptogamiques :

- l'anthracnose ou l'ascochytose (*Ascochyta rabiei*):

L'anthracnose est due à un champignon : *Ascochyta rabiei* qui provoque des dégâts sur toutes les parties situées au-dessus du sol.

Les moyens de lutte par les techniques culturales en particulier la pratique de rotation, l'enfouissement ou la destruction des résidus de récoltes et l'utilisation de semences saines permettent un certain contrôle de l'inoculum primaire (Ayadi, 1986).

- Moisissure grise (*Botrytis cinerea*)

Une infection à *Botrytis* peut causer la fonte des semis et le dépérissement des fleurs, des feuilles et des gousses. Les baisses de rendement pourraient atteindre 20 %, et la qualité des semences pourrait diminuer en raison de l'altération de leur couleur. (Melakhessou, 2007).

- Pourridié (*Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* et *Pythium spp.*)

Les plantules infectées meurent normalement, tandis que les plantes à maturité qui sont infectées peuvent être rabougries. Chez les types Kabuli et Desi, on peut déplorer jusqu'à 90 % et 30 %, respectivement, de pertes de rendement.

Les mesures de lutte contre la fusariose, qui est transmise par le sol et par la graine, sont le recours à des semences issues de plantes exemptes de maladies, l'enrobage avec des fongicides et l'emploi de cultivars résistants (Melakhessou, 2007).

VI.2 Insectes et nématodes :

- La mineuse du pois chiche :

C'est un diptère dont l'espèce *liriomyza cicerina* responsable des dégâts considérables ayant des répercussions tant sur le plan agronomique qu'économique, en entraînant la diminution du rythme de la photosynthèse. Pour la lutte, il faut recommander des labours profonds après une récolte de pois chiche à fin d'entraver une remontée des adultes lors de leurs éclosion au printemps suivant d'un semis précoce qui peut présenter une solution dans la mesure où il permet d'avoir un végétal suffisamment développé, de bonne vigueur (masse de feuille importante) (Zeghdane, 1988).

- les nématodes à galles (*Meloidogyne javanica*) : Constituent un parasite important du pois chiche (Haware *et al.*, 1998).
- Le foreur des gousses (*Helicoverpa armigera*) et le ver gris (*Agrotis ipsilon*) :

Sont des insectes ravageurs courants du pois chiche en Afrique de l'Est et en Inde. Des insecticides tels que l'endosulfan sont recommandés pour lutter contre ces insectes. Des pratiques de lutte intégrée des ravageurs (IPM), qui comprennent le recours aux cultivars tolérants, la surveillance des populations de ravageurs, les biopesticides et les prédateurs naturels, ont été mises au point pour diminuer la dépendance aux insecticides (Haware *et al.*, 1998).

Les bruches *Callosobruchus* spp. (Charançon) Constituent des ravageurs importants du pois chiche stocké (Haware *et al.*, 1998). Il faut aussi signaler l'effet des pucerons qui sont des vecteurs de maladies virales et bactériennes.

VI.3 Ravageurs vertébrés :

Il n'y a pas de ravageurs vertébrés importants des cultures de pois chiches, bien que les lapins (lièvres) et les cerfs puissent causer des déprédations localisées dans les cultures.

VI.4 Accidents climatiques :

Parmi les accidents culturels possibles ; on note la coulure liée aux conditions climatiques défavorables (gelées tardives, siroco) et le phénomène d'avortement des gousses qui peut commencer environ 15 jours après la floraison (Melakhessou, 2007).

VI.5 Mauvaises herbes :

Le pois chiche est très sensible à la concurrence des adventices, particulièrement au cours des 4–6 premières semaines après le semis. La lutte contre les mauvaises herbes s'effectue d'habitude par des moyens mécaniques. Les populations d'adventices peuvent être élevées si la culture ne reçoit des pluies que tard après le semis ; dans ce cas, il est nécessaire de désherber immédiatement (Hanelt *et al.*, 2001).

Notons que les dégâts engendrés par les mauvaises herbes chez le pois-chiche peuvent atteindre 30 à 50% (Melakhessou, 2007) et que Saxena (1987) a montré que le rendement d'une culture désherbée à la main augmente de 42 % par rapport au témoin non désherbé.

VI. Composantes du rendement :

D'après Ofori (1996 *in* Ben Mbarek *et al.*, 2009), le rendement en grains le plus élevé est prévisible si toutes les composantes du rendement sont à leurs niveaux maximums.

Yousaf *et al.* (1999a ; 1999b *in* Ben Mbarek *et al.*, 2009) ont indiqué que le rendement en grains est un caractère complexe qui résulte de l'interaction d'une multitude de facteurs hautement sensibles aux variations environnementales. Il pourrait être estimé sur la base de la performance d'un certain nombre de composantes morpho-physiologiques et phénologiques telles que la hauteur de la plante, le nombre de branches, de gousses et de graines par plant, la date de floraison et le poids de 100 graines (Singh, 1977 *in* Ben Mbarek *et al.*, 2009). Selon Jain *et al.*, 1991 *in* Ben Mbarek *et al.*, 2009), la combinaison entre ces composantes s'est révélé le meilleur moyen pour l'amélioration du rendement.

Des études ont montrés que l'effet de l'interaction génotype x milieu est significatif pour les quatre composants du rendement (hauteur du plant, nombre de graine par gousse, nombre total de gousse par plant et le calibre de la graine) (Bouri *et al.*, 2019).

I. Génétique de l'espèce :

Le pois chiche est une espèce annuelle, autogame, avec un taux d'allogamie de 2 % diploïde ($2n=2x=16$) avec une taille du génome de 750 MPb.

I.1 Séquençage du génome de pois chiche :

Une équipe internationale de chercheurs agronomes d'Asie, Europe, Australie et Amérique du Nord, menée par l'Institut International de Recherche sur les Cultures des Tropiques Semi-arides (ICRISAT) a annoncé en Janvier 2013 dans le journal Nature Biotechnology le décodage du génome du pois chiche, une légumineuse très importante pour la nutrition des plus pauvres en Asie du Sud et région Méditerranéenne. C'est la troisième légumineuse après le soja, puis le pois cajan en 2011 par ICRISAT et ses partenaires à avoir son génome décodé (ICRISAT ,2013).

Grâce à ce séquençage du génome, les chercheurs ont identifié 28.269 gènes qui font le pois chiche. En analysant le génome de 90 variétés (modernes, locales et homologues sauvages), des gènes candidats ont été identifiés pour la résistance aux maladies principales, la tolérance à la sécheresse et aux fortes chaleurs et une forte précocité. Ces données génétiques vont aider les agronomes à développer des variétés plus résilientes pour s'adapter à des climats plus chauds et plus secs.

I.2 Organisation du génome et évolution :

Approximativement la moitié (49.41%) du génome du pois chiche est composée d'éléments transposables et des répétitions non classifiées, ce qui est comparable a autre légumes séquencées génétiquement. *M. truncatula* (30.5%) (Young., *et al.*, 2011) ; pigeonpea (*C. cajan*, 51.6%) (Varshney,*et al.*, 2012). Et soybean (59%) (Schmutz, J. *et al.*, 2010).des répétitions terminales longues (Long-terminal repeat (LTR)) les retro transposon sont les éléments transposant les plus abondant et couvrent plus de 45% de la totalité du génome de pois chiche.

I.3 Utilité des flux de gènes pour l'amélioration des plantes cultivées :

Le flux de gènes fait allusion aux mouvements de gènes entre des populations de plantes apparentées taxonomiquement, ou l'introduction de gènes d'apparentées au pool de gènes receveur de la plante. Un tel flux de gène peut être induit par l'homme (comme la culture des plantes) ou peut avoir lieu spontanément entre plantes cultivées et plantes sauvages apparentées. Ce dernier phénomène n'a pas été bien clarifié. En utilisant la classification de Harlan et DeWet (1971), il est évident que le flux de gènes peut avoir lieu à différent niveau taxonomiques-intraspécifique, interspécifique.

L'ampleur du flux de gène spontané est gouverné par plusieurs facteurs tel que le système des cultures adopté, la distribution des plantes cultivées et leurs apparentés sauvages, le mode de pollinisation et de dispersion, la conception de la plante, la distance entre plantes, la longévité et la taille de la population (Levin and Kerster, 1974; Klinger *et al.*, 1992; Hamrick *et al.*, 1995). Plus la capacité du flux de gène est limitée plus la différenciation génétique entre population est prédit à augmenter. A cause de quelques barrières, l'espèce sauvage apparentée à plusieurs plantes cultivées (par exemple pois chiche, millet..) sont enfin organisés en sections basés sur leur nombre chromosomique, la morphologie et le pouvoir de croisement avec le cultigène (cultivar) (Wright, 1965).

Pour le moment il y'a deux possibilités de croisement au niveau du genre cicer qui comporte le pois chiche cultivé (*cicer arietinum*) ; pour les 40 espèces du genre cicer, seulement *C. reticulatum* et *C. echinospermum* peuvent être croisé avec le pois chiche cultivé (Singh et Ocampo, 1997) (Muehlbauer *et al.*, 1994)

I.4 Impact de la culture sur la diversité génétique :

Durant la culture, les traits phénotypiques et agronomiques les plus importants chez le pois chiches ont été sélectionnés dans le but de développer des variétés de qualité supérieure avec une meilleure productivité des cultures. En conséquence, la diversité génétique a été perdue à travers la fixation et balayages génétiques (Beaumont et Nichols, 1996).

I.5 Ressources génétiques :

L'ICRISAT (de Patancheru, en Inde) possède une collection d'environ 17 000 entrées de pois chiche, dont un échantillon représentatif ("core collection") de 1956 entrées a été formé. D'autres grandes collections sont conservées par l'ICARDA (environ 10 000 entrées), en Australie (Australian Temperate Field Crops Collection de Horsham, 7700 entrées) et aux Etats-Unis (USDA-ARS Western Regional Plant Introduction Station de Pullman, Washington, 4400 entrées).

II. Amélioration génétique du pois chiche :

L'amélioration génétique du pois chiche vise à obtenir des rendements plus élevés et une meilleure résistance aux maladies, aux insectes et aux autres stress tels que la sécheresse, l'asphyxie racinaire et le froid. Des sources de résistance ou de tolérance ont été identifiées pour les maladies (dont l'ascochytose, la fusariose et la pourriture sèche des racines), les insectes ravageurs (dont le foreur des gousses) et les facteurs de stress abiotiques (tels que le froid et la sécheresse) (Sharma *et al.*, 2004).

les caractéristiques qualitatives comme le calibre de la semence, le volume et le gonflement, la capacité d'enflure l'entreposage, la qualité gustative et la digestibilité ont tous reçu une grande importance dans les mesures d'amélioration des pois chiches.; il y'a aussi une grande considération concernant la valeur nutritive par l'améliorations des plus importants déterminants de qualité chez le pois chiche comme les stéroïdes, flavonoïdes (Sharma *et al.*, 2004).

Dans la sélection du pois chiche, on a recours aux techniques conventionnelles pour les plantes autogames. La mutagenèse a été mise en œuvre pour créer une nouvelle variabilité, par exemple pour la résistance à l'ascochytose (Abbo *et al.*, 2003).

Récemment l'exploitation de la variabilité génétique a viré vers l'inclusion des gènes des espèces proche de *cicer arietinum* (Sharma *et al.*, 2005 b).et l'insertion via la modification génétique (GM) pour différents gènes (Sarmah *et al.*, 2004).

Les deux approches citées ont été utilisés en conjonction avec des approches moléculaires non-GM comme la SAM (sélection assistée par marqueurs) (Sharma *et al.*, 2004), test d'hybridation (Winter *et al.*, 1999), cartographie moléculaire la sélection background et l'identification des gènes.

II.1 Travaux réalisés en amélioration génétique :

Le pois chiche cultivé (*Cicer arietinum* L.) est une espèce annuelle. Cubero (1975) a identifié 2 groupes basés sur la taille des graines (Macrocarpa et Microcarpa) dans le sous-continent indien et au niveau de l'ICRISAT. Les Macrocarpa (grosses graines) sont rattachées au type Kabuli et Microcarpa (petites graines) au type Desi, kabuli et Desi ont un intérêt immédiat pour l'amélioration génétique de l'espèce (Auckland et Van Der Maesen 1980 ; Saxena, 1984).

Des espèces sauvages de *Cicer* ont été employées dans des programmes d'hybridation interspécifique, mais les espèces vivaces n'ont guère été utilisées dans l'amélioration du pois chiche. Les techniques de croisement du pois chiche sont fastidieuses. Dans le système GCRAI, ce sont l'ICARDA et l'ICRISAT qui contribuent à l'amélioration du pois chiche.

Les seuls programmes nationaux importants concernant le pois chiche dans la région subsaharienne sont ceux menés par l'Ethiopie et le Soudan, qui ont fait beaucoup de progrès dans la mise au point de cultivars à haut rendement et résistants aux maladies, destinés à une production commerciale. En Ethiopie, 10 cultivars (5 du type Kabuli et 5 du type Desi) ont été mis sur le marché, et plus de 7 cultivars ont été promus par la vulgarisation pour leur multiplication. Le Kenya a mis sur le marché un seul cultivar, issu de ressources génétiques venant de l'ICRISAT (Bejiga *et al.*, 1996) .

Plusieurs caractéristiques sont a mis en considération pour des projets d'amélioration génétique du pois chiche ; par exemple le rendement qui est basé entièrement sur la sélection de traits quantitatives tandis la résistance à l'antracnose est apparue contrôlée par les deux facteurs qualitatifs et quantitatives. Environ 50% des pertes de rendement sont causés par les stress biotiques et abiotiques. Un programme de sélection pour le pois chiche a été adopté par l'ICRISAT et ICARDA. Pour coordonner la recherche et éviter la duplication, les conditions agro-écologiques ont largement été prises en considération pour déterminer la tache de chaque institut. De ce fait, l'ICRISAT a la responsabilité du type Desi et ICARDA du Kabuli (ICRISAT, 2013).

La réduction des rendements dus au stress biotiques sont nombreux. Plus de 50 pathogènes ont été attribués à cette plante. Les maladies économiquement importantes sont : *Ascochyta rabiei*, *Fusarium oxysporum f. sp. Ciceris* F, *Rhizoctonia bataticola*, *Botrytis cinerea*, *rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *alternaria alternata*, et le rabougrissement du au virus d'enroulement des feuilles du petit pois (Reddy et Nene 1987). Parmi ces espèces *A.rabiei*, *F. oxysporum*, *R. bataticola*, *B cinera* et le rabougrissement sont les facteurs limitatifs de rendement les plus importants.

Des sources de résistance ont été déjà identifiées et le criblage pour la résistance aux maladies continue à l'ICRISAT et aussi à l'ICARDA. Par exemple ; à l'ICRISAT, plus de 800 croisements ont été réalisés sur plusieurs lignées résistantes et sont en essai d'évaluation de rendement. La résistance au *F. oxysporum f. sp. Ciceris* a été transféré de Desi à Kabuli (ICRISAT, 2013).

II.1.1 Exemple : L'amélioration de la résistance à l'ascochytose :

L'amélioration de la résistance à l'ascochytose a été un objectif majeur dans des programmes de sélection de pois chiches dans de nombreux pays, tels que l'Inde, la Syrie, le Canada, les États-Unis, l'Australie. L'identification des sources de résistance et le criblage pour la résistance aux maladies continue à l'ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics) en Inde.

Les sources de résistance les plus utilisées sont fournies par ICRISAT en Inde et ICARDA, (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas), Syrie (actuellement au Liban).

En Australie, la première variété diffusée avec un niveau modéré de résistance à l'*Ascochyta rabiei* était "Howzat" en 2001 (Mamta, 2016). Les sélectionneurs de l'ICRISAT et de l'ICARDA ont créé une gamme de lignées du type Desi et Kabuli avec des niveaux de résistance. L'ICRISAT possède une collection de plusieurs centaines de lignées résistantes à six races physiologiques d'*Ascochyta rabiei* obtenue après évaluation de 12000 entrées (ICRISAT, 2003). L'ICARDA a également évalué plus de 1600 lignées résistantes à *Ascochyta rabiei*. L'application de ces lignées dans des programmes nationaux de 12 pays aboutit finalement à l'obtention de 39 cultivars résistants (ICARDA, 2000) cité par Kanouni et al en 2011. Ces programmes d'améliorations ont permis d'obtenir des variétés résistantes à *Ascochyta rabiei* dans différents pays.

II.2 Outil pour l'amélioration génétique du pois chiche :

Le programme d'amélioration des pois chiches a été focalisé sur la recherche des potentialités génétiques de la plante par la réalisation des combinaisons génétiques qui offrent les possibilités de résister au stress biotiques et abiotiques. En particulier la plante est très sensible aux maladies cryptogamiques (fusariose, flétrissements et l'anthracnose).

L'utilisation de la diversité génétique dans un programme de sélection passe inévitablement par son estimation et par le choix du type de marqueur susceptible de la traduire le plus fidèlement possible. Trois types sont largement utilisés pour l'évaluation de la variabilité génétique, à savoir les marqueurs morphologiques, les marqueurs biochimiques et les marqueurs moléculaires (Mebarek, 2010).

II.2.1 Polymorphisme de la plante :

Le polymorphisme génétique d'une population représente la réserve de variabilité nécessaire qui permet à la population de s'adapter à de nouvelles conditions du milieu. La variabilité génétique reste, donc, le garant de la colonisation d'habitats marginaux par les espèces polymorphes (Rognon et Verrier, 2005).

Comme étape initiatrice vers l'élargissement de la diversité génétique du pois chiche et afin d'accomplir des meilleurs rendements, des avancées ont eu lieu concernant la compréhension des structures de la variation génétique naturelle qui existent au sein et entre les différents cultivars disponibles.

II.2.2 Marqueurs génétiques :

Il existe plusieurs types de marqueurs à savoir les marqueurs morphologiques, les marqueurs biochimiques et les marqueurs moléculaires. Ces derniers ont le potentiel d'exister en nombre illimité, couvrant le génome entier et ils ne sont pas influencés par l'environnement (Samouelian *et al.*, 2009 *in* Hejjaoui, 2013). Ils sont indépendants de l'organe analysé et du stade de développement de la plante ce qui les rend plus fiables ainsi qu'ils sont adoptés pour toutes les études de génétique des populations et d'écologie (Haig, 1998 *in* Hejjaoui, 2013), contrairement aux marqueurs biochimiques qui sont faiblement polymorphes et aux marqueurs morphologiques qui sont très limités et peuvent être influencés par l'environnement.

Un marqueur génétique « idéal » doit être :

- Polymorphe : la « matière première » du généticien est la variabilité.
- Multi-allélique.
- Co-dominant : l'hétérozygote présente simultanément les caractères des deux parents homozygotes ; il peut donc être distingué de chacun des homozygotes parentaux.
- Non épistatique : son génotype peut être « lu » à partir de son phénotype quel que soit le génotype aux autres locus. La codominance et la non épistasie peuvent être respectivement définies comme l'absence d'interactions intra et inter locus.
- Neutre : une substitution des allèles au locus marqueur n'a pas d'autres effets phénotypiques que ceux qui permettent de déterminer son génotype ; un marqueur neutre révèle, directement, les modifications génétiques qu'elles se traduisent ou non par une modification phénotypique.

- Insensible au milieu : Le génotype peut être déduit du phénotype indépendamment du milieu. (De Vienne *et al.*, 1998) (Ferreira et Grattapaglia, 1998),
- Facilement observable et sans ambiguïté,
- Reproductible d'une expérience à une autre (Ferreira et Grattapaglia, 1998).

II.2.2.1 Marqueurs morphologique :

Représenté par le phénotype, qui est l'aspect observable de l'individu, Conditionné par son génotype et le milieu environnant. Le phénotype nous donne accès à la variabilité des gènes induisant des variations sur les caractères observés. Ces caractères peuvent être à déterminisme simple (gouvernés par un seul locus, voire deux, et ne sont pas influencés par le milieu), l'interprétation de la variabilité observée est alors aisée mais ne concerne que le ou les quelque(s)gène(s)responsable(s). Le passage de la variabilité observée à la variabilité génétique nécessite de prendre en compte correctement les effets du milieu. Par ailleurs, les caractères mesurés sont souvent soumis à la sélection (Rognon et Verrier, 2005).

Les variétés ou écotypes locaux ont fait l'objet de nombreuses études physiologiques et morphologiques destinées sur tout à approfondir la connaissance des mécanismes impliqués dans la tolérance au stress biotique et abiotique.

II.2.2.2 Marqueurs biochimiques :

Les protéines d'une cellule végétale peuvent facilement être extraites et analysées. Les marqueurs biochimiques les plus utilisés sont les isozymes. Ils correspondent aux différentes formes d'une même enzyme et permettent de déterminer la présence de l'allèle correspondant à chacune de ces formes. Dans ce sens, ce sont des révélateurs du polymorphisme entre individus pour les séquences codantes du génome (Bretting *et* Widrlechner, 1995).

II.2.2.3 Marqueurs moléculaires :

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte (Bretting *et* Widrlechner, 1995 ; De Vienne, 1998). Ces marqueurs sont les plus étudiés, ils représentent des séquences codantes ou non, présentant un polymorphisme selon les individus.

Il existe de nombreuses techniques de marquage moléculaire parmi lesquelles on trouve celles basées sur l'hybridation moléculaire (RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism : Polymorphisme de longueur des fragment de restriction), et des techniques basées sur la PCR ((les microsatellites ou SSR : Simple Sequence Repeat), (RAPD : Random-Amplified Polymorphic : ADN polymorphes

amplifiés aléatoirement), (AFLP : Amplification Fragment Length Polymorphism : Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés)).

II.2.2.3.1 Les marqueurs moléculaires comme outil d'aide aux programmes de sélection :

Bien que la sélection classique ait obtenu des résultats encourageants, elle ne parvient plus aujourd'hui à évoluer aussi rapidement. L'amélioration porte maintenant sur des caractères très complexes, présentant un marqueur moléculaire est un locus génétique qui renseigne sur le génotype de l'individu (utilisation en génétique des populations) ou sur le génotype des locus voisins (utilisation en sélection assistée par marqueurs). Le principal intérêt des marqueurs moléculaires est leur insensibilité au milieu, c'est-à-dire que le génotype peut être inféré à partir du phénotype, quelles que soient les conditions environnementales. (Julio, 2005)

Il existe plusieurs types de marqueurs, que l'on peut classer en fonction du polymorphisme qu'ils détectent. Certaines techniques ont l'avantage de révéler de nombreux fragments simultanément, ce sont des techniques de révélation « en masse » de polymorphisme. Il existe aussi des stratégies permettant de détecter du polymorphisme de façon individuelle. Elles nécessitent une certaine connaissance de la séquence d'ADN, comme pour la fabrication des sondes en RFLP (Julio, 2005).

a. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

Les marqueurs AFLP sont basés sur le polymorphisme de position des sites de restriction d'enzymes (Vos *et al.*, 1995). Elle combine à la fois la puissance de la RFLP avec la flexibilité des techniques basées sur la PCR, dans des conditions de haute stringence. De plus, l'utilisation de deux amorces correspondant à des adaptateurs permet d'obtenir une bonne reproductibilité (Lin et Kuo, 1996), ce qui fait d'elle une technique de choix dans la recherche de marqueurs polymorphes.

Nguyen *et al.*, (2004) ont détecté 102 loci polymorphes AFLP parmi les accessions de *cicer pinatifidium*, avec un total de diversité de gène $h=0.126$, tandis que seulement 20 loci polymorphique AFLP étaient détectés parmi les accessions de *cicer arietinum*.

Singh *et al.* (1994) ont reporté que plusieurs espèces de cicer contiennent des sources de résistance contre divers pathogènes, en particulier, les accessions de espèces annuelles sauvages *C. pinnatifidium*, *C. judaicum*, *C. bijugum* et *C. echinospermum* ont montré un certain niveau de résistance contre *Ascochyta rabiei* (Singh *et al.*, 1981; Haware *et al.*, 1992; Stamigna *et al.*, 1998 ; Collard *et al.*, 2003; Nguyen *et al.*, 2005).

En 2003 Berger *et al.*, ont trouvé que 11 accessions parmi 56 des espèces de cicer estimées contiennent un niveau modéré à élevé de résistance contre un isolat australien agressif de *A. rabiei*. Les espèces intéressantes sont; *C. pinnatifidum* accessions (ATC 48694, ATC 46901, ATC 46960), *C. echinospermum* accession (ATC42328) et *C. judaicum* accession (ATC46864) originaire de la Turquie, les autres résistants sont: *C. judaicum* accessions originaire de la Syrie (ATC 46868, ATC 46934, ATC 46935), Palestine (ATC 46892, ATC 46899) et la Jordanie (ATC46893) (Nguyen *et al.*, 2005).

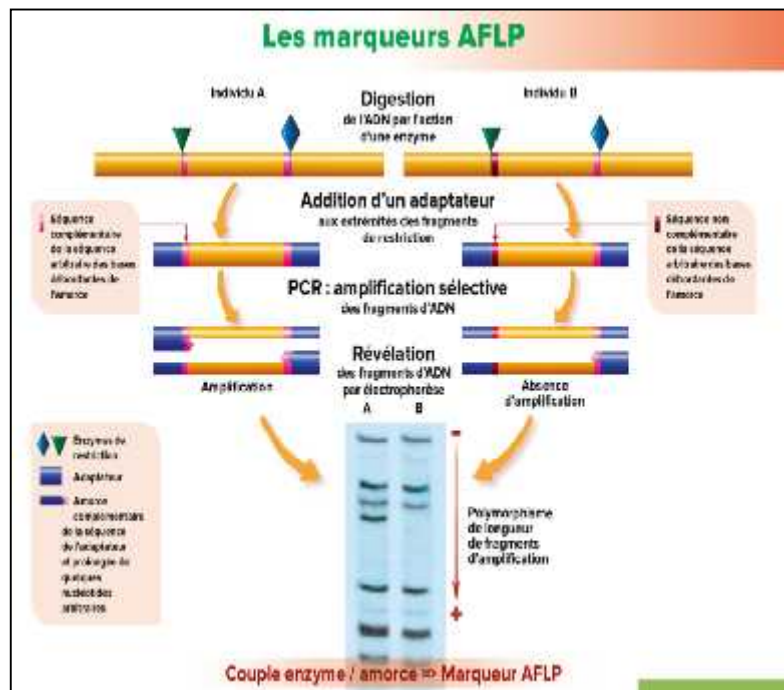


Figure n°11 : Marqueur AFLP. (GNIS,2020)

b. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism):

Le polymorphisme de longueur de fragment de restriction est basé sur le principe de l'hybridation moléculaire. Il est généré suite à l'hydrolyse par une endonucléase de restriction. Le polymorphisme est révélé après hybridation d'une sonde marquée sur les fragments séparés par électrophorèse sur gel et transférés sur membrane par technique de Southern. (Melake, 2000).

La technique RFLP repose sur la digestion d'un ADN cible par une ou plusieurs enzymes de restriction spécifiques des sites de restriction portés par l'ADN. Après électrophorèse, les fragments séparés sont hybridés avec un ADN sonde, provenant souvent de banques de ADN génomique ou complémentaire. Cette sonde peut provenir d'une espèce proche de l'espèce à étudier.

Par exemple, un événement simple comme la substitution d'un seul nucléotide peut distinguer entre deux génotypes. Quand une substitution de base élimine un site de restriction, il modifie la longueur de fragment d'ADN qui peut être détectée par cette méthode. Elle représente donc un marqueur discret qui est directement représentative du génotype d'un individu. (Melake, 2000).

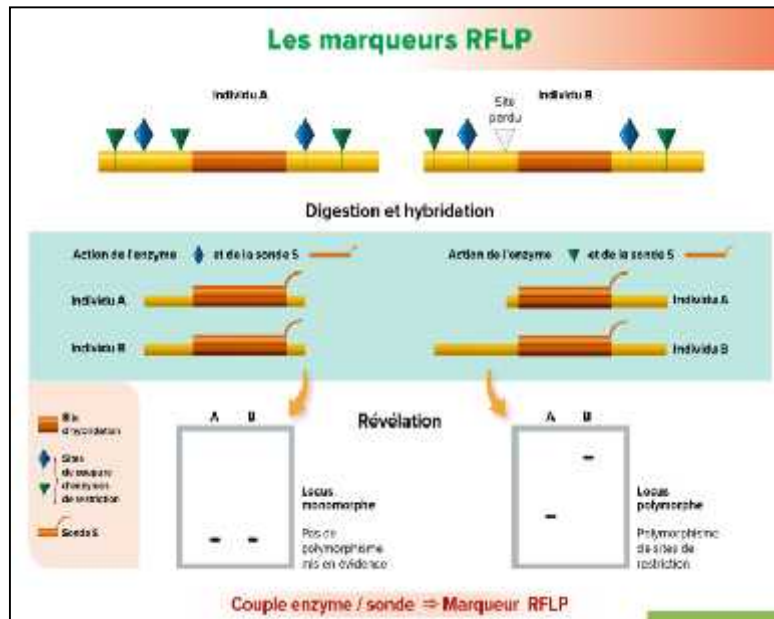


Figure n°12: marqueur RFLP (GNIS ,2020).

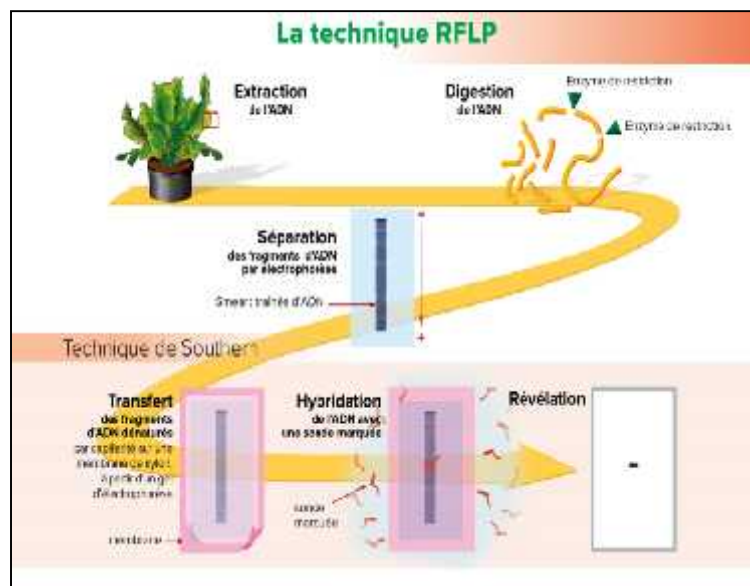


Figure n°13 : technique RFLP (GNIS,2020).

c. RAPD (Random-Amplified Polymorphic DNA) :

La technique RAPD est l'une des méthodes les plus utiles pour identifier le polymorphisme génétique d'organismes vivants (Hartl, 1988 ; Williams *et al.*, 1990) ont décrit un nouveau marqueur génétique inspiré de la PCR permettant l'amplification au hasard de segments d'ADN de l'ordre du nano-gramme en utilisant une seule amorce de petite taille (généralement 10 nucléotides) (GNIS,2020)

Ils ont appelé cette technique RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, polymorphisme d'ADN par amplification aléatoire) ou AP-PCR (Arbitrary Primed PCR) développée simultanément par Welsh et McClelland (1990). La technique RAPD est une méthode simple qui consiste en une amplification enzymatique de l'ADN à l'aide d'amorces de petite taille choisie aléatoirement. Elle demande peu d'investissement technique et permet d'obtenir rapidement des fragments variés d'ADN génomique fournissant beaucoup de polymorphisme (Lynch et Milligan, 1994; Hadrys *et al.*, 1992). Les produits d'amplification sont généralement séparés sur gel d'agarose et révélés avec du bromure d'éthidium (Bardakci, 2001).

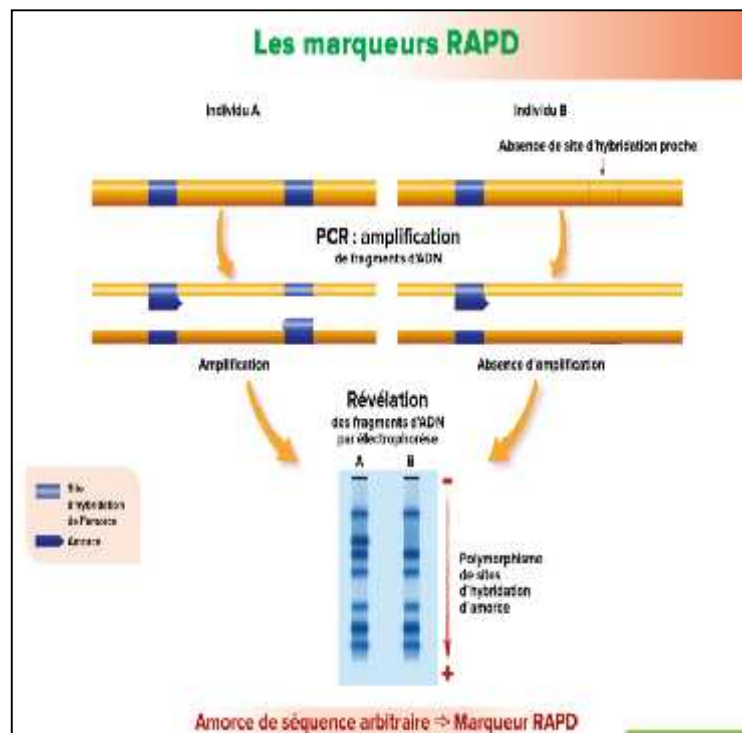


Figure n°14 : Marqueurs RAPD (GNIS, 2020).

d. STMS (sequence tagged microsatellitesite) :

Le pois chiche est une espèce annuelle, autogame, diploïde ($2n=2x=16$) avec une taille du génome de 750 Mpb (Hüttel *et al.*, 1999) un peu moins en la comparant avec la taille génomique de la tomate qui est de 950 Mpb et qui fut bien caractérisé sur le plan génétique auparavant. Supposant la même combinaison que celle réalisé pour la tomate, un cM de distance génétique chez le pois chiche peut évaluer 500Kpb de distance physique. Donc; 70 à 100 marqueurs moléculaires bien répartis sur le génome peuvent suffire pour la détection de locus particulier dans le génome du pois chiche.

Le développement majeur des cartes génétique pour le genre cicer a concerné la caractérisation des séquences des paires d'amorces (sequence tagged microsatellitesite (STMS)), qui ont prouvés l'existence d'un certain polymorphisme chez le pois chiche dans un niveau intraspécifique (Hüttel *et al.*, 1999; Winter *et al.*,1999). Les marqueurs générés par la STMS sont particulièrement convenables pour l'analyse génétique.

En dépit d'être hautement polymorphique, les marqueurs STMS sont basés sur la PCR, représentent un seul locus, généralement codominant, peut utiliser des isotopes non radioactifs de détection et offrent la possibilité d'application chez les plantes cultivées (Mansfield *et al.*,1994).

174 STMS loci sont caractérisés a partir du génome du pois chiche et ont prouvés le fait d'être polymorphiques dans un niveau intraspécifique (Hüttel *et al.* 1999; Winter *et al.* 1999).

Winter *et al.*, (2000) ont démontré la convenance des marqueurs STMS chez le pois chiche afin de réaliser des cartes génétiques pour les populations de *C.arietinum* et *C.reticulatum*.

e. SSR (Simple Sequence Repeat) :

Les microsatellites sont de courts segments d'ADN composés de séquences répétées en tandem d'un motif de 2 à 6 paires de bases (suivant les définitions) que l'on peut amplifier par PCR. Le polymorphisme détecté est un polymorphisme de longueur : Un allèle donné correspondra le plus souvent à un nombre de répétition (en théorie) déduit de la taille d'amplification (en pratique) (Hüttel *et al.*, 1999; Winter *et al.*,1999). Autrement dit les microsatellites ou SSR (Morgante et Olivieri, 1993). Ils 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. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide. Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, Co-dominants et facilement utilisables), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde. En effet,

leur production doit passer d'abord par le clonage et le séquençage de ces éléments répétés. (GNIS, 2020).

Ces répétitions sont très polymorphes, même parmi les cultivars étroitement liées, en raison de mutations qui provoquent des variations dans le nombre d'unités répétitives. Contrairement aux autres techniques de marqueurs basés sur la PCR, les microsatellites sont hérités de façon co-dominant. Cela permet de discriminer entre homozygote et l'état hétérozygote, et augmente l'efficacité de la cartographie génétique et les études de génétique des populations. (GNIS,2020).

➤ **Polymorphisme de nombre d'unités de répétition**

Sur le génome, il existe des séquences constituées d'unités répétées de 1 à 4 nucléotides. Ce sont les microsatellites. Les plus courants sont $(A)_n$, $(TC)_n$, $(TAT)_n$ et $(GATA)_n$, les valeurs de n pouvant aller de quelques unités à plusieurs dizaines. On parle de séquences répétées en tandem ou SSR (Simple Sequence Repeats). L'intérêt de ces microsatellites réside dans leur polymorphisme. Celui-ci repose sur la variation du nombre d'unités de répétition, constituant le microsatellite. (GNIS, 2020).

➤ **Les étapes de la technique**

La technique de PCR est utilisée pour révéler le polymorphisme des microsatellites. Une paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche d'un microsatellite est utilisée pour amplifier le même microsatellite chez différents individus. En effet, chaque microsatellite est bordé par des séquences uniques qui lui sont propres. (GNIS, 2020).

Les fragments d'amplification sont ensuite révélés par électrophorèse. Un individu B, possédant plus d'unités de répétition que A, a un produit d'amplification distinct et qui migre plus lentement que A.

➤ **Création de marqueurs**

C'est la paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur.

➤ **Utilisation de la technique**

Il faut connaître, synthétiser et tester les amorces bordant le microsatellite. Cette technique est simple d'utilisation car repose simplement sur une PCR. Elle permet de développer de nombreux marqueurs, notamment pour le maïs ou le colza. Toutefois, elle n'est pas applicable à toutes les espèces, la tomate par exemple ne possède pas de polymorphisme pour les microsatellites (GNIS, 2020).

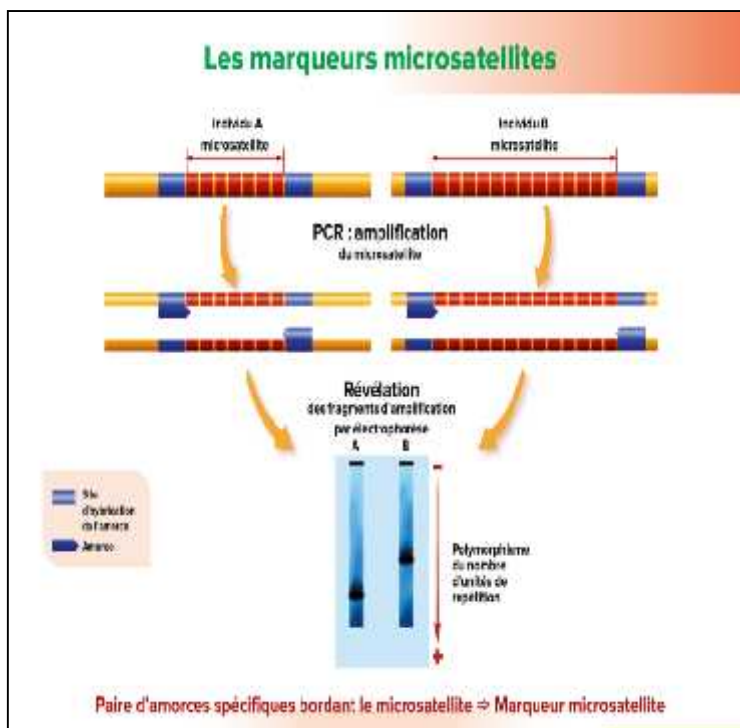


Figure n° 15 : Etapes de la technique SSR. (GNIS, 2020).

f. Techniques de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) :

La Polymerase Chain Reaction (PCR) est une technique permettant d'amplifier *in vitro* des séquences d'ADN par répétition de réactions d'élongation en présence d'amorces nucléotiques spécifiques et d'une ADN polymérase (Tagu et Moussard, 2003). Cette technique, créée par Saiki et *al.* (1985), est devenue la base de nombreux marqueurs moléculaires. Son principe est relativement simple, basé sur une amplification enzymatique de l'ADN (White et *al.* 1989; Vekemans et Jacquemart, 1997, Claros et Quesada, 2000).

La technique PCR utilise les éléments de base de la duplication naturelle de l'ADN, mais en réalisant seulement la duplication et l'amplification de courts fragments de la molécule d'ADN, dans une simple solution qui permet l'amplification.

Le processus démarre avec une augmentation de température généralement entre 90 et 95°C pour dénaturer ou séparer les deux brins d'ADN. Puis la température est ramenée approximativement entre 35 et 70°C, afin que les amorces trouvent les emplacements cibles. Une fois l'hybridation réalisée, la copie par la *Taq* polymérase commence. La température est ensuite remontée pour entamer un nouveau

cycle, lequel sera répété un certain nombre de fois selon les nécessités de l'étude et la technique à employer. On obtient finalement un produit spécifique amplifié, lequel sera révélé par électrophorèse sur gel (Vekemans et Jacquemart, 1997, De Vienne 1998, McPherson et Moller, 2000).

➤ **Réalisation de la PCR :**

La PCR permet d'amplifier une séquence spécifique d'ADN dans un mélange réactionnel approprié (Master Mix). Ce mélange contient :

- **l'enzyme Taq polymérase** : c'est une polymérase thermostable, extraite d'une bactérie (*Thermus aquaticus*) des sources chaudes (80-90°C). Elle permet la synthèse des nouveaux brins d'ADN lors de l'amplification.
- **les nucléotides triphosphates** : ce mélange contient les différentes bases A, T, G, C sous la forme ATP, TTP, CTP, GTP.
- **les ions magnésium** : ils servent de stabilisateurs pour les nucléotides et activent l'enzyme. Ne pas mettre de MgCl₂ augmente l'astringence de la réaction
- **les amorces (primers)** : Pour parvenir à amplifier sélectivement des séquences nucléotidiques à partir d'un extrait d'ADN par PCR, il est indispensable de disposer d'au moins une paire d'oligonucléotides. Ces oligonucléotides, qui vont servir d'amorces pour la réplication, sont synthétisés par voie chimique et doivent montrer la meilleure complémentarité possible avec les deux extrémités de la séquence d'intérêt que l'on souhaite amplifier.

La PCR permet donc d'obtenir par réplication in vitro de multiples copies d'un fragment d'ADN à partir d'un extrait. L'ADN matriciel peut tout autant être de l'ADN génomique que de l'ADN complémentaire obtenu par RT-PCR à partir d'un extrait d'ARN messagers (ARN poly-A), ou encore de L'ADN mitochondrial.

➤ **Étapes de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) :**

Les tubes contenant le mélange réactionnel sont soumis à des cycles de température recommencés plusieurs dizaines de fois dans le bloc chauffant d'un thermocycleur (appareil qui comporte une enceinte où l'on dépose les tubes échantillons et dans laquelle la température peut varier, très rapidement et précisément, de 0 à 100°C par effet Peltier ou bien effet thermoélectrique). L'appareil permet la programmation de la durée et de la succession des cycles de paliers de température. Chaque cycle comprend trois périodes de quelques dizaines de secondes (Le penneec & Beninger, 1991).

- **La dénaturation (94°C) :** La première période s'effectue à une température de 94°C, dite température de dénaturation. À cette température, l'ADN matriciel, qui sert de matrice au cours de la réplication, est dénaturé : les liaisons hydrogène ne peuvent pas se maintenir à une température supérieure à 80°C et les ADN double-brin se dénaturent en ADN simple-brin (ADN monocaténares).
- **L'hybridation (40 – 70°C) :** La deuxième période s'effectue à une température généralement comprise entre 40 et 70°C, dite température d'hybridation des amorces. La diminution de la température permet aux liaisons hydrogène de se reformer et donc aux brins complémentaires de s'hybrider. Les amorces, courtes séquences monocaténares complémentaires de régions qui bordent l'ADN à amplifier, s'hybrident plus facilement que les longs brins d'ADN matriciel. Plus la température d'hybridation est élevée, plus l'hybridation est sélective, plus elle est spécifique.
- **L'élongation (72°C) :** La troisième période s'effectue à une température de 72°C, dite température d'élongation. À 72°C, la Taq polymérase se lie aux ADN monocaténares amorcés et catalyse la réplication en utilisant les désoxyribonucléosides triphosphates présents dans le mélange réactionnel. Les régions de l'ADN matriciel en aval des amorces sont ainsi sélectivement synthétisées.

Au cycle suivant, les fragments synthétisés au cycle précédent servent à leur tour de matrice et au bout de quelques cycles, l'espèce prédominante correspond à la séquence d'ADN comprise entre les régions où les amorces s'hybrident. Il faut compter 20 à 40 cycles pour synthétiser une quantité analysable d'ADN (environ 0,1 microgramme). Chaque cycle va théoriquement doubler la quantité d'ADN présente au cours du cycle précédent.

Il est recommandé de rajouter un cycle final d'élongation à 72°C, notamment lorsque la séquence d'intérêt est de grande taille (supérieure à 1 kilobase), à raison de 2 minutes par kilobase.

➤ **Limites de la PCR :**

La séquence nucléotidique du fragment à analyser doit être connue au niveau des régions d'amorçages. Si celles-ci sont inconnues, il est possible de contourner le problème en clonant le fragment dans un vecteur tel qu'un plasmide ou bactériophage. La séquence connue du vecteur sera utilisée pour choisir les amorces.

La taille maximale du fragment est de quelques kilobases. Si celle-ci est exagérée, nous assisterons à des phénomènes perturbateurs tels que des interruptions prématurées dues à des formations de structures secondaires, des rapprochements des fragments entre eux (Le penneec & Beninger, 1991).

Les contaminations sont très vite envahissantes. Il est donc conseillé d'utiliser une pièce pour la préparation des réactifs et une autre indépendante de la première pour effectuer la PCR elle-même.

L'amplification n'est pas de 2^n comme le sous-entend la théorie mais dans les environs de 1.6^n à 1.85^n .

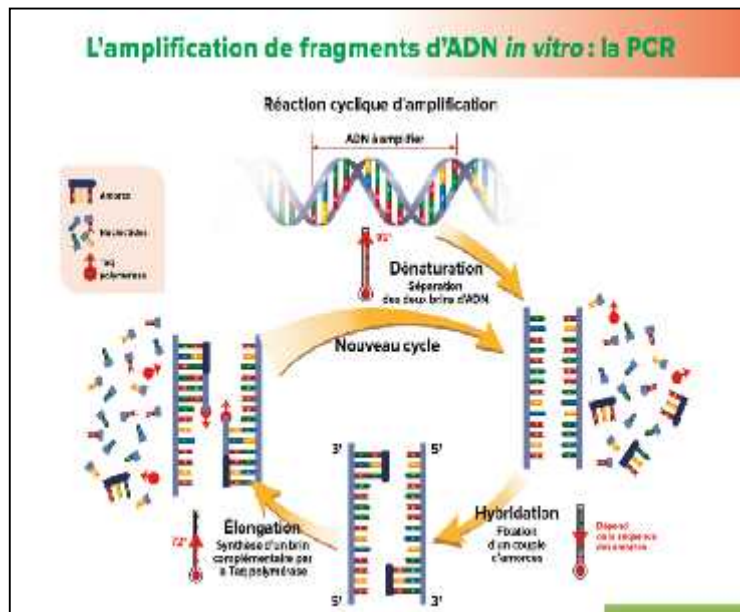


Figure n°17 : la technique d'amplification de fragment d'ADN par PCR (GNIS, 2020).

EXPERIMENTATION

I. Objectifs du travail :

L'objectif global de cette étude vise à caractériser les cultivars de pois chiches « *cicer arietinum* » locales et introduits au niveau de l'Oranie.

Plus explicitement les objectifs à atteindre sont :

- L'identification du matériel végétal local et introduit (par la prospection et la collecte),
- L'estimation de l'état de ressources génétique de l'espèce *Cicer arietinum* au niveau de la zone d'étude,
- La connaissance des potentialités agronomiques (comportement phytotechnique de divers variétés, rendement et productivité.),
- Une approche révélatrice de la variabilité génétique existante au sein de différentes accessions récoltées par l'utilisation de vingt marqueurs moléculaires SSR et la détermination des paramètres de la diversité génétique.

II. Matériels végétal et site de collecte :

La prospection sur terrain dont le but de la collecte des graines de pois chiche à travers la zone d'étude (Oranie) s'est à la fin terminée par l'obtention de dix accessions de pois chiches. La récupération des échantillons de graines au cours de l'année 2015-2016 a été faite au niveau de l'office algérien interprofessionnel des céréales (L'OAIC), de la wilaya de Tlemcen ; l'institut technique des grandes cultures (ITGC) et l'institut national de la recherche agronomique (INRA) de Sidi Bel Abbès ; OAIC de Ain Temouchent et d'Oran).



Figure n° 17 : aire d'étude et de prospection

Le matériel végétal qui a fait l'objet de cette étude est constitué de 10 accessions de pois chiche dont 3 sont, des populations locales (GARBANSA (9), BLED (6) et F1030), 4 variétés (variétés lignées,) introduites provenant de la Syrie (ICARDA) (FLIP82-93 C , FLIP 84-92 C, FLIP 92 13 C, FLIP 93-93 C) , une autre variété originaire de la Turquie (ILC 482 ou CHETOUI) (introduite de la Syrie, ICARDA), une variété locale originaire de l'Italie (non cultivée en Algérie) et une autre provenant de l'Espagne (non cultivée en Algérie) . (Tableau 9) (Figure 18).

Pour les échantillons ; nous avons collecté les graines des 10 géotypes de pois chiche et par la suite nous avons réalisé le semis des graines afin de pouvoir isoler l'ADN qui a servis à nos analyses moléculaires.

Tableau n°9 : Accessions de pois chiche récoltées

N°	Accessions :	Provenance	Origine	Type	Couleur de la graine	Forme de la graine	Texture de la graine
1	GARBANSA (9)	Locale	Algérie	Kabuli	Crème- crème foncé (mélange de couleur et de forme)	Ronde à angulaire	Tuberculeuse
2	CECE NERO	Locale	Italie	Desi	Noire	Angulaire	Rugueuse
3	BLED (6)	Locale	Algérie	Kabuli	Crème	Ronde à angulaire	Tuberculeuse
4	FLIP 82-93 C	Variété Introduite	Syrie (ICARDA)	Kabuli	Crème	Ronde à angulaire	Rugueuse
5	FLIP 84-92 C	Variété Introduite	Syrie (ICARDA)	Kabuli	Crème	Ronde à angulaire	Moyennement rugueuse
6	ILC 486 (Chetoui)	Variété introduite de la Syrie (ICARDA)	Turquie	Gulabi	blanc-crème	Ronde à angulaire à bec	Lisse
7	FLIP 92 13 C	Variété Introduite	Syrie (ICARDA)	Kabuli	Crème	Ronde à angulaire	Moyennement rugueuse
8	FLIP 93-93 C	Variété Introduite	Syrie (ICARDA)	Kabuli	Crème	Ronde à anguleuse	Moyennement rugueuse
9	F 10 38	Locale	Algérie	Kabuli	Crème	Ronde à angulaire	Tuberculeuse
10	ESP1	Variété	Espagne	Kabuli	Blanc-crème	Ronde à angulaire	Tuberculeuse



FLIP 92 13 C



FLIP 82 93 C



CECE NERO



GARBANSA (9)



BLED (6)



ILC 482

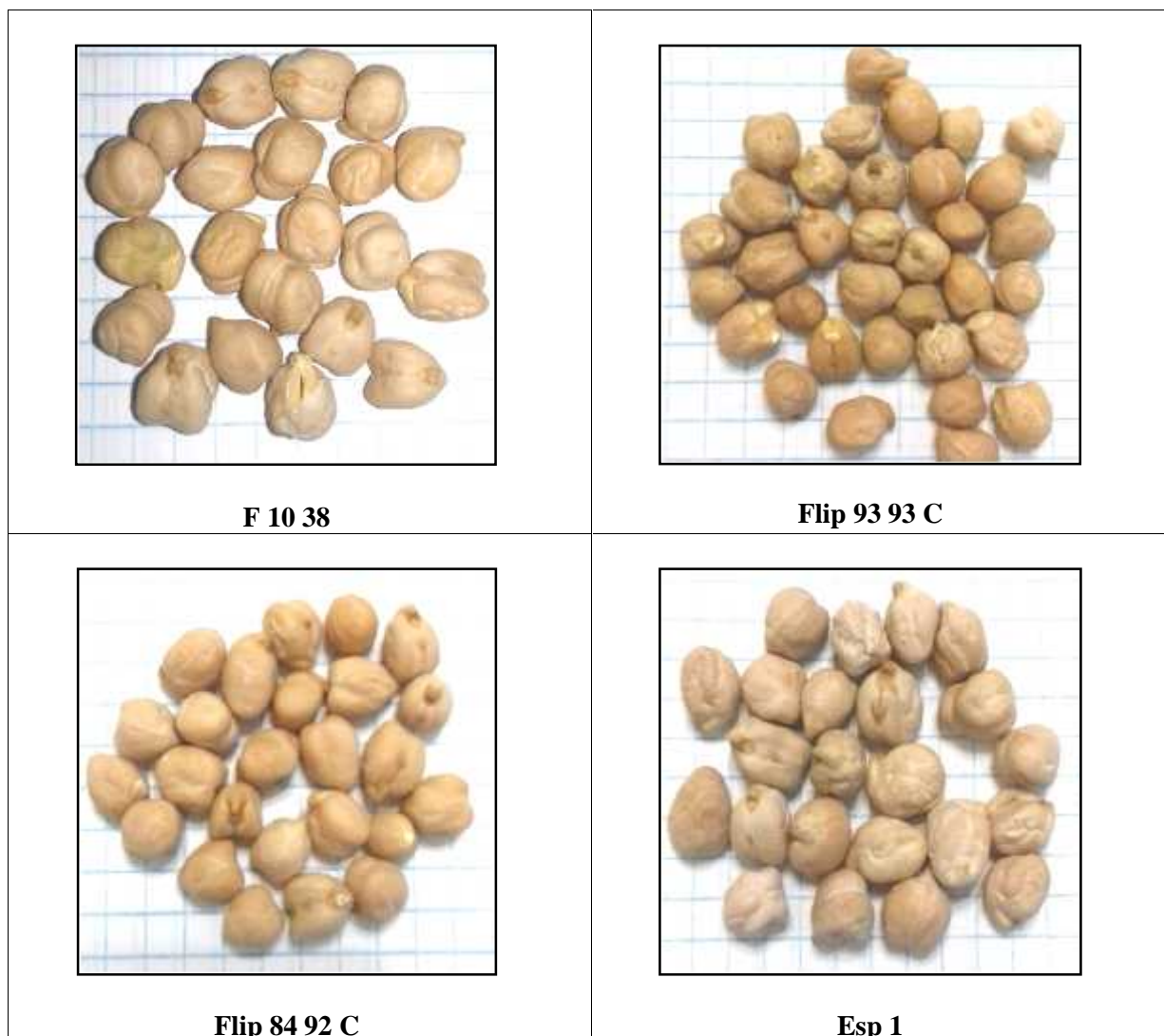


Figure n°18 : *Photo des graines des accessions de pois chiche récoltées*

III. Mise en place du semis :

Les graines de pois chiche de chaque accession récoltées suite à nos différentes prospections sur le terrain ont été cultivées dans des blocs randomisés dans les fermes de recherche du département de la sélection végétale du Centre international de recherche agronomique pour les zones arides - Maroc (ICARDA).

Ces graines sont semées dans des pots moyens en effectuant des trous d'environ 3 à 4 cm de profondeur et à raison d'une seule graine par trou. Les pots sont disposés dans une serre et sous conditions contrôlées (température 28°C, photopériode : 12 heures).

Lorsque les plantes atteignent le stade de trois feuilles (jeunes plantes âgées de trois à quatre semaines), ces dernières sont prélevées et mis directement dans la glace afin d'éviter un problème de phénols qui rend l'ADN sombre au cours de l'extraction.

IV. Analyse moléculaire :

Afin de réaliser la caractérisation génétique de ces accessions de pois chiche on fait appel à l'utilisation des marqueurs moléculaires du type SSR (Short Sequences repeat).

Dans la présente étude, un total de 20 marqueurs SSR a été initialement sélectionné pour réaliser le génotypage ((TA113, TA 27, TA 46, TA 22, TA76, TA72, TA118, TA 117, TA135, TA142, TA116, TA 130, TA 58, TA64, TA14, TA28, TA 21, TA 71, TA206, TA200).

Les marqueurs SSR ont été développés à partir d'informations sur les séquences obtenues de diverses sources, y compris de banques de génomiques (Hüttel *et al.*, 1999; Winter *et al.*, 1999; Sethy *et al.*, 2006 a, b; Nayak *et al.*, 2010).

IV.1 Extraction de l'ADN :

La première étape de toute caractérisation génétique débute par l'isolement de l'ADN des cellules ou des tissus, une fois l'ADN extrait avec une pureté suffisante, d'autres techniques de biologie moléculaires seront exécuter. Le choix de la technique dépendra du but et de la problématique de l'étude.

Les feuilles de jeunes plants âgées de trois à quatre semaines ont été utilisées pour l'extraction de l'ADN. Nous avons suivi le protocole de l'extraction nommé protocole Céthyl Bromure de Trimethyl Ammonium (CTAB 2X) (Saghai-Marooft *et al.*, 1984), modifié par Udupa *et al.*, 1999) pour cette extraction. Les étapes de cette technique sont décrits dans la figure 19) .

- Sous la hotte, 100 à 120 mg de feuilles sont broyées (Figure 19A), dans un mortier préchauffé à 65°C et auxquelles sont ajoutées, tout en continuant à écraser, deux fois 750µL du tampon d'extraction CTAB 2X (Figure 19B), (100 mM Tris-HCl, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% CTAB et 0.2% Mercapto-éthano l) ; préalablement chauffé à 65°C. La solution de CTAB chauffée permet la lyse membranaire, l'inactivation de l'ADNase et la dénaturation des protéines.

- L'extrait est légèrement mélangé, puis incubé dans un bain marie avec à 65°C pendant 45 min à 60 mn, avec agitation toute les 15 à 20 minutes (Figure 19 C).
- Après incubation, 500 µL du mélange chloroforme/alcool isoamylique (24: 1) sont ajoutés à l'extrait (Figure 19 D), et agités vigoureusement pendant 5 mn. Le chloroforme solubilise les pigments chlorophylliens, les polysaccharides et les protéines dénaturées.
- L'extrait, est ensuite, centrifugé à 13000 trs/mn, à température ambiante (Figure 19 E), pendant 15 mn. Cette étape permet de séparer les acides nucléiques du chloroforme et des débris cellulaires.
- 1mL du surnageant est récupéré dans de nouveaux tubes de 2 ml, puis l'ADN est précipité avec 666 µl d'isopropanol (Figure 19 F) en remuant doucement jusqu'à l'homogénéisation de la solution avec l'isopropanol et la formation des filaments d'ADN (Figure 19 G). ensuite, une incubation à température ambiante, pendant 30 mn est réalisée. l'ADN se précipite à cette étape.
- Le culot d'ADN est, ensuite, récupéré par centrifugation à 4°C à 13000 trs/mn pendant 10 mn. Puis lavé avec 1 mL d'éthanol à 70%. Sous la hotte, le culot est séché de toutes gouttes d'éthanol (Figure 19 J), Ensuite, le culot est dissout dans 100 µL d'eau distillée stérile et stocké à 4°C pendant une nuit.
- Après cette incubation à 4°C, le mélange est centrifugé pendant 5 mn à 13000 trs/mn afin de faire sédimenter toute impureté restante dans le tube. Par la suite, la solution d'ADN est récupérée dans de nouveaux tubes de 1.5 ml. Cette solution va être utilisée comme stock d'ADN. Des dilutions sont réalisées selon les résultats du test qualité de l'ADN.



Figure n°19 : Étapes d'extraction de l'ADN à partir des feuilles, suivant la technique CTAB 2X (Udupa *et al.*, 1999).

IV.2 Analyse de pureté :

En biologie moléculaire, il est important de quantifier et d'analyser la pureté des acides nucléiques après leur purification. La méthode la plus répandue pour le dosage d'acides nucléiques est la spectrophotométrie qui mesure l'absorbance (ou densité optique) des acides nucléiques à 260 nm (contamination par l'ARN) (absorbent dans l'ultraviolet). Parallèlement on détermine leur pureté en mesurant l'absorbance à 280 nm (le maximum d'absorption par les protéines), à 230 nm (contamination par les polysaccharides) et 320 nm (contamination par les impuretés présentes sur la paroi de la cuvette ou à la surface de mesure).

Initialement en 1942, Warburg et Christian avaient publié un rapport expliquant l'intérêt de l'utilisation du ratio $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ pour détecter la contamination d'acides nucléiques présente dans une solution de protéines.

La pureté d'un échantillon ARN ou ADN est définie par les valeurs de ratio $260/230$ et $260/280$. (Tableau 10).

D'une manière générale, la pureté d'une solution d'acide nucléique est considérée comme acceptable lorsque le ratio $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ est compris entre 1,8 – 2,0 pour l'ADN et entre 2,0 – 2,2 pour l'ARN. Comme ce ratio varie significativement en fonction du pH et de la force ionique, il est important de prendre en compte ces paramètres pour interpréter ce ratio (William et *al.*, 1997).

Le ratio A_{260}/A_{230} est un deuxième indicateur de pureté, il est généralement plus élevé que le ratio A_{260}/A_{280} . Un ratio A_{260}/A_{230} compris entre 2,0 – 2,2 indique une bonne pureté des acides nucléiques. Lorsque ce ratio est significativement plus faible que 2,0 – 2,2, cela révèle la présence de contaminants absorbant à 230 nm dans la solution. Plusieurs contaminants absorbant à 230 nm proviennent de l'échantillon ou de la purification, comme par exemple le phénol, l'isothiocyanate de guanidine, les carbohydrates, les peptides, l'acide humique, l'urée, l'EDTA, les polysaccharide (Jay et Glasel, 1995)

Les échantillons de plantes sont souvent riches en polysaccharides, un inhibiteur de la PCR. Les ADN extraits à partir des plantes en contiennent souvent. Comme les polysaccharides absorbent à 230 nm, le ratio A_{260}/A_{230} est sélectionné pour estimer la contamination en polysaccharides de ces ADN (Jay et Glasel, 1995)

Tableau n°10 : Pureté d'un échantillon d'ADN

Ratio	Valeur	Indication de pureté
260/280	1,8	ADN pur
	< 1,8	Présence de protéines, phénol et autres contaminants
	> 2	Contamination ARN
260/230	1,8 - 2,2	ADN pur
	< 1,8	Contaminants co-purifiés (solvants, sels, contaminants organiques)

(Jay et Glasel, 1995)

Le spectre d'absorption d'une solution d'acides nucléiques pure est représenté par une courbe caractéristique (Figure 20). Un changement de profil de cette courbe est un bon indicateur de l'impureté d'une solution y compris pour les solutions d'acides nucléiques (Jay et Glasel, 1995)

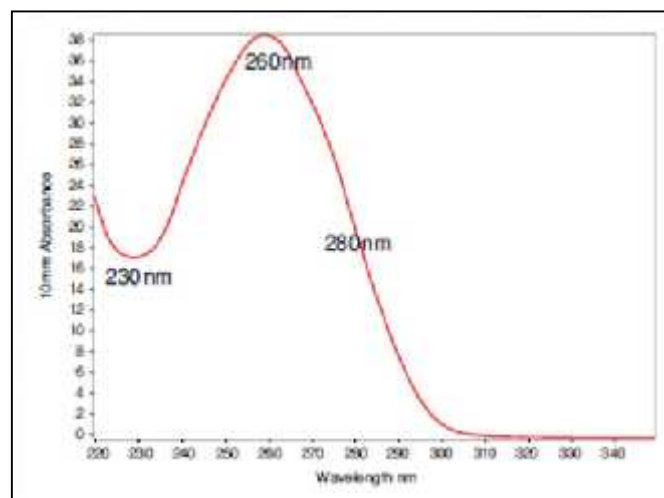


Figure n°20 : le spectre d'absorption caractéristique d'ADN pur. (Jay et Glasel, 1995)

Dans ce travail, La qualité de l'ADN génomique a été évaluée par électrophorèse sur gel d'agarose (1,2%, tampon TBE) et spectrophotométrie. La quantification de l'ADN a également été effectuée par spectrophotomètre UV (Nanodrop ND-1000, NanoDrTechnologies).

IV.2.1 Test de qualité par électrophorèse en gel d'agarose :

Le test de qualité est une étape importante dans l'analyse d'ADN, car il permet de mettre en évidence la présence ou l'absence d'ADN et en même temps sa qualité. Cette dernière est déterminée par l'estimation de sa concentration et son degré de dégradation (une ou plusieurs bandes) en comparant l'intensité et la position (taille de l'ADN extrait) de la bande de l'ADN avec les bandes du marqueur de taille leader Lambda DNA/EcoRI + HindIII « Lambda marker ».

Ce test est réalisé sur gel d'agarose 1.2% et les bandes sont visualisées par un système d'analyse de gel après coloration avec le bromure d'éthidium BET.

Après avoir pesé la poudre d'agarose, on mélange dans le 1X TBE à raison de 1.2 g pour 100 ml. Le mélange est fondu au four à micro-ondes, en surveillant pour éviter le bouillage et en l'agitant de temps en temps pour homogénéiser.

Après solubilisation totale, le mélange est refroidi dans un bassin rempli d'eau froide et sous agitation jusqu'à l'atteinte d'environ 60°C (vérification par le thermomètre). L'agitation dans l'eau froide permet le refroidissement homogène de la solution du gel et permet aussi d'éviter la solidification du gel.

On fixe les joints et les peignes dans la cuve (du type Scie-Plas) et on place le tout dans le support. Les peignes ont pour fonction de former les puits. Il faut absolument régler le niveau support du gel pour qu'il soit parfaitement horizontal. Ensuite, on coule le gel doucement en veillant à ce qu'il entoure toutes les dents des peignes. Après solidification, les peignes et les joints sont enlevés et le gel est placé dans l'appareil, puis immergé dans le tampon de migration TBE 1X. (Figure 21).

Le gel d'agarose à 1,2% est préparé, et dans chaque puit on dépose:

- 4 µL d'eau distillée stérile ;
- 3 µL de bleu d'agarose ;
- 3 µL d'ADN.

Après le dépôt des échantillons (Figure 21E), la migration (Figure 21 F) se fait en présence du tampon TBE 1X. Le générateur est réglé à 70 V.

Après 15 mn, le voltage est augmenté à 90 V, la migration dure de 60 à 75 mn. Après migration, la coloration des bandes d'ADN se fait en mettant le gel dans une solution de bromure d'éthidium (Figure 21 G), pendant 20 min ensuite, on rince ce gel dans de l'eau distillée, pendant 20 mn avant de visualiser les bandes sous les rayons ultraviolets UV (Figure 21 H).

Des photos sont prises à l'aide d'un système d'analyse d'images spécifique pour les gels (BIO RAD Molecular Imager Gel Doc XR).

La comparaison visuelle de la fluorescence d'un échantillon avec celle d'une quantité d'ADN connue (le marqueur de taille) permet d'en déduire la quantité d'acides nucléiques déposée et d'estimer un facteur de dilution afin d'obtenir une concentration finale d'ADN de 20 ng/μl. En effet, à la suite de l'électrophorèse en gel d'agarose, une dilution est réalisée à partir de la solution « ADN stock ». La solution « ADN dilué » obtenue va servir pour réaliser une amplification en chaîne par polymérase (PCR).

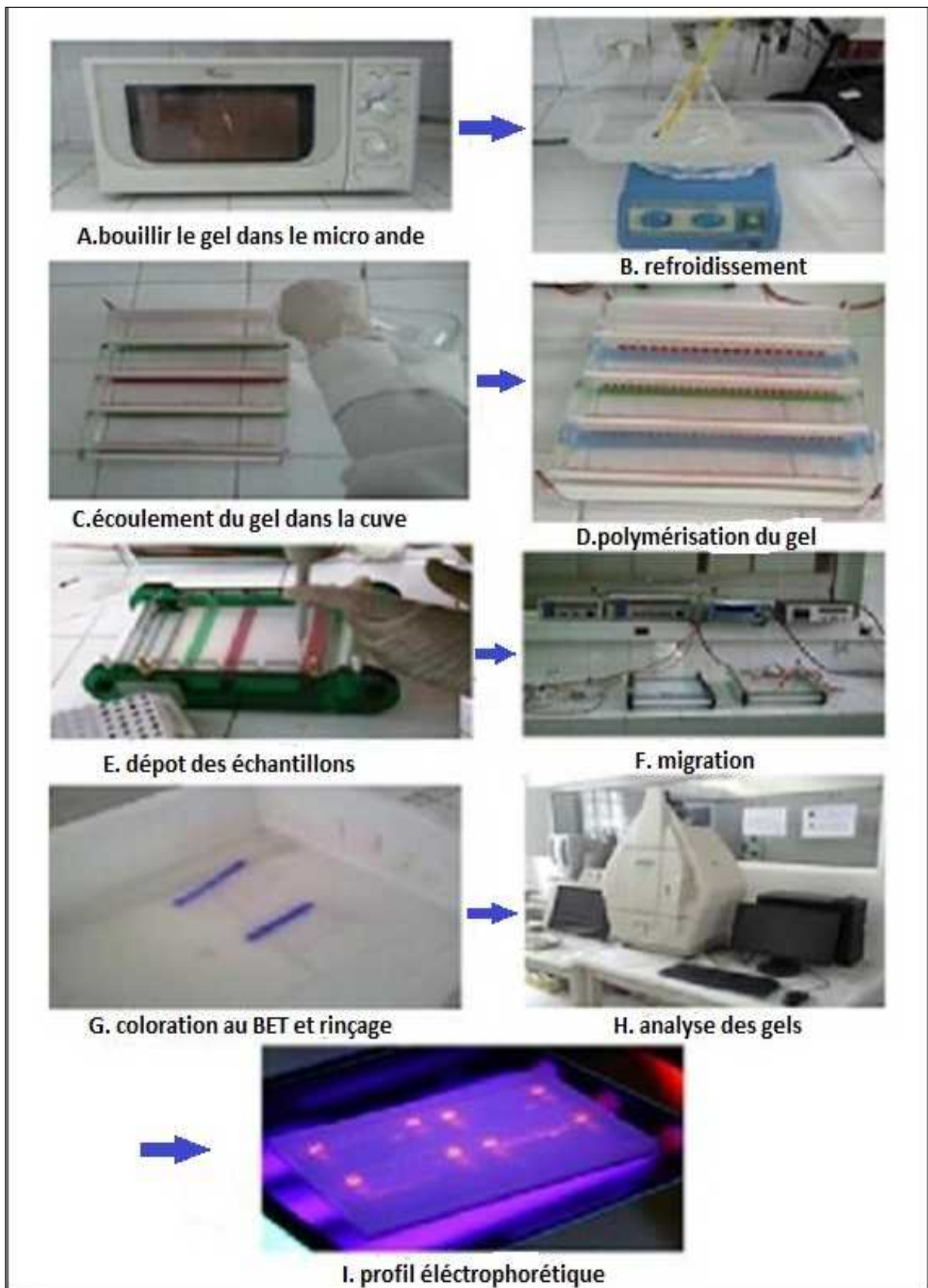


Figure n° 21 : étapes de Test de qualité par électrophorèse en gel d'agarose (1.2%).

IV.3 Réaction de Polymérisation en Chaîne ou PCR :

IV.3.1 Amplification des ADN :

L'amplification PCR a été réalisée dans un thermocycleur (BIORAD) muni d'un écran tactile (Figure 22) qui permet d'écrire le programme approprié à chaque amorce pour chaque SSR étudiés.

La réaction d'amplification est réalisée à l'aide d'un mélange réactionnel (Les conditions standards de la réaction : 10 μ L dans chaque tube) contenant l'extrait d'ADN (1 μ l), des amorces complémentaires spécifiques (1 μ l), la Taq polymérase (0,025 μ l), les quatre désoxyribonucléotides triphosphates (1 μ l), une solution tampon 5x (2 μ l) (Tris-Cl, KCl, (N-H₄ 2SO₄, MgCl₂ (15 mM), pH 8,7) et de l'eau pure (4,975 μ l). (Tableau 11).

Tableau n°11 : composition du mélange réactionnel de l'amplification selon la technique SSR

Composantes :	Volume pour une seule réaction :
Eau distillée stérile	4.975 μ l
Tampon Buffer X5	2 μ l
dNTP mixés (2mM)	1 μ l
Amorces (10p mol/ μ l)	1 μ l
Taq polymérase (5U/ μ l)	0.025 μ l
ADN	1 μ l
Total	10 μ l

Le programme PCR consiste à la répétition de trois étapes successives, au temps et à température différents. Ces trois étapes qui constituent un cycle qui se répète trente-cinq fois, sont la dénaturation, l'hybridation et l'élongation.

La dénaturation de l'ADN nécessite une haute température pour permettre aux deux brins de se séparer. L'hybridation spécifique des deux amorces sur leurs séquences complémentaires se fait à une température qui dépend du GC % des amorces. L'élongation se fait par la Taq polymérase qui synthétise les brins d'ADN complémentaires en ajoutant des désoxynucléotides triphosphates aux extrémités 3'OH des amorces.

Pour l'amplification, le programme est comme suit :

- 94°C /5min : dénaturation initiale
- 94°C /30 secondes : dénaturation
- 55°C/ 40 secondes : l'hybridation (Hybridation des amorces avec l'ADN))
- 60°C/ 40 secondes : élongation
- 60°C / 7 min : élongation finale.

A la fin de la réaction, le produit amplifié (amplifiats) peut être conservé pendant un certain temps dans le thermocycleur à 4°C avant de l'analyser par électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 4%.

La visualisation des bandes se fait en utilisant le BET sous lumière UV de par l'appareil BIORAD GelDoc XR +.



Figure n°22 : Thermocycleur utilisé dans la PCR (Mastercycler Gradient).

IV.3.2 Test d'amplification de l'ADN cible par SSR :

Avant d'appliquer l'amplification des marqueurs sur la totalité des échantillons, nous avons fait tout d'abord un test avec chaque marqueur sur un nombre réduit d'échantillons (5 échantillons). Suivi par une amplification et une révélation sur gel d'agarose à 0,8%. Si le marqueur testé donne une bonne amplification, nous appliquons le programme d'amplification sur la totalité des échantillons pour passer ensuite au dépôt des amplifiats sur le gel de polyacrilamide.

Dans notre étude et après la réalisation de ce test d'amplification, il s'est avéré que cinq des marqueurs SSR utilisés ne donnent pas de résultats au cours de l'amplification. Donc nous nous sommes limités à l'utilisation des quinze marqueurs qui ont donné un résultat positif lors de l'amplification.

IV.4 Electrophorèse sur gel d'acrylamide :

IV.4.1 Utilisation :

Un gel de polyacrylamide est une matrice de séparation utilisée en électrophorèse de biomolécules, telles que les protéines et les fragments d'ADN. Ce gel possède un pouvoir résolutif qui peut aller jusqu'à une seule paires de bases.

IV.4.2 Composition :

Les gels de polyacrylamide peuvent varier en composition. Ils sont constitués d'acrylamide qui est l'unité de base et de bis-acrylamide (N, N méthylène-bisacrylamide) qui est l'agent pontant (fixateur). En fonction des différents taux de ces deux substances, on obtient différents maillages et donc différentes densités de gel. La réaction de polymérisation se fait grâce à l'ajout de deux substances réactives : le TEMED (Tetra-Méthyl-Ethylène-Diamine : cofacteur de polymérisation) et le persulfate d'ammonium (APS à 25 % : agent polymérisateur) qui en réagissant avec la lumière, deviennent des anions actifs en enclenchant la polymérisation.

IV.4.3 Préparation du gel :

Pour préparer un gel d'acrylamide sur lequel vont migrer nos amplifiats d'ADN, Il faut préparer une solution d'acrylamide à 40 %. Ce gel possède un pouvoir résolutif de 10 paires de bases. L'ADN peut être aussi séparé en utilisant l'électrophorèse sur gel d'agarose, mais cette dernière n'est pas adaptée à la séparation de petits fragments. (Figure 23).

La solution mère d'acrylamide est utilisée pour préparer une solution finale concentrée à 4% pour des plaques à 100 puits.

Deux plaques en verre sont superposées et maintenues par des pinces puis séparées par deux séparateurs placés sur les bordures verticales. La solution de gel est versée entre ces deux plaques à un rythme lent et uniforme pour éviter la formation de bulles d'air. Ces dernières constituent un frein lors de la migration de l'ADN et leur présence en grand nombre rend le gel inutilisable. Pour éliminer les bulles une seringue peut être utilisée, l'idée est d'attirer les bulles vers l'extrémité des plaques de verre. Un peigne est introduit à l'extrémité des plaques et permet la formation des puits. La

polymérisation du gel dure environ une heure. Une fois qu'il est solidifié, les plaques sont déposées sur un portoir.

IV.4.4 Dépôt des échantillons et migration :

Un volume de 10 µl du produit d'amplification (des échantillons positif) est mélangé avec 5 µl de bleu d'acrylamide. Un volume de 7 µl du mélange est ensuite déposé dans les puits du gel. Le premier puits est réservé au marqueur de taille 100 bp et le voltage de migration est de 300 V.

IV.4.5 Révélation du gel :

Après la migration, le gel sera baigné dans une solution de BET pendant 5 minutes pour la mise en évidence des amplifias. Le gel ensuite rincé et visualisé sous rayonnement UV. La taille des fragments d'ADN sera estimée à l'aide du marqueur moléculaire 100 bp.

IV.5 Révélation des profils électrophorétiques :

Les profils révélés sur le gel d'agarose après le test de qualité comportent généralement une seule bande lorsque l'ADN n'est pas dégradé. Chaque bande diffère de l'autre par son contraste, ce qui est fonction de la concentration d'ADN obtenu de chaque accession. L'estimation de la concentration se fait par deux méthodes soit par spectrophotométrie ou par comparaison avec les bandes du marqueur lambda dans le cas de la migration sur agarose (test utilisé) (Annexe 2).

Concernant l'électrophorèse sur gel d'acrylamide, à partir de chaque profil obtenu, les bandes SSR les plus nettes et reproductibles qui se trouvent à peu près à la même taille prévu que le marqueur sont retenues pour la création du tableau de contingence. Sur un tableau Excel, on note la présence par 1 ou l'absence par 0 des différentes bandes polymorphes, dont chaque bande représente un allèle. (Annexe1).

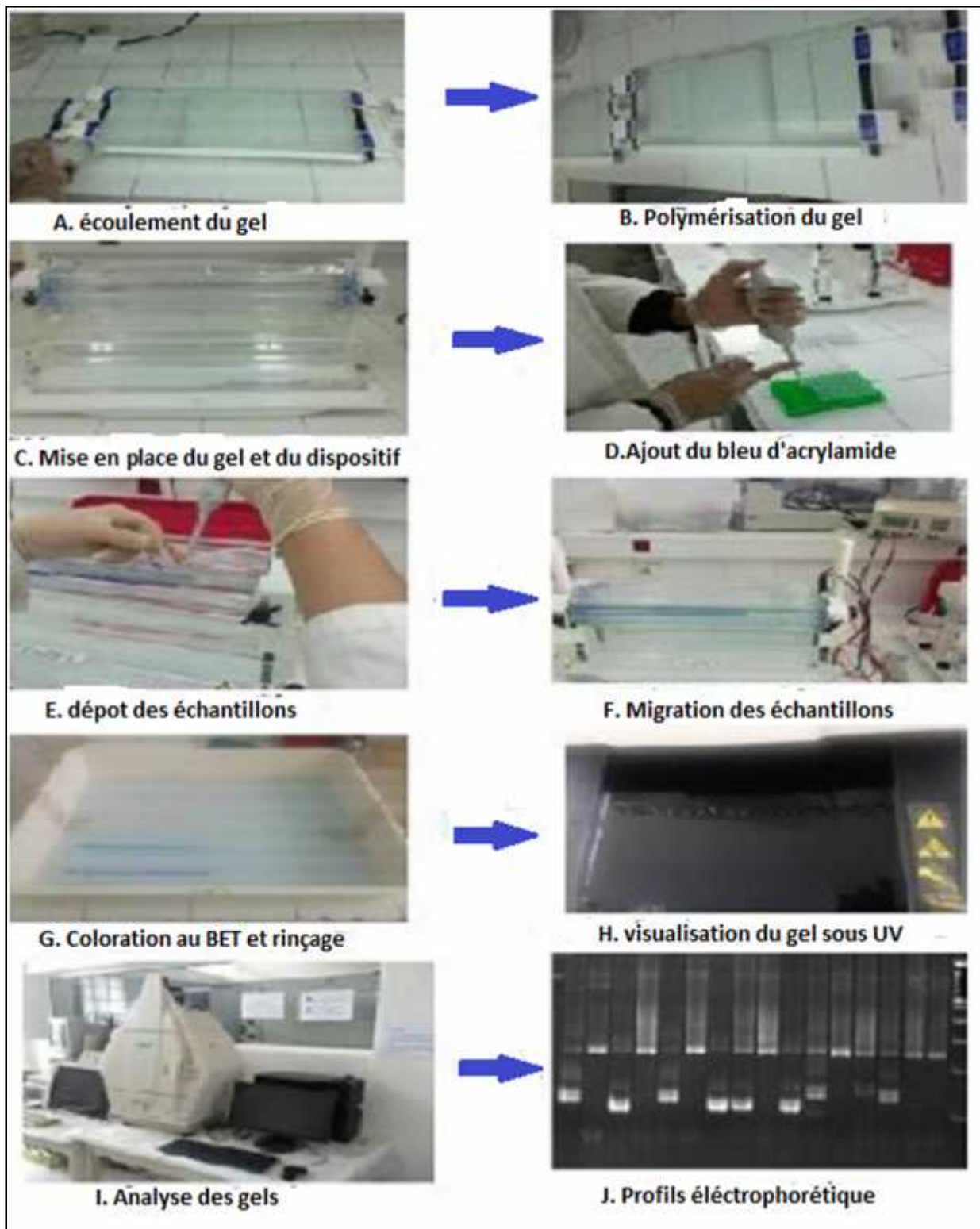


Figure n° 23 : Analyse sur gel de polyacrylamide, (4%) montage, coloration au BET et lecture sous UV.

V. Analyse statistiques des données :

Tous les paramètres de la mesure de la diversité génétique, ont été déterminés à l'aide des trois logiciels Power Marker ver .3.25 (lie. 2005), GenAlex ver. 6.4 (Peakall and Smouse .2006) et Popgene 1.32 (Yeh *et al.*, 1997).

Les parameters analysés sont:

- ✓ Le nombre d'allèles (Na),
- ✓ Le nombre efficace des allèles (Ae),
- ✓ L'indice de shanon (I),
- ✓ L'hétérozygotie théorique (H_0),
- ✓ Le taux d'hétérozygotie non biaisé (Hnb),
- ✓ Le contenu d'information du polymorphisme (PIC),
- ✓ l'indice de la diversité génétique (H),
- ✓ les distances génétiques (méthode de Nei (Nei *et al.*, 1987),
- ✓ Le Dendrogramme phylogénétique (méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic)) réalisé sur la base des distances génétiques calculées entre les différentes accessions de pois chiche,
- ✓ La PCoA Analyse en composantes principales,
- ✓ l'AFC Analyse factorielle des composantes).

V.1 Calcul des fréquences alléliques :

La fréquence allélique est calculée comme suit :

P_{ikx} : la fréquence de l'allèle i dans la population X au locus K

$$P_{ikx} = 2(n_{ii}) + n_i / 2N$$

n_i : nombre d'individus hétérozygotes pour l'allèle i

n_{ii} : nombre d'individu homozygotes pour l'allèle i

N : nombre total d'individu typés au locus K

Avec :

$$\sum_{i=1}^{l_k} P_{ikx} = 1$$

l_k : Le nombre d'allèles au locus k.

V.2 Taux d'hétérozygotie théorique (He):

Le taux d'hétérozygotie (He) d'un locus k permet de décrire le polymorphisme de celui-ci. Nei (1975) définit un indice de diversité ou taux d'hétérozygotie théorique dont la formule est :

$$He = \sum_{i=1}^{l_k} P_{ikx}^2$$

P_{ikx} : étant la fréquence de l'allèle i au locus k

l_k : étant le nombre d'allèles au locus k

He : représente la probabilité de tirer au hasard un individu hétérozygote au locus k (dans l'hypothèse d'union au hasard des gamètes)

Si plusieurs loci (r) sont considérés, le taux moyen d'hétérozygotie est la moyenne des indices des r loci considérés :

$$\bar{h} = \frac{1}{r} \sum_{k=1}^r He$$

V.3 Taux d'hétérozygotie non biaisé (Hnb) :

Nei (1978) propose d'utiliser le taux d'hétérozygotie non biaisé si le nombre d'échantillons testés est faible.

$$Hnb = \frac{2n}{(2n-1)} \left[1 - \sum_{i=1}^{l_k} P_{ikx}^2 \right]$$

P_{ikx} : étant la fréquence de l'allèle i au locus k

l_k : étant le nombre d'allèles au locus k

Et pour plusieurs loci :

$$\bar{h} = \frac{1}{r} \sum_{k=1}^r Hnb$$

Où n est le nombre d'individus considérés et r le nombre de loci.

V.4 Calcul de l'indice de la diversité génétique (H) :

L'indice de la diversité génétique (H) obtenue pour chacune des 15 couples d'amorces a été déterminé en utilisant la formule de Nei (Nei et al, 1987).

$$H = \frac{n}{n-1} X (1 - \sum pi^2)$$

Où n : nombre d'individus analysés ; pi : Fréquence allélique.

V.5 Calcul du contenu d'information du polymorphisme (PIC) :

Le contenu d'information sur le polymorphisme (PIC) pour chaque marqueur a été déterminé séparément en utilisant l'équation suivante :

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - 2 \left[\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i^2 p_j^2 \right]$$

La valeur du PIC varie de 0 (monomorphe) à 1 (polymorphe).

Où pi est la fréquence allélique à un locus et n : le nombre d'allèles. (Botstein et al., 1980).

V.6 Calcul des distances génétiques :

En génétique des populations, on utilise la distance génétique pour mesurer le degré de dissemblance entre deux génomes.

La distance génétique entre les différentes accessions de pois chiche a été déterminée par le logiciel Power Marker. Il s'agit d'un ensemble complet de méthodes statistiques pour l'analyse de différentes données génétiques de marquage, spécialement conçu pour les SSR/SNP (Iiu, 2004), pour le calcul de la distance génétique ainsi que pour la réalisation du dendrogramme.

Les distances génétiques sont calculées à partir de la matrice des données générée des individus en réponses aux marqueurs, grâce à l'indice de similitude de Jaccard (L'indice et la distance de Jaccard sont deux paramètres métriques utilisées en statistiques pour comparer la similarité et la diversité entre des échantillons) en utilisant le logiciel (Power marker v 3.25). Ce type de distance permet d'évaluer la relation entre les populations étudiées et le niveau de rapprochement génétique entre elles.

V.7 Dendrogramme phylogénétique :

Le dendrogramme est reconstitué à partir de la matrice des distances génétique entre les 10 populations de *Cicer arietinum* en utilisant la moyenne arithmétique des distances entre les éléments regroupés par la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic). Cette méthode est choisie sur la base des travaux antérieurs ayant montré que la classification UPGMA est mieux adaptée que la classification NJ (Neighbor Joining).

En effet l'UPGMA donne une meilleure structuration des groupes avec des embranchements plus robustes (Divaret, 1998). Le programme Power Marker v3.25 est ensuite utilisé pour construire un arbre à partir des distances calculées à partir des données initiales.

Le dendrogramme exprime donc une classification qui a pour but d'obtenir une représentation schématique simple. Il permet de visualiser les regroupements possibles de différentes populations, en répartissant les entités en groupes (classes) homogènes, chaque groupe étant bien différencié des autres.

V.8 L'analyse en composantes principales (PCoA) et l'analyse factorielle des correspondances (AFC) :

L'AFC et la PCoA peuvent être des procédures utiles pour classer les individus en fonction de leur proximité génétique ou de leur origine géographique en fonction de leur dispersion lors de ces analyses statistiques (Thierry De Meeùs, 2012).

I. Résultats des prospections sur terrain :

Il ressort des enquêtes réalisées que :

- ✓ Les superficies destinées à la culture de pois chiche sont variables selon le type culture (production destiné à la multiplication de semence ou à l'alimentation).
- ✓ L'ensemble des exploitations sont à dominance de céréaliculture
- ✓ Le pois chiche est cultivé en culture pluviale et il est semé au printemps (Mars-Avril-Mai).
- ✓ La majorité des agriculteurs utilisent le mode semi-intensif.
- ✓ Les facteurs abiotiques et biotiques limitant la culture de pois chiche sont essentiellement la sécheresse printanière et estivale, le sirocco, les gelées et l'antracnose.
- ✓ Les agriculteurs ont signalés la perte des cultivars locaux de pois chiches cette perte, selon les agriculteurs, est essentiellement due d'une part, à la non-régénération de la semence causée par la sécheresse (perte des récoltes) ou par l'introduction de cultivars étrangers (délaissement des cultivars locaux) et d'autre part, au fait qu'ils ne peuvent écouler leur production de cultivars locaux auprès de la CCLS vu l'hétérogénéité et la non-conformité variétale (en milieu traditionnel les graines sont très mélangées, riches en formes à graines blancs ou colorés, ridés ou lisses, à saveur douce ou musquée. à rendement souvent inférieur ou irrégulier).

II. Matériels végétale collectés et constatation :

Le matériel végétal qui a servi à notre étude est composé de dix génotypes de pois chiche dont huit récolté à travers l'Oranie et deux variétés étrangères non rencontrées dans la zone d'étude. (Tableau 9, Annexe 6)

Lors de notre prospection le manque de variétés ou de populations locales en ce qui concerne l'espèce (*Cicer arietinum L.*) était très remarquable alors qu'en 1956 Laumant et Chevassus ont dénombrés au moins une trentaine de populations locales en Algérie.

31 variétés locales ont servi de matériel de base pour des recherches en amélioration durant les années 50. Les variétés cultivées sont rencontrées le plus souvent en mélange plus ou moins accusé. Beaucoup de cultivars locaux ont disparu. Cependant, cette érosion génétique a été compensée en partie par des introductions de variétés étrangères et particulièrement les variétés ILC plus résistantes à l'antracnose et à port dressé (récolte mécanisée). (Abdelguerfi-Laouar et *al.*, 2001).

Seulement, six variétés (dont une seule locale) sont utilisées en grandes cultures (à grande échelle) (Abdelguerfi et *al.*, 1998). Ceci n'exclue pas l'existence de cultivars locaux ou anciennement introduits encore utilisés par quelques agriculteurs des zones reculées (régions montagneuses...) (Abdelguerfi et *al.*, 2000).

A travers nos sorties et prospection nous avons remarqués que la plupart des agriculteurs n'utilisent que les variétés améliorées introduites qu'ils apportent de la CCLS ou de l'OAIC (variétés étrangères). Même au niveau des instituts techniques des grandes cultures ; les variétés locales qui ont été conservées n'existent quasiment guère.

Cette constatation sur terrain a été déjà évoquée dans le rapport de la 3^{èmes} Journées Scientifiques de l'INRAA, Bejaia (INRAA, 2001) et dans le Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques (INRAA, 2006).

III. Analyse moléculaire :

III.1 Extraction de l'ADN génomique et test de qualité :

Afin d'évaluer la diversité génétique des 10 accessions de pois chiches collectés à travers l'Oranie par les marqueurs SSR (single sequence repeat), une extraction de l'ADN par la technique de CTAB 2X (Saghai-Marouf et *al.*, 1984 modifié par Udupa et *al.*, 1999) a été réalisée suivie par un test de qualité de l'ADN.

L'extraction de l'ADN génomique à partir des feuilles de pois chiche (*cicer arietinum*) des dix accessions après électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,2%, montre la présence de bandes alignées au même niveau, avec une taille supérieure à la taille de la bande 21000 Pb du marqueur moléculaire « **Lambda Marker** » ce qui signifie que l'ADN extrait est de haut poids moléculaire. Par ailleurs, les bandes obtenues ne présentent pas en général la même intensité de fluorescence, ce qui signifie que la quantité d'ADN n'est pas toujours la même pour tous les échantillons analysés (Figure 24).

L'analyse de ces échantillons à l'aide d'un spectrophotomètre UV (Nanodrop nano-drop) avec le ratio 260/280 indiquent une valeur comprise entre 1,8 et 2. (Annexe 2) ; Ce qui permet de dire que nos échantillons d'ADN sont de bonne qualité et peuvent être utilisés pour les prochaines étapes de l'analyse. (Annexes 6).

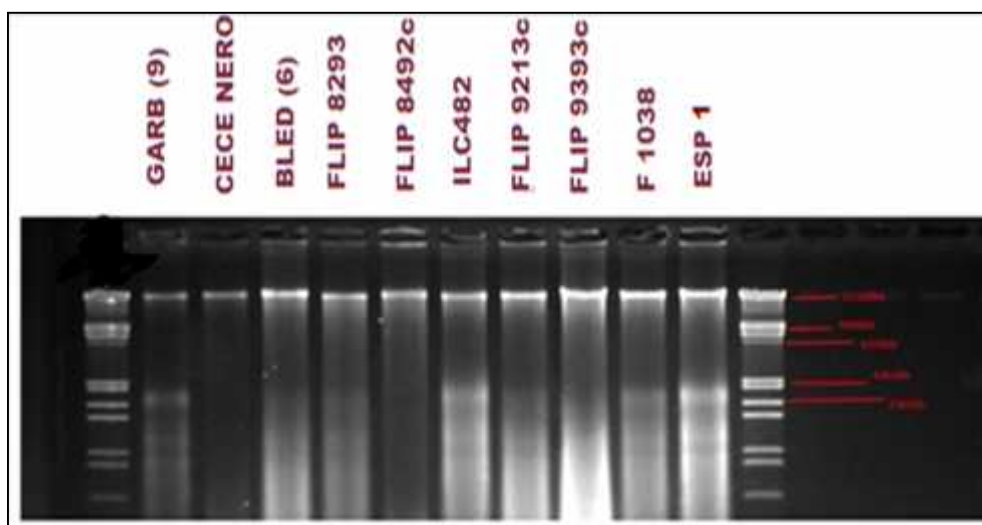


Figure n° 24 : Profil électrophorétique d'ADN total extrait à partir de 10 accessions de pois chiche sur gel d'agarose (1,2%).

À partir de ce test, des dilutions sont réalisées, pour avoir un volume de 100 μ l dont la concentration finale d'ADN est de 50 ng/ μ l.

III.2 Amplification d'ADN par PCR :

L'analyse des produits d'amplification par les amorces SSR étudiées ((TA113, TA 27, TA 46, TA 22, TA76, TA72, TA118, TA 117, TA135, TA142, TA116, TA 130, TA 58, TA64, TA14, TA28, TA 21, TA 71, TA206, TA 200) a donné des profils électrophorétiques satisfaisant (Annexe 7).

Sur les 20 marqueurs SSR génotypés sur les 10 accessions de pois chiche étudiées cinq marqueurs SSR sont avérés non reproductibles ; et ont été éliminés de cette étude (TA 14, TA28, TA 21, TA 71 et TA206). Trois d'entre eux sont monomorphes (TA 21, TA 71, TA206) et les deux autres n'ont pas donné de résultat lors de la PCR (ces amorces n'ont généré aucune bande) (TA14, TA28).

D'après des études menées ultérieurement les deux marqueurs SSR TA28 et TA14 sont polymorphes et ils ont donné des résultats lors de la PCR (reproductibles) (Ghaffari et *al.*, 2014 ;Hajibarat. et *al.*, 2014 et Torutaeva et *al.*, 2014).

Dans notre étude ces deux marqueurs (TA28 et TA14) n'ont pas donné d'amplification ce résultat pourrait s'expliquer par une mutation au niveau de la région cible qui correspond à la région 3' de l'amorce vue que ces dernières n'ont pas été développées sur les variétés de notre étude. Saeed et al., (2011) ont indiqué que le taux de mutation dans les marqueurs SSR est relativement élevé.

Les marqueurs SSR qui se sont révélés monomorphes (TA 21, TA 71, TA206) se trouvent probablement dans une région génomique où se trouvent probablement des gènes de grande importance physiologique ou des gènes de résistance gouvernant l'adaptation de l'accession.

La diversité génétique existant au niveau de ces accessions de pois chiches a été identifiée par l'analyse des profils électrophorétiques des 15 marqueurs retenus pour cette étude ; au niveau de ces profils, nous remarquons la présence de bandes présentant différents niveaux de migration en raison de la différence de taille des microsatellites amplifiés. Chaque bande dans le gel représente un allèle ; chaque marqueur SSR donnait donc un nombre de bandes correspondant au nombre d'allèles et pour chaque bande correspondante à un allèle nous avons attribué une lettre, les allèles étaient donc numérotés A, B, C, D, E. (Annexe 1).

IV. Analyses statistiques des données :

Dans la présente étude, nous avons déterminé la diversité génétique générée dans 10 accessions de pois chiches en utilisant 20 microsatellites SSR.

Comme nous avons analysé un petit nombre de marqueurs SSR (20) et que 15 d'entre eux ont été retenus car ils sont polymorphes, nous nous sommes appuyés sur une sélection de marqueurs qui se sont révélés polymorphes (un niveau élevé de polymorphisme détecté) dans des travaux antérieurs ; exemple Torutaeva et al., (2014) ont utilisé 9 marqueurs SSR hautement polymorphes sur des populations de pois chiche cultivées en Kirgizstan ainsi que Sefera et al.,(2011) en utilisant seulement 10 SSR dans le but de déterminer la relation entre des génotypes de *Cicer arietinum* et deux génotypes de *Cicer reticulatum*. L'application de marqueurs hautement polymorphes surestimera légèrement la diversité génétique par rapport aux loci SSR sélectionnés au hasard.

IV.1 Paramètres de diversité génétique :

Le tableau 12, résume les différents paramètres de la diversité génétique étudiés, calculés pour les 15 amorces SSR retenus et testés sur 10 accessions de pois chiche à l'aide du logiciel Power Marker Ver. 3.0 et GenAlex ver. 6.4.

Tableau n°12 : Paramètres de diversité génétique obtenus après l'analyse de 10 géotypes de pois chiche par 15 loci SSR

Marqueur SSR	N	Na	Ae	Fréquence de l'allèle majeur	He	Hnb	PIC	H	I
TA113	10	3	2,632	0,5	0,620	0,653	0.55	0.62	1,030
TA27	10	5	3,846	0,4	0,740	0,779	0.70	0.74	1,471
TA64	10	4	3,240	0,44	0,691	0,732	0.64	0.69	1,273
TA22	10	2	1,471	0.8	0,320	0,337	0.27	0.32	0,500
TA130	10	5	3,571	0.4	0,720	0,758	0.68	0.72	1,418
TA135	10	4	3,333	0.4	0,700	0,737	0.65	0.70	1,280
TA200	10	5	3,846	0.4	0,740	0,779	0.70	0.74	1,471
TA46	10	4	3,333	0.4	0,700	0,737	0.65	0.70	1,280
TA72	10	5	4,545	0.3	0,780	0,821	0.74	0.78	1,557
TA142	10	4	3,333	0.4	0,700	0,737	0.65	0.70	1,280
TA58	10	5	4,167	0.3	0,760	0,800	0.72	0.76	1,505
TA76s	10	2	1,923	0.6	0,480	0,505	0.36	0.48	0,673
TA117	10	5	4,545	0.3	0,780	0,821	0.74	0.78	1,557
TA116	10	3	2,273	0.6	0,560	0,589	0.50	0.56	0,950
TA118	10	3	2,381	0.5	0,580	0,611	0.49	0.58	0,943
Total		59		-		1.00	-	-	
Moyenne	10	3.93	3.229	0.45	0.658	0.693	0.60	0.66	1.213

(**N**: taille de l'échantillon, **Na**: nombre d'allèles, **Ae** : nombre efficace des allèles, **He**: hétérozygotie attendue ou théorique, **Hnb**: Hétérozygotie attendue non biaisée, **PIC**: contenu d'information du polymorphisme, **H**: indice de diversité génétique , **I**: l'index de Shannon.

IV.1.1 Fréquences alléliques :

A partir des profils électrophorétiques nous avons pu déterminer le nombre d'allèles pour chaque SSR ; Au total 59 allèles ont été identifiés. Le nombre d'allèles (N_a) varie entre 2 pour les marqueurs TA22 et TA76s à 5 pour les marqueurs TA27, TA130, TA200, TA72 TA58 et TA117 avec une moyenne de 3.93. (Figure 25).

Le nombre efficace d'allèles (A_e) varie de 1.471 pour l'accession CECE NERO et F1038 amplifiées par TA 22 et à 4,545 pour l'accession BLED (6) et FLIP 82 93C amplifiées par le TA 72 et TA 117 avec une moyenne de 3.229 pour l'ensemble de la population étudiée. (Tableau 12).

L'allèle (majeur) le plus fréquent (0,8) est amplifiées par le marqueur TA22, il s'agit de l'allèle A. cet allèle est présent chez les accessions suivantes : GARBANSA (9), BLED (6), FLIP 8293, FLIP 8492, , FLIP 9213, FLIP 9393C ILC 482 (Chetoui) ,et ESP1 ; Par contre les allèles majeurs présents avec la fréquence la plus basse (0.3) est amplifié par le marqueur TA 72 (l'allèle C), amplifié aussi par le marqueur TA 58 (allèles B et C) et le marqueur TA 117 (l'allèle A). (Figure 26).

L'allèle C amplifié par le marqueur TA 72 est présents dans les accessions suivantes : BLED (6), FLIP 8293, et F1038 ; tandis que L'allèle C amplifié par le marqueur 58 est présent dans les accessions : BLED (6), FLIP 9213, et ESP1 ; L'allèle B amplifiée par le marqueur TA58 est présent chez trois accessions : CECE NERO, FLIP 8293, et ILC 482 ; Et l'allèle A révélé par le marqueur TA 117 est présent chez GARBANSA (9), FLIP 9393C et F1038.

Les estimateurs de la diversité génétique, révélés dans notre étude, étaient généralement comparables à ceux d'autres travaux. Hajibarat et *al.*, (2015) rapportent 2 à 4 allèles par locus avec une moyenne de 3.1 où une caractérisation de 48 accessions cultivés en Iran avec 10 SSR; une autre étude de Hajibarat et *al.*, (2014) où 48 génotypes de pois chiches ont été caractérisés avec 38 SSR, ils ont trouvé 2 à 7 allèles par locus avec une moyenne de 3,05. Khan et *al.*, (2010) et Ghaffari et *al.*, (2014) ont trouvé des résultats similaires, proches de notre résultat en étudiant 60 accession (dont certains originaire de l'Iran et d'autres exotiques) par 20 SSR.

Keneni et *al.*, (2012) n'ont trouvé que 111 allèles lors de l'évaluation de la diversité de 155 accessions de pois chiches originaire de l'Ethiopie avec 33 marqueurs SSR, le nombre moyen d'allèles par locus était de 3,36. Dans Syed Gul et *al.*, (2017), 82 génotypes de pois chiche cultivés en Pakistan ont été étudiés avec 8113 marqueurs de type SNP par puce ADN, Ces auteurs on trouvé un nombre moyen d'allèles de 14,779.

Concernant le nombre d'allèle privé nous avons trouvé une moyenne de 3.933 supérieure à la valeur rapportée par Torutaeva et *al.*, (2014) qui est de 0.494 (Figure 27).

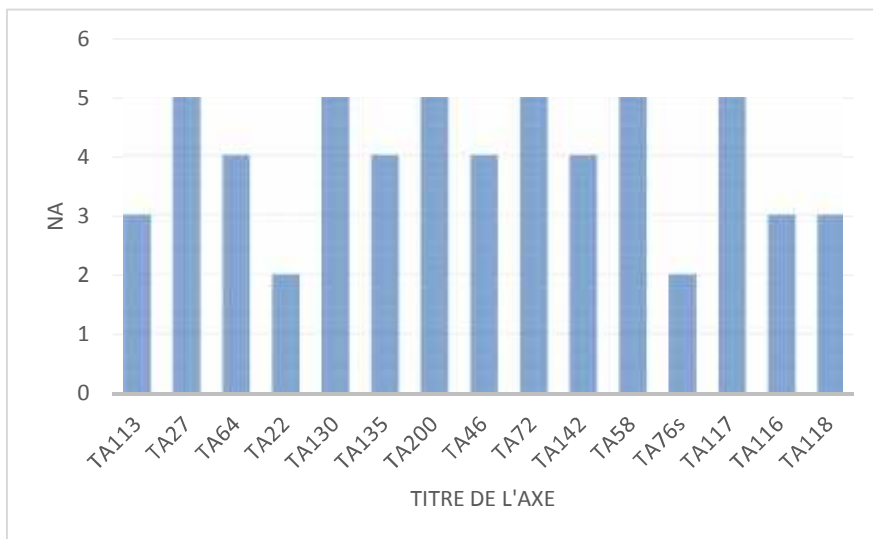


Figure n°25 : nombre d'allèles par marqueur SSR (Na)

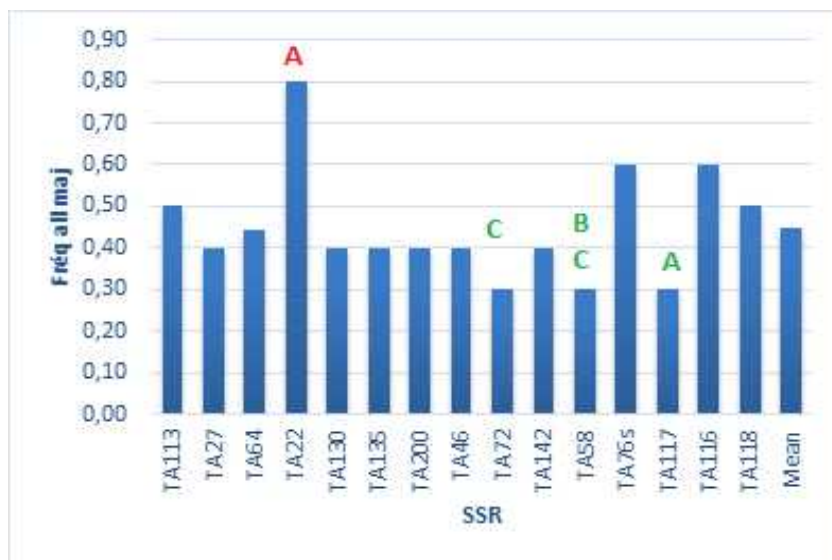


Figure n°26 : fréquence de l'allèle majeur par SSR.

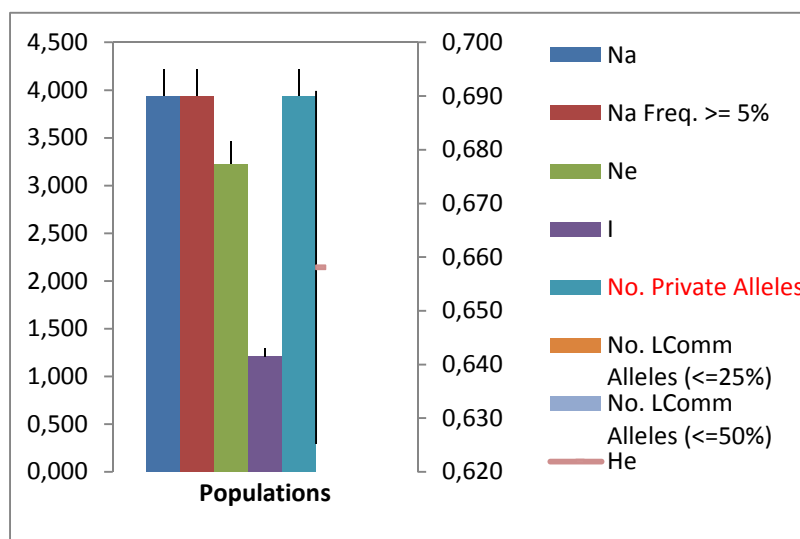


Figure n°27 : paramètre du modèles alléliques.

IV.1.2 Le taux d'hétérozygotie théorique (He) et le taux d'hétérozygotie non biaisé (Hnb) :

Le taux d'hétérozygotie théorique (He) oscille entre 0,320 pour le marqueur TA 22 et 0,780 pour les marqueurs TA 72 et TA 117 avec une moyenne de 0,658, (Figure 28), tandis que l'hétérozygotie non biaisée (Hnb) oscille entre 0,337 pour le marqueur TA22 et 0,821 pour les marqueurs TA 72 et TA 117 avec une moyenne de 0,693. (Figure 29)

Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Hajibarat et al., (2014) sur les variétés Iranienne et relativement supérieur aux valeurs rapportées par Upadhaya et al., (2008), Saeed et al., (2011) dans laquelle une étude sur des accession de *cicer arietinum* et des génotypes de *cier* du type sauvages a été entreprise et Hajibarat et al., (2015) respectivement.

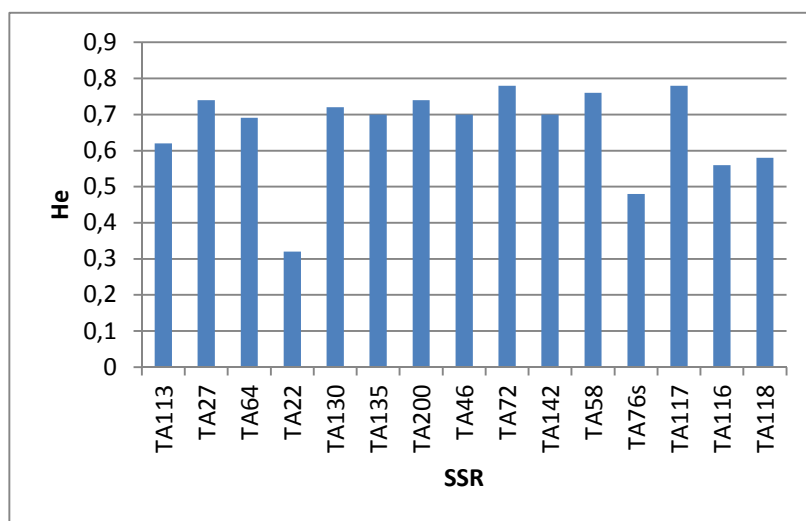


Figure n° 28 : taux d'hétérozygotie (He)

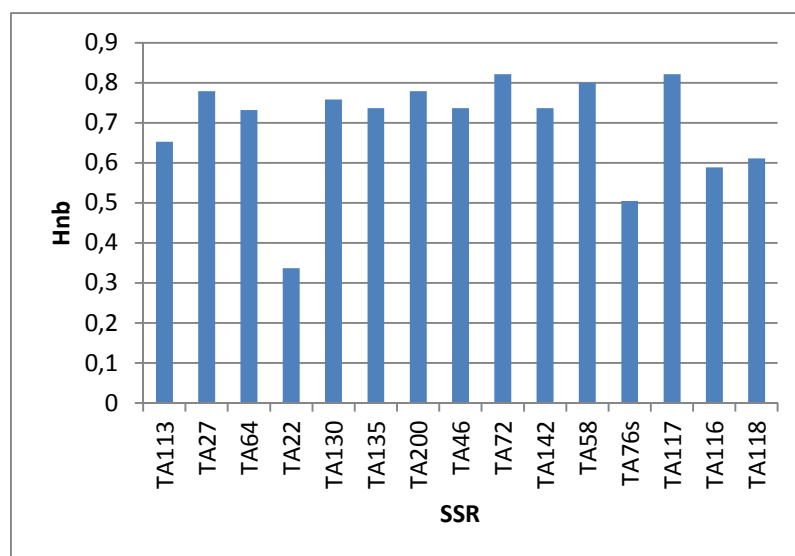


Figure n°29 : taux d'hétérozygotie non biaisée(Hnb).

IV.1.3 L'index d'information de Shannon (I) :

L'index d'information de Shannon (The Shannon's information index (I)) varie de 0.5 pour le marqueur TA22 à 1,557 pour les marqueurs TA72, TA117 avec une moyenne de 1.213, ce qui est inférieur au résultat donné par Hajibarat et *al.*, (2015) (1.26) et est nettement supérieur à la valeur rapporté par Syed Gulet *al.*, (2017) (0,043).(Figure 30).

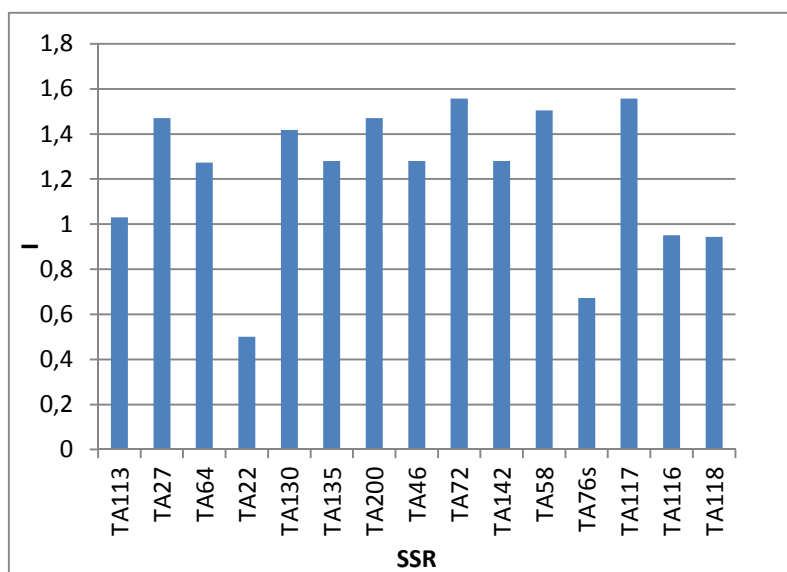


Figure n° 30 : L'index d'information de Shannon (I)

IV.1.4 l'indice de diversité génétique (H) :

L'indice moyen de diversité génétique dans cette étude est de 0.66. Les indices moyens de la diversité génétique les plus élevés (0.78-0.76) ont été obtenu respectivement chez les accessions de pois chiches dont l'ADN est amplifiés par les trois marqueurs TA72, TA117 (0.78) et TA58 (0.76). En revanche le marqueur TA22 a généré l'indice de diversité (H) le plus faible (0.32). (Figure 31).

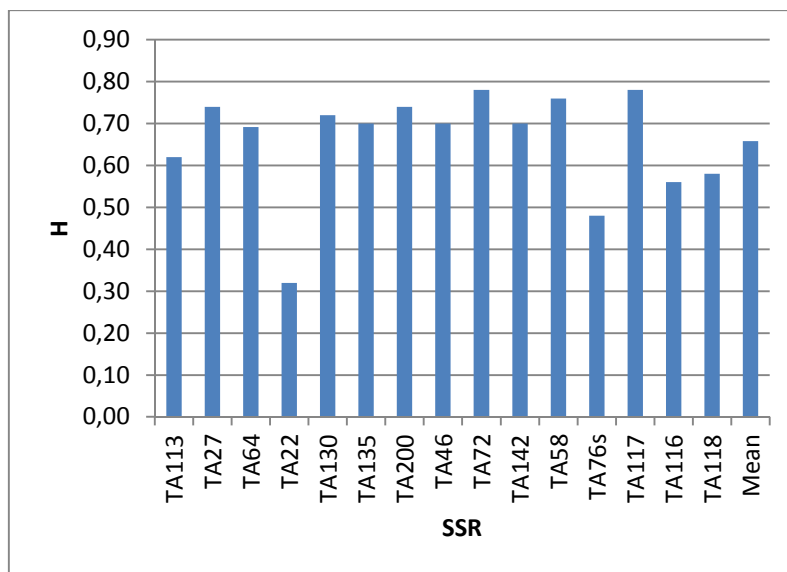


Figure n°31 : l'indice de diversité génétique (H).

IV.1.5 l'indice PIC (Contenu d'information du polymorphisme) :

Les deux marqueurs TA72, TA117 sont qualifiés de hautement informative, étant donné que l'indice PIC (contenu d'information du polymorphisme) est à 0.74. Par contre le SSR TA22 génère un faible taux de polymorphisme (0.27) par apport à d'autres SSR polymorphes. Le taux de polymorphisme moyen est de 0.6. (Figure 32).

Les valeurs moyennes du PIC signalées par Hajibarat et *al.*, (2014) et Hajibarat et *al.* (2015) étaient supérieurs à nos données (0,6) et ils ont enregistré respectivement 0,77 et 0,7. Keneni et *al.*, (2012) ont trouvé un PIC égale à 0,412, inférieur à notre valeur. La même constatation a été observée dans Roorkiwal et *al.*, (2014) qui ont utilisé 651 marqueurs SNP pour estimer la diversité génétique de 94 génotypes de pois chiche dont la provenance est de trois régions différentes (Ethiopie, Croissant fertile et l'Asie Centrale). La valeur moyenne du PIC trouvé par ces auteurs était de 0,23. Udita et *al.*, (2018) en utilisant des marqueurs SNP pour caractériser 92 génotypes de pois chiche de deux type différents Kabuli et Desi ; ont trouvés une valeur moyenne du PIC égale à 0,45.

Le même résultat est présenté dans Bharadwaj et *al.*, (2011) (TA117 PIC = 0,562 et TA72 PIC = 0,634) et dans Torutaeva et *al.*, (2014) ou le marqueur TA117 a présenté un PIC égale à 0,9 et un I égale à 2,53). Et dans Udupa et *al.*, (2000). Upadhyaya et *al.*, (2008) et Bharadwaj et *al.* (2011) ont attribué ce phénomène au polymorphisme élevé généré par les marqueurs avec le motif TA chez le pois chiche.

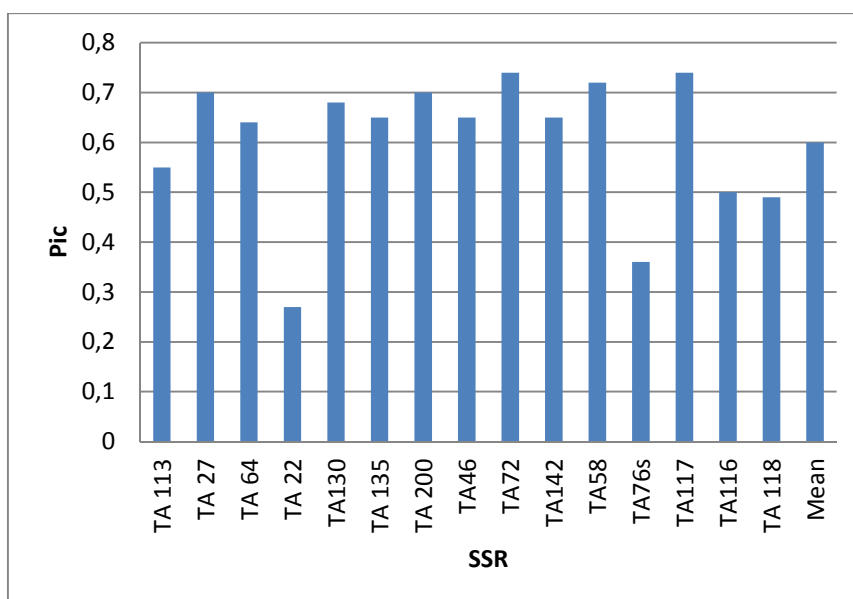


Figure n°32 : contenu d'information du polymorphisme (PIC).

IV.2 Distance génétique et dendrogramme :

L'analyse des différents profils SSR par le logiciel Power Marker, nous a permis de calculer la distance génétique et par la suite aboutir à la construction d'un dendrogramme qui illustre parfaitement les relations génétiques probables entre les dix accessions de pois chiche étudiées.

Il faut noter que les distances génétiques plus petites, entre deux populations différentes, indiquent une étroite relation génétique alors que les grandes distances génétiques indiquent que les populations en question sont très différents génétiquement.

La valeur de la distance génétique varie entre 0.00 et 1 (Tableau 13). La distance génétique la plus élevée est enregistrée entre la population F1038 et FLIP 9213C, donc ces deux populations sont génétiquement éloignées ; Par contre, la distance la plus faible(0,43), est enregistrée entre (GARB (9) et FLIP 8293).

Tableau n°13 : Distance génétique entre les 10 accessions étudiées

	BLED (6)	ESP 1	F 1038	FLIP 8492C	FLIP 9393C	FLIP 9213C	FLIP 8293	GARB (9)	ILC 482	CECE NERO
BLED (6)	0,00	0,67	0,80	0,60	0,73	0,47	0,67	0,57	0,87	0,87
ESP1	0,67	0,00	0,80	0,60	0,60	0,80	0,80	0,79	0,67	0,93
F1038	0,80	0,80	0,00	0,80	0,73	1,00	0,73	0,71	0,80	0,87
FLIP 8492C	0,60	0,60	0,80	0,00	0,73	0,80	0,93	0,79	0,80	0,87
FLIP 9393C	0,73	0,60	0,73	0,73	0,00	0,67	0,80	0,64	0,80	0,87
FLIP 9213C	0,47	0,80	1,00	0,80	0,67	0,00	0,67	0,50	0,80	0,73
FLIP 8293	0,67	0,80	0,73	0,93	0,80	0,67	0,00	0,43	0,67	0,47
GARB (9)	0,57	0,79	0,71	0,79	0,64	0,50	0,43	0,00	0,71	0,71
ILC482	0,87	0,67	0,80	0,80	0,80	0,80	0,67	0,71	0,00	0,60
CECE NERO	0,87	0,93	0,87	0,87	0,87	0,73	0,47	0,71	0,60	0,00

Les distances génétiques du tableau 13 sont utilisées pour la conception d'un dendrogramme (Figure 34) à partir de la matrice de similarité basée sur le coefficient de Jaccard et la méthode de regroupement UPGMA (Unweighted Pair- Group Methode Arithmetic Averaging Algorithm).

Ce groupement constitue un moyen efficace pour l'évaluation de la relation génétique entre les populations. En effet, cette classification a comme but de regrouper les individus les plus proches en classes. Ce dendrogramme permet de mettre en évidence la séparation des accessions et au fur et à mesure que le pourcentage de similarité augmente, on rassemble en sous-groupes plus spécifiquement des populations qui se ressemblent

L'arbre de distance génétique réalisé à l'aide de l'analyse par la méthode UPGMA a clairement défini les génotypes dans deux groupes principaux (A et B) (Figure 33).

Dans le groupe A, les six génotypes sont clairement différenciés en trois sous-groupes ; Le sous-groupe I contenait deux accessions (GARB 9, FLIP 82 93), la première est une population locale alors que la deuxième est une variété introduite originaire de la Syrie ; Le sous-groupe II

comprenait deux génotypes (CECE NERO et ILC 482) dont le premier CECE NERO est une variété locale Italienne alors que la seconde est une variété provenant de la Turquie.

Dans le sous groupe III, nous trouvons deux génotypes (FLIP9213C et F1038) dont le premier est une variété introduite originaire de la Syrie et la seconde est une variété locale Algérienne.

Le groupe B quant à lui comprenait quatre génotypes, divisés en deux sous groupes, le sous groupe IV contenant deux génotypes (BLED (6) et FLIP 8492C), dont le premier est une variété locale Algérienne et le second est une variété introduite originaire de la Syrie. Alors que le groupe V comprend les deux génotypes restants (FLIP 9393C, ESP1), dont les deux sont des variétés étrangères. La variété FLIP 9393C originaire de la Syrie alors que la variété ESP1 est originaire d'Espagne.

Le dendogramme a clairement séparé les génotypes en deux groupes principaux A et B avec cinq sous groupes et deux génotypes dans chacun et a relativement démontré l'existence d'un schéma bien défini de relations entre le type de pois chiche (Kabuli type ou type Desi) et la distance génétique.

Dans Le groupe principal (A), les deux sous groupes I et III semblent suivre dans leur regroupement le type de pois chiche et le rapprochement génétique, ces derniers contiennent quatre génotypes différents (GARB 9, FLIP 8293, FLIP 9213c et F1038) appartenant au type Kabuli cultivé dans la région méditerranéenne. Selon ce type de regroupement, où le type du pois chiche est le même ; la distinction en sous-groupes est logique en raison de la distance génétique existantes.

Le sous-groupe II comprend deux génotypes de deux type de pois chiche différent, le CECE NERO (Italie) qui est du type Desi (Asie du Sud et l'Ethiopie) alors que le ILC (Turquie) est du type Gulabi (Asie), selon la bibliographie ; le type Gulabi résulte d'un croisement entre le type Kabuli et le type Desi, donc ce groupement est dû au rapprochement géographique originaire de ces deux génotypes et au rapprochement génétique.

Le groupe secondaire (B) comprend uniquement les génotypes appartenant au type Kabuli et originaires de la région méditerranéenne, La distinction entre ces deux sous-groupes (IV et V) est due donc uniquement à la génétique,

Les résultats observés ont révélé la présence d'une diversité génétique au sein des accessions. La totalité des 10 accessions sont bien individualisées les unes des autres et que par le biais de ces marqueurs en fonction du type de pois chiche (Kabuli ou Desi) et en fonction de la distance génétique ou le degré de rapprochement génétique entre eux.

Il est évident de signaler que la séparation des géotypes appartenant au même type (kabuli, desi ou gulabi) ou à la même origine géographique est due à la génétique de ces accessions (géotypes rapprochés ou distinct). Le même résultat fut déjà évoqué par Hajibarat et *al* (2014) et par Bharadwaj et *al.*, (2011).

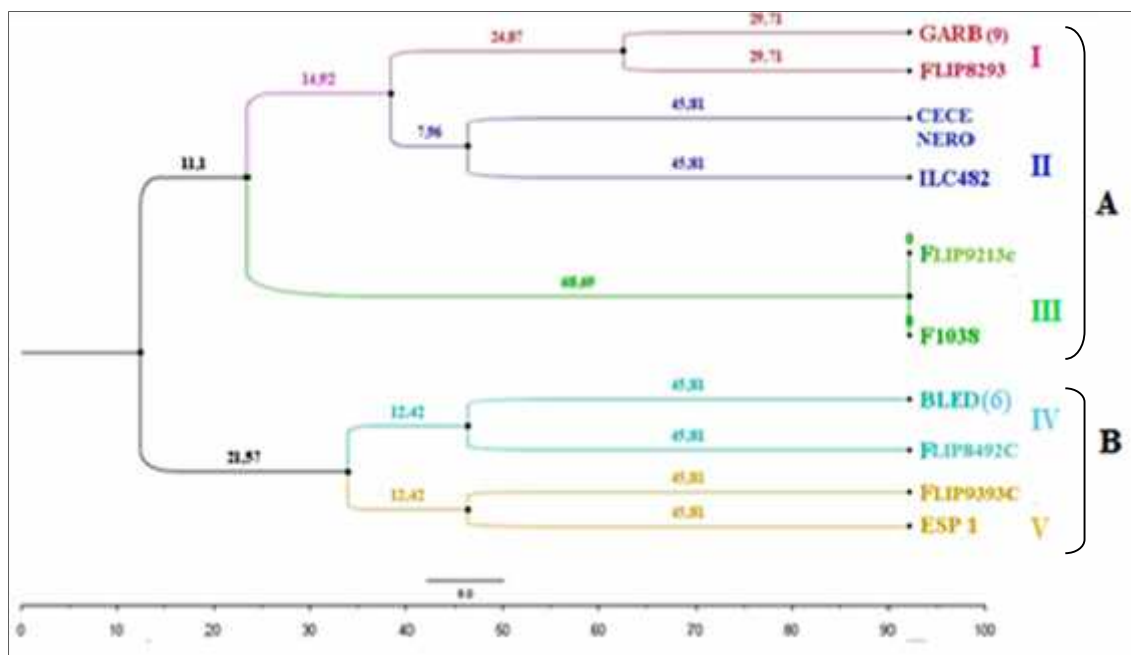


Figure n°33 : Dendrogramme montrant la relation entre 10 accessions de pois chiche

IV.3 Analyse des coordonnées principales (PCoA):

Une analyse de coordonnées principale PCoA a également été réalisée, les résultats de cette analyse montrés sur la figure 34. Cette dernière représente 52, 69% du total des informations générées par cette étude moléculaire. Cette valeur signifie que notre PCoA est acceptable au niveau statistique.

Il n'existe pas de séparation nette entre les populations, mais nous pouvons remarquer deux groupes, le premier inclus les accessions GARB (9), FLIP 8293, CECE NERO et ILC 482, FLIP9213C et F1038, tandis que le second groupe est composé des accessions BLED (6), FLIP 8492C, FLIP 9393C et ESP1. Quelques populations partagent les mêmes valeurs de coordonnées. Ce même regroupement a été observé au niveau du dendrogramme décrit au niveau de la Figure 33.

Au niveau du dendrogramme et au niveau de la PCoA, les génotypes de pois chiche sont contigus en fonction de leur Type, et de la distance génétique qui les séparent. Le même type de regroupement a été trouvé par Hajibarat et *al* (2014) et Bharadwaj et *al.*, (2011).

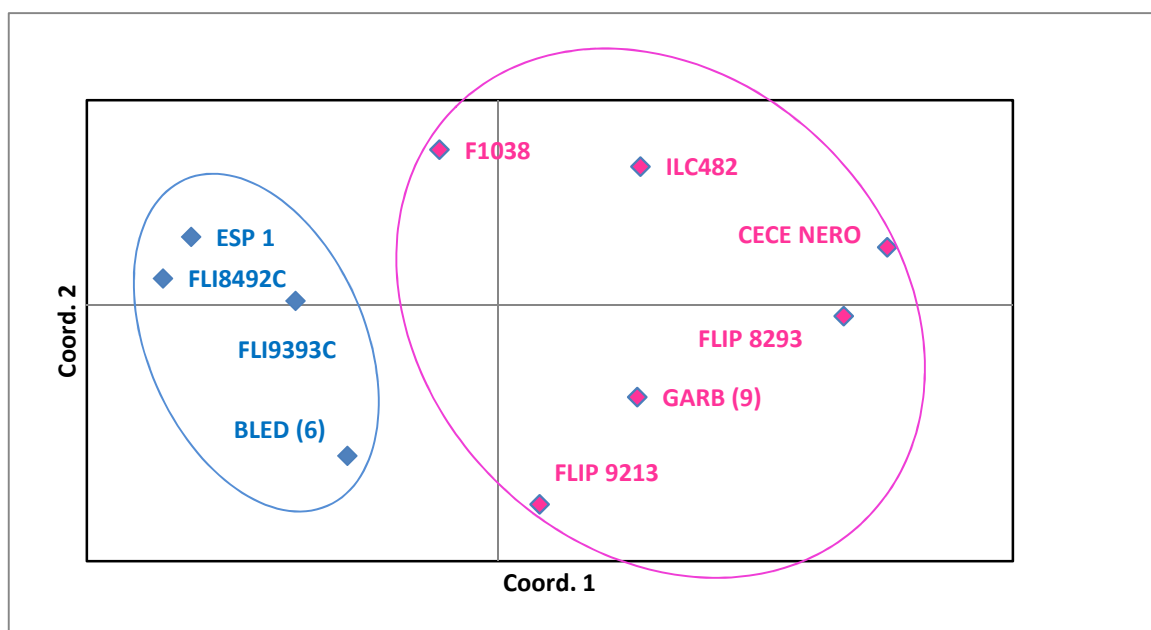


Figure n° 34 : classification des 10 accessions de pois chiche par l'analyse des coordonnées principales (PCoA).

IV.4 Analyses factorielle de la correspondance (AFC) :

L'analyse factorielle de la correspondance (AFC) représenté au niveau de la figure 35 reflète un taux de 49,13% de la variabilité génétique générée lors de l'étude des 10 génotypes de pois chiches étudiés.

Nous remarquons la présence de six groupes différents sur cette AFC ; Le premier comprend trois variétés (FLIP 8492C, FLIP 9393C et ESP1) ; le second une variété introduite (ILC482) et une variété locale italienne (CECE NERO). Le troisième groupe englobe une population locale algérienne (GARB (9)) et une variété introduite (FLIP 8293). Les trois autres génotypes représentent chacun un groupe à part. Il s'agit de deux variétés locales Algériennes (BLED (6) et F1038) et une variété étrangère FLIP 9213C.

La distribution des différents groupes par l'analyse factorielle de la correspondance (AFC) est due à la variabilité génétique contenue dans les dix génotypes de pois chiche ; certaines sont des variétés, d'autres sont des populations locales (contenant une grande variabilité génétique); ces populations sont considérées comme un réservoir de variabilité génétique (autogamie presque totale avec seulement 2% d'allogamie). (Tayyar *et al.*, 1996).

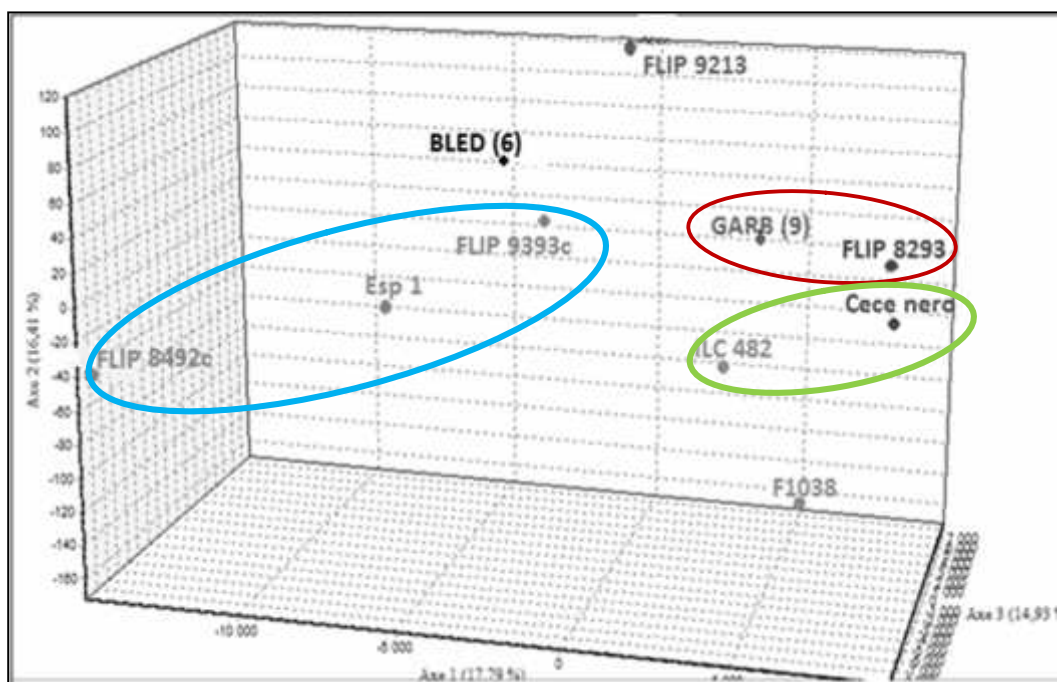


Figure n°35 : Analyse factorielle de la correspondance (AFC) dérivée de 15 loci SSR sur 10 accessions de pois chiche

CONCLUSION

En conclusion, notre étude avait pour objectifs de caractériser les ressources génétiques du pois chiche (*Cicer arietinum*) représentées par 10 accessions différentes à travers la zone d'étude « l'Oranie ». De ce fait ; La collecte et l'évaluation adéquate des ressources génétiques deviennent indispensables.

Signalons bien que la diversité génétique des pois chiche n'a pas fait l'objet de gestion et /ou de conservation ; C'est ainsi qu'actuellement les anciennes variétés, du moins la trentaine de variétés citées par les différents auteurs, ne sont plus cultivées à grande échelle. Les seuls travaux qui traitent de la diversité de quelques légumineuses alimentaires en Algérie sont ceux réalisés par Laumont et Chevassus (1956) sur le pois chiche et Laumont et Chevassus (1960) sur la lentille. Par ailleurs, peu de travaux ont été menés récemment sur l'identification et l'utilisation de nos cultivars locaux.

La caractérisation en vue d'une meilleure utilisation des populations de pois chiche, est urgente et cela compte tenu de leur place dans l'alimentation et de leur état actuel en matière d'adaptation variétale (biotique et abiotique). Cette caractérisation permet de connaître le matériel local que nous possédons en vue de mettre à la disposition des améliorateurs et des sélectionneurs une diversité façonnée dans les conditions locales.

les travaux de recherche réalisés, depuis plus 15 ans par les différentes structures (INA, ITGC...), ont porté essentiellement sur des aspects de techniques culturales et de comportement. Maatougui et *al.*(1996) ont précisé l'adaptation du pois chiche en Algérie, son utilisation, les zones de production et les contraintes liées à sa culture.

L'existence de la diversité génétique au niveau de toutes les espèces est essentielle pour toutes actions d'amélioration génétique. Cela implique nécessairement la détermination, la détection et l'évaluation de cette variabilité génétique avant de passer à l'amélioration.

Parmi un ensemble de caractères indicateurs de la diversité génétique, nous avons opté, dans un premier temps, l'étude de la diversité génétique par les marqueurs morpho-métriques des accessions de pois chiche, un travail qui a été effectué en 2013-2014 au niveau de la wilaya de Tlemcen sur quatre accessions de pois chiche et qui a révélé l'existence d'une variabilité génétique ainsi qu'une adaptation remarquable à l'environnement.

Nous rapportons ici une étude basée sur l'utilisation des marqueurs moléculaires du type SSR comme outil de base visant la caractérisation de la diversité génétique entreprise sur 10 géotypes de pois chiche au niveau de l'Oranie.

L'analyse de la diversité utilisant les 20 marqueurs SSR a produit 59 allèles, avec une moyenne de trois allèles par marqueur. Ceci suggère la présence d'un polymorphisme considérable au niveau des loci microsatellites étudiés et révèle un niveau modéré de diversité génétique au niveau du matériel génétique de pois chiche existant sur terrain.

Ainsi, cette diversité génétique relativement riche des géotypes de pois chiche pourrait être considérée comme une source intéressante pour des objectifs de sélection ultérieurs visant à améliorer cette culture (productivité, recherche des gènes de résistances et d'adaptations) et doit être suivie par d'autres travaux plus élaborés et plus élargis à d'autres accessions et à d'autres régions géographiques.

A la suite des résultats obtenus au terme de ce travail, nous proposons :

- ✓ Dresser l'inventaire des populations locales et introduites, la collecte de ces ressources génétiques à travers tout le pays ainsi que la conservation in situ et ex situ ;
- ✓ Caractériser des ressources génétiques locales et introduites de pois chiche ;
- ✓ Séparer et décrire les différentes formes rencontrées (type Kabuli, Desi ou Gulabi) ;
- ✓ Etablir la nomenclature des caractères de description (caractères agro-morphologiques) ;
- ✓ Etudier la variabilité de ces caractères, ainsi que leur corrélation et leur valeur Génétique ;
- ✓ Etudier le comportement des cultivars collectés dans différentes zones pédoclimatiques (adaptation et résistances) ;
- ✓ Tester de nouveaux marqueurs microsatellites et augmenter leur nombre ;
- ✓ Utiliser des marqueurs microsatellites liés aux traits agro-morphologiques ;
- ✓ Augmenter le nombre d'échantillons afin d'étudier les variations intra-populations et les variations en fonction des données micro-géographiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AAC.2006. Agriculture et Agroalimentaire Canada. 2006 .Le Bulletin bimensuel ; Vol 17; 15; 4 pages.AAC, 2006. Pois chiche : Situation et perspectives.
- Abbo S., Berger J. and Turner N.C. 2003. Viewpoint: evolution of cultivated chick-pea: four bottlenecks limit diversity and constrain adaptation. *Functional Plant Biology*, p1082.
- Abdelguerfi A., Laouar M., Boukecha D., Bouzid L. Et Zine F. 1998. Les végétaux cultivés (locaux et introduits). Cas des Céréales, Légumes Secs, Fourrages et Arbres Fruitiers. Rapport. 1-147.
- Abdelguerfi A ; Laouar M., Zine F., Bouzid L., Kadri A Et Laïb M. 2000. Caractérisation préliminaire de quelques cultivars locaux de *Cicer arietinum* collectés dans la région de Tizi-Ouzou, *Revue de l'INRAA*.
- Abdelguerfi A-Laouar M., Hamdi N., Bouzid H., Zidouni F. Laib M., Bouzid L et Zine F.2001. les légumineuses alimentaires en Algérie : situation, état des ressources phylogénétiques et cas du pois chiche a Bejaia. 3emes journées scientifiques de l'INRAA Bejaia, 11-13 avril 2001.
- Ajibade SR., Weeden NF., Chite SM .2000. Inter simple sequence repeat analysis of genetic relationships in the genus *Vigna*. *Euphytica* 111: 47–55.
- Allali H., Boussouar K .2007. Etude des besoins en eau de la culture de pois chiche (*Cicer arietinum*) dans la région de Sidi Bel Abbés mémoire de fin d'étude de D.E.S biologie et physiologie végétale.
- Anthelme B., Ben Ali S., Iordache C. 1978. Contribution à l'étude de la valeur nutritive des variétés de légumes secs cultivés en Algérie. Vol VIII-n°1 année 1978. Extrait de : *Annales de l'INA*, 63-67.
- Arnaud J.F. 2006. Passé, présent et avenir, Une brève histoire des marqueurs moléculaires utilisés en génétique des populations. 69p.
- Arumuganathan K, Earle ED. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol Biol Report*. 1991; 9:208–218. doi: 10.1007/BF02672069.
- Auckland A.K. and Van Der Maesen L J. 1980. Chickpea. *American Society of Agronomy Crop Science Society of America*, 677, S.Segoe Road, Madison WI 537 11. Hybridization of crop plants. p. 251.
- Ayadi A.1986. Analyse agronomique de différents types de pois chiche -Influence de la date de semis. Diplôme d'agronomie approfondie. ENSA, France, 73p.
- Babar B. M., Shah T. M., Abbas G. and Ahsanul haq M.2009. Genotype X environment interaction for seed yield in Kabuli chickpea (*Cicer arietinum L.*) genotypes developed through mutation breeding. *Pakistan Journal of Botany*. 4:1883-1890.
- Bamouh A., Noufiri H., Zeggaf T., Moutawakil H.2002. Développement et application d'un modèle de simulation du bilan hydrique (AGROSIM) à la prévision des rendements de la fève et du pois

- chiche en zone semi-aride marocaine. Proceedings de la Conférence Internationale "Politiques d'irrigation: considérations micro et macroéconomiques". Agadir, Maroc.
- Bampidis V A., Christodoulou V., Nistor E., Skapetas B., Nistor G H. 2009. The use of chickpeas (*Cicer arietinum*) in poultry diets: a review. *Lucr ri tiin ifice Zootehnie i Biotehnoigi*, 42 (1): 323-330.
 - Bardakci F. 2001. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Turkish journal of Biology*. 25: 185-196.
 - Bart S., Melchinger AE., Lubberstedt T.2002. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh investigated by cleave amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter-simp sequence repeat (ISSR) markers. *Mol Ecol* 11: 495–505.
 - Baumgartner A.1998. Le pois chiche : la viande des pauvres. *Tabula*, 3: 16–19.
 - Beaumont M.A. et Nichols R.A. 1996. Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure. *Proc. R. Soc. Lond. B* 263, p1619.
 - Bejiga G., Eshete M. & Anbessa Y. 1996. Improved cultivars and production technology of chickpea in Ethiopia. Research Bulletin No 2. Debre Zeit Agricultural Research Center, Debre Zeit, Ethiopia. P 60.
 - Bejiga, G.; van der Maesen, L. J. G., 2006. *Cicer arietinum* L. Record from Protabase. Brink, M. & Belay, G. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands.
 - Ben Mbarek K., Boujelben A., Hannachi C et Mohsen Boubaker. 2009. Criblage et performances agronomiques de 45 génotypes de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) soumis à un régime hydrique limité. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* p : 382.
 - Ben Mbarek. K .2011 . Comportement du pois chiche (*Cicer arietinum*) du type « Kabuli » vis-à-vis du stress hydrique et identification des génotypes tolérants la sécheresse Th. Doct., instit supé agronomique de Chott Meriem –Tunisie.
 - Berger J., Abbo S. and Turner N.C.2003. Ecogeography of annual wild *Cicer* species: The poor state of the world collection. *Plant Genetic Resources. Crop Sci.*, 43:1076-1090
 - Bharadwaj C., Chauhan S. K., Yadav S., Satyavathi T. C., Singh R., Kumar J. 2011. Molecular marker based linkage map of chickpea (*Cicer arietinum* L.) developed from desi × kabuli.
 - Blumler M A. 1991. Modelling the origins of legume domestication and cultivation. *Econ. Bot.* 45 p.
 - Botstein D., White RL., 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 –333.
 - Boughrarou J.G. 1992. Contribution à l'étude de génotypes algériens de *cicer arietinum* L. en vue de leur amélioration. Thèse de magister INA.

- Bouri A et GAOUAR ,S S B. 2018. caractérisation génétique de quelques variétés de pois chiche (*Cicer arietinum*) au niveau de la wilaya de Tlemcen. Algérie » Editions universitaires européennes – février 2018, ISBN : 978-620-2-28081-5. SIA Omniscryptum Publishing.
- Bouri A., GAOUAR S S B., Mahdad M Y., Sidhoum M. 2019. Effect of the Genotype× Environment Interaction on the main Components of Yield in Chickpea (*Cicer ariteinum*) in Tlemcen, Algeria. » GENETICS AND BIODIVERSITY JOURNAL (GABJ), 2019.
- Braun P. H., Planquaert P. H., Wery J. 1988. Pois chiche : culture, utilisation; Brauchure. Ed. ITCF 11p.
- Bretting, P.K., et M.P. Widrlechner. 1995. Genetic markers and plant genetic resource management. In : Janick J. ed. Plant Breeding Reviews. New York: John Wiley & Sons Inc. **13**: 11-86
- Brink M., Belay G. 2006. Ressource végétales de l'Afrique tropicale 1 céréales et légumes secs. Fondaton PROTA, Wageningen, Pays-Bas/Backuys Publishers, Leiden, Pays-Bas/ CTA, Wageningen, Pays-Bas: 328 pp.
- Bunyamin Tar'an.2015 .le pois chiche *in* Encyclopédie Cannadienne.2019. Historica Canada.
- Chakraborti D., Sarkar A., Gupta S. and Das S.2006. Small and large scale genomic DNA isolation protocol for chickpea (*Cicer arietinum* L.), suitable for molecular marker and transgenic analyses. African Journal of biotechnology. 8: 585-589.
- Claros G.M. & Quesada A.R. 2000. PCR as a specific, sensitive and simple method suitable for diagnostics. In : *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 28: 223-226.
- Collard BCY., Pang ECK., Ades PK., Taylor PWJ .2003. Preliminary investigation of QTLs for seedling resistance to *ascochyta blight* from *Cicer echinospermum*, a wild relative of chickpea. The or Appl Genet107 : p 719.
- Cubero J. I. 1987. Morphology of chickpea. In : The Chickpea, M.C. Saxena & K.B. Singh.1987 (eds), pp.35–66, CAB International, Wallingford, UK.
- De Vienne M., Chausse A., Maurice & S. Santoni 1998. Les marqueurs moléculaires et leurs utilisations. 95ème Edition, 1-5.
- Divaret I., Thomas G. 1998. Use of RAPD markers to analyse the genetic variability of a collection of *Brassica oleracea* L. Proc. Int. Symp. On Brassicas. (T. Gregoire, A.A. Monteiro eds.). Acta Hort. 459: 255-262.
- Djenadi M., Zenini M. 2017. Sélection des génotypes de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) Tolérants à la déficience en phosphore. Mém Master en Sciences Agronomiques Biotechnologie des Symbioses Végétales, Université *Djilali Bounaamade* de Khemis Meliana .3p.
- DSASI, 2015. Rapport de Statiques agricoles "série B". Direction des statistiques agricoles et systèmes d'information (DSASI). Sous-direction des statistiques. Ministère de l'agriculture, du Développement Rural et de la Pêche.

- DSASI. 2009 à 2017. Rapport de Statistiques agricoles "série B". Direction des statistiques agricoles et système d'information (Dsasi). Sous-direction des statistiques. Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche.
- Duke J.A. 1981. Legumes of world economic importance Ed .Plenum press, New-York and London, 25p.
- Fabre C. 2008. Fiche technique production développement en languedoc-Roussillon. Filière oléo-protéagineux. Septembre 2008.
- FAO.2007. Rapport: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FAO. 2017. Rapport. L'Année internationale des légumineuses s'achève en appelant à poursuivre les efforts dans cette voie.
- FAO.2018. FAOSTAT. Rapport: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Ferreira M Y. & Grattapaglia D. 1998. Introducción al uso de Marcadores Moleculares en el Análisis Genético. *Embrapa-cenargen*. Brasilia, DF, Brasil. 221 p.
- Ghaffari P., Talebi R., Keshavarz F., 2014. Genetic diversity and geographical differentiation of Iranian landrace, cultivars and exotic chickpea lines as revealed by morphological and microsatellite markers. *Physiol Mol Biol Plant* 20(2):225–233.
- GNIS.2020. ressources pédagogiques de la filière semence. Edition du 9 mars 2020. (<https://www.gnis-pedagogie.org/>).
- Graham PH., Vance C. 2003. Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Phasseolus* 131, 872-877.
- Hadrys H., Balick M. & Schierwater B. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in: *Molecular Ecology*.1: 55-63 .
- Hajibarat Z., Saidi A and Talebi, R. 2014. Genetic diversity and population structure analysis of landrace and improved chickpea (*Cicer arietinum*) genotypes using morphological and microsatellite markers *Environmental and Experimental Biology* (2014) 12: 161–166.
- Hajibarat Z., Saidi A and Talebi R.2015. Characterization of genetic diversity in chickpea using SSR markers, Start Codon Targeted Polymorphism (SCoT) and Conserved DNA-Derived Polymorphism (CDDP). *Physiol Mol Biol Plants* (July–September (2015) 21(3):365–373.
- Hejjaoui K. 2013. Caractérisation génétique des populations locales de *Vicia faba* L. par la technique des SSR. Mém MASTER en sciences et techniques "gestion & conservation de la biodiversité. Faculté des Sciences et Techniques Fès.Maroc.
- Hamadache A., Boulafa H., Aknine M. 1997. Mise en évidence de la période de sensibilité maximale du pois chiche d'hiver envers les mauvaises herbes annuelle dans la zone littorale. *Céréaliculture*. 31.
- Hamadache A. 2014. Grandes cultures, principaux itinéraires techniques des principales espèces de grandes cultures pluviales cultivées en Algérie et en Afrique de Nord (agriculture conventionnelle). Tome 2, légumineuses alimentaires (pois chiche, fèves, lentilles).

- Hamrick J.L., God, M.J.W. and Sherman Broyles S.L. 1995. Gene flow among plant populations: Evidence from molecular markers. In: Hoch, P.C. and Stephenson, A.G. (eds) Experimental and Molecular Approaches to Plant Systematics. Missouri Botanical Garden, Missouri.
- Hanelt P. 2001. Mansfeld's encyclopedia of agricultural and horticultural crops (except ornamentals). 1st English edition. Springer Verlag, Berlin, Germany. 3645 pp. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (Editors).
- Hansh R., Gomez D., Witt C., Hoffmann G., Piaw Engel C., Jorg K., Heinz R., Werner M., Kiaseand Rale R. 2001. Menel. Tobacco plants that lack expression of functional nitrate reductase in roots show changes in growth rates and metabolite accumulation. J., Exp. Bot: p1251-1258.
- Harlan J R and Dewet J M J .1971. Toward a rational classification of cultivated plants. Taxon 20, 509–510.
- Haware M P., Narayana Raoj., Pundir Rps . 1992. Evaluation of wild *Cicer* species for resistance to four chickpea diseases. Int Chickpea News lett27 :16–18.
- Haware M P. 1998. Diseases of chickpea. In: Allen, D.J. & Lenné, J.M. (Editors). The pathology of food and pasture legumes. CAB International, Wallingford, United Kingdom. pp. 473–483.
- Hüttel B., Winter P., Weising K., Choumane W., Weigand F., Kahl G .1999. Sequence tagged microsatellite site markers for chickpea (*Cicer arietinum* L.). Genome42 :210–211.
- ICARDA. 1992. Annual Report for 1992; Center Agricultural Research Dry Areas, Aleppo, Syria.
- ICRISAT. 2003. Archival Report: Global Theme Biotechnology. ICRISAT, Patancheru; AP, India pp 31-35.
- ICRISAT. 2013. report :International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropic.
- ICRISTAT. 2017. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). ICRISAT. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropic.
- INRAA. 2006. Rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques, juin 2006 .17, 24 et 25p.
- ITGC. 2018. institut technique des grandes cultures. Culture du pois chiche en Algérie. Document de vulgarisation ITGC - 2018. ITGC.BP. 16 El-Harrach 16200 Alger.
- Jain K.S., Sharma H.L., Mehra R.B. & Khare J.P. 1991. Multiple correlation and regression analysis in lentil. Lens Newsl.
- Jay A., Glasel, 1995. Validity of nucleic acid purities monitored by 260nm/280nm absorbance ratios. *BioTechniques*, 18(1):62-3.
- Jones C.J., Edwards K.J., Castiglione S., Winfiel M.O., Sala F., Vandeviel C., Bredemeijer G., Vosman B., Matthes M., Daly A., Brettschneider R., Bettini P., Buiatti M., Maestri E., Malcevschi A., Marmioli N., Aert R., Volckaert G., Rueda J., Linacero R., Vasquez A., Karp A. 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants. *Molecular Breeding* 3:381p.

- Kanouni H., Taleei A., Okhovat M. 2011. Ascochyta blight (*Ascochyta rabiei* (Pass) of chickpea : Breeding Strategies for Resistance. International Journal of Plant Breeding and Genetics 5 : 1-22.
- Keneni G., Bekele E., Imtiaz M. 2012. Genetic diversity and population structure of Ethiopian chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm accessions from different geographical origins as revealed by microsatellite markers. – Plant Mol. Biol. Rep. 30: 654 – 665.
- Khan R., Khan H., Farhatullah. 2010. Evaluation of microsatellite markers to discriminate induced mutation lines, hybrid lines and cultigens in chickpea (*Cicer arietinum* L.) – Aust. J. Crop Sci. 4: 301 – 308.
- Khanna-Chopra R. Et Sinha S.K. 1987. Chickpea: physiological aspects of growth and yield. In: The Chickpea. 409 pages ; CAB International, (Eds.Saxena, M.C., Singh, K.B.), Wallingford, Oxon, UK
- Klinger T., Arriola P E. and Ellstrand N C. 1992. Crop–weed hybridization in Radish (*Raphanus sativus*): effects of distance and population size. American Journal of Botany 79, p 1431.
- Knights E.J., Açıkgöz N., Warkentin T., Bejiga G., Yadav S.S. and Sandhu J.S.2007. Area, Production and Distribution. In Yadav S S. , Redden R J., Chen W Andsharma B.2007. Chickpea Breeding and Management CAB International 2007- Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India. 10.11 pp.
- Ladizinsky G. 1987. Pulse domestication before cultivation. Econ. Bot.
- Laumont P et Chevassus A. 1956. Note sur l'amélioration du pois chiche en Algérie. *Institut Agricole d'Algérie*, 10 (2) : 1-23.
- Laumont P et Chevassus A., 1960. Note sur l'amélioration de la lentille en Algérie. Ann. Ins. Agr., des services de recherche et d'expérimentation agricoles de l'Algérie. Tome II, Fasc. 3, Juil. 1960. 35p.
- Le Pennec M. & Beninger P G. 1991. Reproductive system. In: *Scallops : Biology, Ecology and Aquaculture* (Ed.Shumway, S.E.), 177-223.
- Leveque CH ; Claude Mounolou J. 2008. Dynamique biologique et conservation Biodiversité ; 2ème édition Dunod, Paris.
- Levin D. and Kerster H. 1974. Gene flow in seed plants. *Evolutionary Biology* 7, 139–220.
- Li Z. and Zhu Y. 1989. Rice male sterile cytoplasm and fertility restoration. In: IRRI, Hybrid Rice. International Rice Research Institute, Manila, p. 85.86.
- Lin J J., Kuo F., Ma J., Saunders J A., Beard H S., Macdonald M H., Kenworthy W., Ude G N., Matthews B.F. 1996. Identification of molecular markers in soybean comparing RFLP, RAPD and AFLP DNA mapping techniques. *Plant. Mol. Biol. Rep.* 14(2): 156.
- Liu K, Muse SV.2005. Power Marker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*. 2005 May 1;21 (9):2128-9. Epub 2005 Feb 10.
- Loomis R S. et Condor. D J. 1992. Crop Ecology: Productivity and Management in Agricultural Systems. Cambridge University Press, Cambridge.

- Lynch M. & Milligan B.G. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3: 91-99.
- Maatougui M.E-H., Bouznad Z., et Labdi M. 1996. Chickpea in Algérie. In Adaptation of chickpea in the West Asia and North Africa Region. Edited by N.P.Saxena, M.C.Saxena, S.M.Virmani and H.Arris, ICRISAT-ICARDA, 89-99.
- MADR. 2014. Annuaire statistiques du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. / FAO Stat, 2013. Statistical database of the Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- MADR. 2018. Annuaire statistiques du Ministère de l'Agriculture et Développement Rural.
- Maheri Sis N., Mohammad Chamani., Ali Asghar Sadeghi., Ali Mirza Aghazadeh and Abolfazl Aghajanzadeh Golshani .2008. Department of Animal science, Islamic Azad University- Science and Research Branch, Tehran, Iran.
- Maougal R T.2004. Techniques de production d'inoculum Rhizobial. Etude de cas pois chiche (*Cicer arietinum*. L) : Inoculation et nodulation : magister en biotechnologies végétales -Université Mentouri, Constantine. Algérie.p15.
- Malhotra M C., 1998. Germplasm program legumes. Annual report. Aleppo, Syria: ICARDA.
- Mamta Sharma., Raju Ghosh. 2016. An Update on Genetic Resistance of Chickpea to *Ascochyta Blight* International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru 502324, 15p.
- Mcphee K E. & Muehlbauer F J.2002. Improving the nutritional value of cool season food legumes. *Journal of Crop Production* 5(1-2):p 191.
- McPherson M J and Moller S G.2000. The Basics PCR. BIOS. Springer-Verlag New York Inc. USA, 276p.
- Mebarek L. 2010. Analyse comparative de la diversité génétique et de la structure des populations chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) à l'aide de marqueurs SSR, DArT et du pedigree.Université Laval.
- Melake B. 2000. Molecular marker techniques, In: International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ibadan, Nigeria, 13-15.
- Melakhessou Z. 2007. Etude de la nuisibilité directe des adventices sur la culture de pois chiche d'hiver (*Cicer arietinum* L) variété ILC 3279, cas de *Sinapis arvensis* L. mémoire mag en scien agronomiques. Univ el-hadj lakhdar – BATNA- ALGERIE.p11, 12,15.17.
- Morgante M. & Olivieri A M. 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The plant journal: cell and molecular biology*. 3(1):175-82.
- Moulin L. 2002. Etude moléculaire de la diversité symbiotique des rhizobia: de l'analyse du gène nod A à l'identification de rhizobia au sien des béta-protobactéries. Thèse doctorat en science biologique. Université Claude Bernard Lyon I. France. P289.
- Muehlbauer F J., Kaiser W J. and Simon C J. 1994. Potential for wild species in cool season food legume breeding. *Euphytica* , p109.

- Nayak SN., Zhu H., Varghese N., Datta S., Choi H-K., Horres R., Jüngling R., Singh J., Kavi Kishore PB., Sivaramakrishnan S., Hoisington DA., Kahl G., Winter P., Cook DR., Varshney RK. 2010. Integration of novel SSR and gene-based SNP marker loci in the chickpea genetic map and establishment of new anchor points with *Medicago truncatula* genome. *Theor Appl Genet* 120:1415.
- Nei M., Maruyama T & Chakraborty R. 1975 .The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29, 1-10.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.
- Nei M. and Saitou N. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. 4(4):406-25.
- Nguyen TT., Taylor PWJ., Redden RJ., Ford R. 2004. Genetic relationships in the *Cicer* genus revealed with AFLP analysis. *Plant Breed* 123:173–174.
- Nguyen TT., Taylor PWJ., Redden RJ., Ford R. 2005. Resistance to *Ascochyta rabiei* in a wild *Cicer* germplasm collection. *Aust J Exp Agri* 45 : p 1291.
- Ofori I. 1996. Correlation and path-coefficient analysis of components of seed yield in Bambara groundnut (*Vigna subterranea* L.). *Euphytica*, 91.
- Pacucci G., Troccoli C., Et Leoni B. 2006. Supplementary Irrigation on Yield of Chickpea Genotypes in a Mediterranean Climate. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Manuscript LW 04 005. Vol. VIII. May, 2006.
- Paterson A H., Bowers J E., Burow M D., Draye X., Elsik CG., Jiang C X., Catherine S K., Lan T H., Lin Y R., Ming R. et Wright R J. 2000. Comparative genomics of plant chromosomes. *Plant cell*.
- Peakall R. and Smouse P. 2006. Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. – *Mol. Ecol. Notes* 6: 288 – 295.
- Plancquaert PH. et Wery J. 1991. Le pois chiche : Culture et utilisation. Brochure Ed. ITCF, Paris, France ; 11 p.
- Raina SN., Rani V., Kojima T., Ogihara Y., Singh KP., Devarumath RM .2001. RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification and phylogenetic relationships in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species. *Genome* 44: 763–772.
- Readdy D.V.R. and Nene Y.L. 1987. pigeonpea pathology researches at ICRISTAT. Pigeonpea scientists meet , silve spring hotel, Nairobi, Kenya, 2-5 June.
- Rognon X., Meriaux J.C. et Verriere. 2005. Caractérisation génétique des races à l'aide des marqueurs moléculaires. *J.Rech.Equine* 31, p 147.

- Saeed A., Hovsepyan H., Darvishzadeh R., Imtiaz M., Panguluri S.K., Nazaryan R.2011. Genetic diversity of Iranian accessions, improved lines of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and their wild relatives by using simple sequence repeats. *Plant Mol. Biol. Rep.* 29: 848–858.
- Saccardo F & Calcagno F.1990. Consideration of chickpea plant ideotypes for spring and winter sowing. *CIHEAM, Options Méditerranéennes, Séries Séminaires.*9, 35.
- Saghai Maroof M A., Soliman, K M., Jorgensen R A et Allard, R W.1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphism Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *PNAS*, 8p.
- Saiki R K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T. & Erlich H.A. 1985. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences & restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. In: *Sciences*, 1350-1354.
- Samouelian F., Gaudin V., et Boccara M. 2009. Génétique moléculaire des plantes. Éd Quae.203p.
- Saxena M.C., 1980. Recent advances in chickpea agronomyIn: Proceedings of the international workshop on chickpea improvement, 28 February-2 March 1979ICRISAT, Hyderabad, India, 96-98.
- Saxena N.P.1984. adaptation of chickpea and pigeonpea to abiotic stresses. ICRISTAT 1987. Proceeding of the consultants workshop, 19-21 December 1984. ICRISTAT Patancheru, AP 502 324 India.
- Schmutz J.2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* 463, 178–183.
- Sefera T., Abebie B., Gaur P M. 2011. Characterisation and genetic diversity analysis of selected chickpea cultivars of nine countries using simple sequence repeat (SSR) markers. – *Crop Pasture Sci.* 62: 177 – 187.
- Sethy NK., Choudhary S., Shokeen B., Bhatia S.2006 a. Identification of microsatellite markers from *Cicer reticulatum* ; molecular variation and phylogenetic analysis. *Theor Appl Genet* 112:347–357.
- Sethy NK., Shokeen B., Edwards KJ., Bhatia S.2006 b .Development of microsatellite markers and analysis of intraspecific genetic variability in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Theor Appl Genet*.
- Sharma K D., Winter P. and Muehlbauer F J. 2004. Molecular Mapping of *Fusarium oxysporum* F. Sp. *Ciceris* Race 3 Resistance Gene in Chickpea. *Journal of Theoretical and Applied Genetics*, p1243.
- Sharma H C., Pampapathy G., Lanka S.K. and Ridsdill-Smith T J. 2005 Exploitation of wild *Cicer reticulatum* germplasm for resistance to *Helicoverpa armigera*. *Journal of Economic Entomology* 98.
- Singh Kb., Hawtin Gc., Nene YL., Reddy Mv.1981. Resistance in chickpeas to *Ascochyta rabiei*.*PlantDis*65:586–587.
- Singh K B. 1990. Identification and designation of physiological races of *Ascochyta rabiei*. *Indian Phytopathology*.

- Singh K B et Reddy MV .1994. Registration on *feight ascochyta blight*-resistant, early maturing, large seeded chickpea germplasms. *CropSci* 34:1416–1417.
- Singh F et Diwakar B.1995: Chickpea Botany and Production Practices Skill Development Series no. 16-Training and Fellowships Program ICRISAT .Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India p: 4.6.7.
- Singh K B., Pundir R P S., Robertson L D., Van Rheenen H A., Singh, U., Kelley T.J., Parthasarathy Rao P., Johansen C. & Saxena N.P. 1997. Chickpea. In: Fuccillo, D., Sears, L. & Stapleton, P. (Editors). *Biodiversity in trust: conservation and use of plant genetic resources in CGIAR Centres*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. pp. 100–113.
- Smithson J.B., Thompson J.A. and Summerfield R.J. 1985. Chickpea (*Cicer arietinum*L.). In: R.J. Summerfield and E.H. Roberts (eds.), *Grain Legume Crops*. Collins, London, UK.
- Soltani A., B. Torabi E ., Zeinali et Sarparast R. 2004. Response of chickpea to photoperiod as a qualitative long-day plant. *Asian Journal of Plant Sciences*; 3(6), 705p.
- Stamigna C., Mancinelli R., Crino P., Infantino., Portapuglia A., Saccardo F.1998. Multiple resistance to diseases in wild relatives of chickpea (*Cicerarietinum* L.).In:Proc 3rd Eur Conf Grain Legumes,14–19 Nov 1998,Valladolid,Spain.
- Summerfield R.J and Roberts E.H.1984. *Grain Legume Crops*. Collins, London, UK.
- Syed Gul Abbas Shah Sani., Peter L Chang., Asif Zuhair., Noelia Carrasquilla-Garcia., Matilde Cordeiro., Ramanchandra Varma Penmetsa., M Farooq H.Munis., Sergey V.Nuzhdin., Douglas R.Cook., and Eric J. von Wettberg. 2017. Genetic Diversity, Population Structure, and Genetic Correlation with Climatic Variation in Chickpea Landraces from Pakistan-- *Plant Genome* 11:170067 doi: 10.3835/plant genome 2017.08.0067 .
- Tagu D. & Moussard C. 2003. *Principes des techniques de biologie moléculaire*. 2^{ème} edition. INRA, Paris, 176p.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.*, 2011 Oct ; 28(10) :2731-9. Doi : 10.1093/molbev/msr121. Epub 2011 May 4.
- Taylor W J., Ford R. 2007. Chickpea. In: Chittarajan, K., *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*, 3 (6): 109-122.
- Tayyar R., Federici C. V., Waines G. J. 1996. Natural out crossing in chickpea (*Cicer arietinum* L.). – *Crop Sci*. 36: 203 – 205.
- Thierry De Meeùs.2012.*Initiation à la génétique des populations naturelle: application aux parasites et à leur vecteurs* .IRD Ed.
- Tlemsani M. 2010 . Contribution à l'étude du flétrissement vasculaire du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) causé par *Fusarium oxysporum* Schelcht. Emend. Snyder & Hans. f. sp. ciceri

- (Padwick) : caractérisation, lutte biologique et comportement variétale. thèse de Magister. Université Oran 1 - Ahmed Ben Bella (Université Es-Sénia).
- Torutaeva E., Asanaliev A., Prieto-Linde M., Zborowska A. , Ortiz R. , Bryngelsson T and Gustavsson L G. 2014. Evaluation of microsatellite-based genetic diversity, protein and mineral content in chickpea accessions grown in Kyrgyzstan. *Hereditas* 151: 81–90.
 - Udita Basu., Rishi Srivastava., Deepak Bajaj., Virevol Thakro., Anurag Daware., Naveen Malik., Hari D., Upadhyaya & Swarup K Parida.2018. Genome-wide generation and genotyping of informative SNPs to scan molecular signatures for seed yield in chickpea. *Scientific reports* (2018) 8:13240 DOI: 10.1038/s41598-018-29926-1.
 - Udupa S M., Robertson L D., Weigand F., Baum M and Kahl G.1999 .Allelic variation at (TAA) n microsatellite loci in a world collection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm. *Theor.Appl. Genet.* 97, 299–307.
 - Udupa S M., Malhotra R S & Baum M. 1999. Tightly linked di and tri-nucleotide microsatellites do not evolve in complete independence: evidence from linked (TA)n and (TAA)n microsatellites of chickpea (*Cicer arietinum* L.) 97: 299-307.
 - Upadhyaya H D., Dwivedi S L., Baum M., Varshney R K., Udupa S M., Gowda C L L. 2008. Genetic structure, diversity, and allelic richness in composite collection and reference set in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *BMC Plant Biol.* 8: 106. doi:10.1186/1471-2229-8-106.
 - UPOV. 2005. Pois chiche (*Cicer arietinum* L.) ; Principes directeurs pour la conduite de l'examen, de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité ; Union Internationale pour la 278 302. Protection des Obtentions Végétales, TG/143/4 ; Original : anglais ; Code UPOV : CICER_ARI ; Genève ; Date: 2005-04-06.
 - USDA. 2004. United States Department of Agriculture.
 - USDA.2008. United States Department of Agriculture, USDA).
 - Van Der Maesen L.J.G. 1972. *Cicer* L., a monograph of the genus, with special reference to the chickpea (*Cicer arietinum* L.), its ecology and cultivation. Mede delingen Landbouwhoge school Wageningen. The Netherlands.
 - Van Der Maesen L J G. 1979. *Cicer* L. in *Flora Iranica* 140 :1-87.
 - Vander Maesen L J G. 1987. Origin, history and taxonomy of chickpea. – In: Saxena, M. C. and Singh, K. B. (eds), *The chickpea*. CAB, Wallingford, p. 11 – 34.
 - Varshney RK., Song C., Saxena RK., Azam S, Yu S., Sharpe AG .2013 .Draft genome sequence of chickpea (*Cicer arietinum*) provides a resource for trait improvement. *Nat Biotechnol.* Epub January 27.
 - Vekemans X. & Jacquemart A.L. 1997. Perspectives on the use of molecular markers in plant population biology. *Belgian Journal of Botany*, 129: 91-100.

- Verghis T I., Mckenzie B A. et Hill G D. 1999. Phenological development of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of crop and Horticultural Science*; p27,29.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. 1995. AFLP : a new technique for DNA finger printing. *Nucleic Acids Res.* 21:4407-4408.
- Warberg O., Christian W.1942. isolierung und kristallization des garungs ferments Enolase. *Biochem Z* 282 :224.
- Wery J., Turc O., Lecoecur J. 1993. In: K.B. Singh et M.C. Saxena (Eds.). *Breeding for stress tolerance in cool season food legumes*, John Wiley et Sons, Chichester, U.K; pages: 271-272.
- White T J., Arnheim N. & Erlich H. 1989. The polymerase chain reaction. *Trends in: Genetics*, 5: 185-188.
- Williams J G K., Kubelik A R., Livak-Kenneth J., Rafalski J., Antoni J., Scott V. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6533.
- William W., Wilfinger., Karol Mackey and Piotr Chomczynski. 1997. Effect of pH and Ionic Strength on the spectrophotometric Assessment of Nucleic Acid Purity. *BioTechniques*, 22:474-481
- Winter P., Pfaff T., Udupa SM., Sharma PC., Sahi S.1999.Characterization and mapping of sequence- tagged microsatellite sites in the chickpea (*Cicer arietinum* L.) genome. *Mol Gen Genet* 262:90–101.
- Wright S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19, p 395.
- Yadav S S., Reddan R J., Chen W.,Sharma.B .2007. Chickpea breeding and management. CAB international, Walling ford, .U.K., 1:1-13.
- Yeh F C and Boyle T J B. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belg. J. Bot.* 129: 157.
- Young N.D.2011. The Medicago genome provides insight into the evolution of rhizobial symbioses. *Nature* 480, 520–524 (2011).
- Yousaf A., Haq M A., Tahir G R. & Ahmed N. 1999a. Effect of various morphological traits on chickpea yield under drought and normal field conditions. *Pak. J. Biol. Sci.*, 2(3).
- Yousaf A. & Tahir G.R. 1999b. Correlation and regression studies in chickpea genotypes. *Pak. J. Biol. Sci.*, 2).
- Zeghdane. 1988. Etude de l'adaptation de la densité de semis du pois chiche, variété 32-79. Thèse en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur en agronomie univ de Mostaganem.

- Zine F.et Laouar M. 1998. Collecte et caractérisation de quelques cultivars locaux de pois chiche dans la wilaya de Tizi Ouzou. Séminaire National sur les Légumineuses Alimentaires, ITGC/ENSA, Hammam Bouhadjar 10-12 Mai 1998.
- Zine F., Louar M.2000. Collecte Et caractérisation préliminaire de quelques cultivars de pois chiche de kabylie.2000. INRAA. laboratoire des ressources phylogénétiques CRP Mehdi Boualem. Baraki. Alger.

ANNEXES

Annexe 1: Nombre d'allèles par marqueur (SSR) et par accession de pois chiche. (présence / absence)

Marqueur (SSR)	Allèle	FLIP 92 13	BLED (6)	ESP1	F1038	F18492c	F19393c	FLIP 82 93	GARBANSA (9)	ILC482 (Chetoui)	CECE NERO
TA113	A	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0
TA113	B	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
TA113	C	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
TA116	A	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0
TA116	B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
TA116	C	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
TA117	A	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
TA117	B	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
TA117	C	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
TA117	D	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
TA117	E	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
TA118	A	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1
TA118	B	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
TA118	C	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
TA130	A	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1
TA130	B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
TA130	C	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
TA130	D	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TA130	E	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

ANNEXES

TA135	A	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0
TA135	B	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
TA135	C	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
TA135	D	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
TA142	A	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
TA142	B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
TA142	C	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
TA142	D	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
TA200	A	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
TA200	B	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1
TA200	C	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
TA200	D	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
TA200	E	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
TA22	A	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
TA22	B	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
TA27	A	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1
TA27	B	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
TA27	C	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
TA27	D	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
TA27	E	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
TA46	A	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0
TA46	B	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
TA46	C	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0

ANNEXES

TA46	D	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TA58	A	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
TA58	B	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1
TA58	C	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
TA58	D	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
TA58	E	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
TA64	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
TA64	B	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
TA64	C	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
TA64	D	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
TA72	A	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
TA72	B	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
TA72	C	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
TA72	D	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
TA72	E	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
TA76s	A	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1
TA76s	B	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0

Annexe 2: Test de qualities et de quantification des AND extraits de chaque accession de pois chiche

Num	Nom de l'accession	Type	260nm	280nm	230nm	260/280	260/230	C:ng/uL
1	FIIP 92 13	DNA-50	13,543	6,979	6,498	1,94	2,084	677,161
2	FI 82-93	DNA-50	7,682	3,925	4,112	1,957	1,868	384,148
3	FIIP 9393C	DNA-50	34,719	16,725	16,225	2,075	2,139	1735,982
4	FIIP 8492C	DNA-50	7,604	3,819	3,915	1,991	1,942	380,241
5	F1038	DNA-50	12,457	6,376	5,91	1,953	2,107	622,879
6	ILC482	DNA-50	21,173	11,04	11,612	1,917	1,823	1058,68
7	GARBANSA (9)	DNA-50	4,917	2,601	2,619	1,89	1,877	245,886
8	BLED (6)	DNA-50	15,193	7,475	7,589	2,032	2,001	759,66
9	CEC NERO	DNA-50	4,061	2,081	2,248	1,951	1,806	203,063
10	ESP1	DNA-50	17,803	9,028	8,482	1,971	2,098	890,151

Annexe 3: Allèles par marqueurs SSR

Accession	SSR1 TA 113		SSR2 TA27		SSR3 TA 64		SSR4 TA 22		SSR5 TA130		SSR6 TA 135		SSR7 TA 200			
GARB	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A		
CECE NERO	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B		
BLED	C	C	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	C	C		
FLIP8293	A	A	A	A	D	D	A	A	A	A	A	A	B	B		
FLI8492C	C	C	E	E	B	B	A	A	B	B	B	B	D	D		
ILC482	A	A	D	D	C	C	A	A	C	C	B	B	B	B		
FLIP 9213	B	B	A	A	C	C	A	A	D	D	A	A	C	C		
FLI9393C	B	B	B	B	B	B	A	A	C	C	C	C	E	E		
F1038	A	A	C	C	B	B	B	B	E	E	D	D	B	B		
ESP 1	A	A	D	D	D	D	A	A	C	C	C	C	D	D		
	SSR8 TA 46		SSR9 TA 72		SSR10 TA 142		SSR11 TA 58		SSR12 TA 76s		SSR13 TA 117		SSR14 TA 116		SSR15 TA118	
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	B	A	A	
C	C	C	C	C	A	A	C	C	A	A	C	C	A	A	B	B
A	A	A	C	C	B	B	B	B	A	A	D	D	B	B	A	A
B	B	B	D	D	A	A	D	D	B	B	E	E	A	A	B	B

ANNEXES

B	B	A	A	C	C	B	B	A	A	B	B	C	C	C	C
D	D	E	E	A	A	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A
A	A	E	E	C	C	E	E	B	B	A	A	A	A	A	A
A	A	C	C	D	D	A	A	B	B	A	A	C	C	B	B
C	C	B	B	C	C	C	C	B	B	E	E	A	A	B	B

Annexe 4: fréquences des allèles par marqueur SSR

Allele Frequencies and Sample Size by Populations		
Locus	Allele/n	P1
SSR1	N	10,00
<i>TA113</i>	1	0,50
	2	0,30
	3	0,20
SSR2	N	10,00
<i>TA27</i>	1	0,40
	2	0,20
	3	0,10
	4	0,20
	5	0,10
SSR3	N	9,00
<i>TA64</i>	1	0,11

ANNEXES

	2	0,44
	3	0,22
	4	0,22
SSR4	N	10,00
<i>TA22</i>	1	0,80
	2	0,20
SSR5	N	10,00
<i>TA130</i>	1	0,40
	2	0,10
	3	0,30
	4	0,10
	5	0,10
SSR6	N	10,00
<i>TA135</i>	1	0,40
	2	0,30
	3	0,20
	4	0,10
SSR7	N	10,00
<i>TA200</i>	1	0,10
	2	0,40
	3	0,20
	4	0,20
	5	0,10
SSR8	N	10,00
<i>TA46</i>	1	0,40
	2	0,30
	3	0,20
	4	0,10
SSR9	N	10,00
<i>TA72</i>	1	0,20

ANNEXES

	2	0,20
	3	0,30
	4	0,10
	5	0,20
SSR10	N	10,00
<i>TA142</i>	1	0,40
	2	0,20
	3	0,30
	4	0,10
SSR11	N	10,00
<i>TA58</i>	1	0,20
	2	0,30
	3	0,30
	4	0,10
	5	0,10
SSR12	N	10,00
<i>TA76s</i>	1	0,60
	2	0,40
SSR13	N	10,00
<i>TA117</i>	1	0,30
	2	0,20
	3	0,20
	4	0,10
	5	0,20
SSR14	N	10,00
<i>TA116</i>	1	0,60
	2	0,20
	3	0,20
SSR15	N	10,00
<i>TA118</i>	1	0,50

ANNEXES

	2	0,40
	3	0,10

Annexe 5 : préparation des solutions pour les analyses moléculaires**Solutions nécessaires pour l'extraction :****Solution stock de Tris-HCl:**

Tris base (Amresco)	12.114 g
Eau distillée	Compléter jusqu'à 100 mL

Solution stock de NaCl (5 M): NaCl

(Merck)	73.05 g
Eau distillée	Compléter jusqu'à 250 mL

Solution stock d'EDTA (0.5 M) (pH 8):

EDTA (Amresco)	18.6 g
Eau distillée	Compléter jusqu'à 100 mL

**Solution stock du tampon
d'extraction 2x CTAB:**

1 M Tris-HCl (pH 8)	5 mL	25 mL
5 M NaCl	14 mL	70 mL
0.5 M EDTA (pH 8)	2 mL	10 mL
CTAB (Amresco)	1 g	5 g
Eau distillée	Compléter jusqu'à 50 mL	Compléter jusqu'à 250 mL

**Solution de Chloroforme /
Isoamyl alcool (24 : 1):**

Chloroforme (Scharlau)	24 mL	96 mL
Isoamyl alcool ou 3- Methylbutanol (Sigma)	1 mL	4 mL

Solution de 70% Ethanol:

Ethanol absolu ou Ethanol Anhydrous denatured (Amresco)	70 mL
Eau distillée	30 mL

Solutions stock pour les gels :**Tampon de migration 5 X TBE:**

5 X TBE	Pour 1 L
Acide borique (Amresco)	27.5 g
Tris base (Sigma)	54 g
0.5 M EDTA (pH 8)	20 mL
Eau distillée	Compléter jusqu'à 1 L

Gel de 1.2% agarose:

Solution d'agarose	Pour 90 mL	Pour 300 mL
Agarose (Promega)	1.08 g	3.6 g
5 X TBE	18 mL	60 mL
Eau distillée	Compléter jusqu'à 90 mL	Compléter jusqu'à 300 mL

Solutions stock pour la préparation des gels :**Solution de 40% acrylamide:**

Acrylamide (Promega)	19.33 g	96.65 g
Bis acrylamide ou N, N'-	0.67 g	3.35 g
Methylenebiacrylamide (Sigma)		
Eau distillée	50ml	250 ml

Solution de 8% acrylamide natif:

40% Acrylamide natif	10 mL	50 mL
5 X TBE	10 mL	50 mL
Eau distillée	30 mL	150 mL

**Solution de 6% acrylamide
dénaturé:**

20% Acrylamide	24 mL	75 mL
Urée (Amresco)	38 g	118.75 g
5 X TBE	8 mL	25 mL
Eau distillée	Compléter jusqu'à 80 mL	Compléter jusqu'à 250 mL

**Préparation du gel 8%
acrylamide natif:**

8% Acrylamide	30 mL	60 mL
TEMED (Pharmacia Biotech)	15 µL	30 µL
25% Ammonium persulfate	75 µL	150 µL

Solutions pour la coloration des gels :**Solution de bromure d'éthidium (BET):**

Solution diluée de Bromure d'éthidium	Pour 1 L
Bromure d'éthidium (10 mg/mL)	100 µL
Eau distillée	1 L

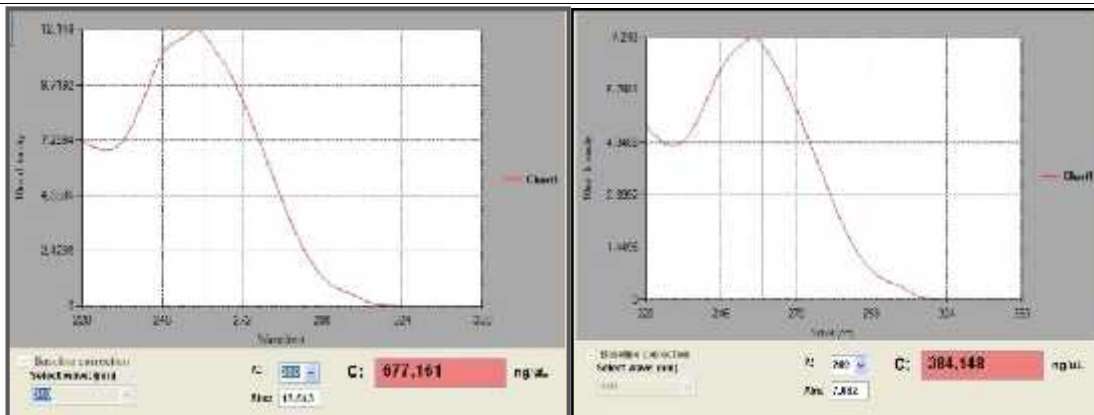
Préparation du bleu d'acrylamide:

Formamide (Roche)	24.75 mL
Bleu de bromophénol	12.5 mg
Xylène cyanole (Sigma)	12.5 mg
Eau distillée	1.25 mL

Produits nécessaires pour PCR**Préparation de 2 mM**

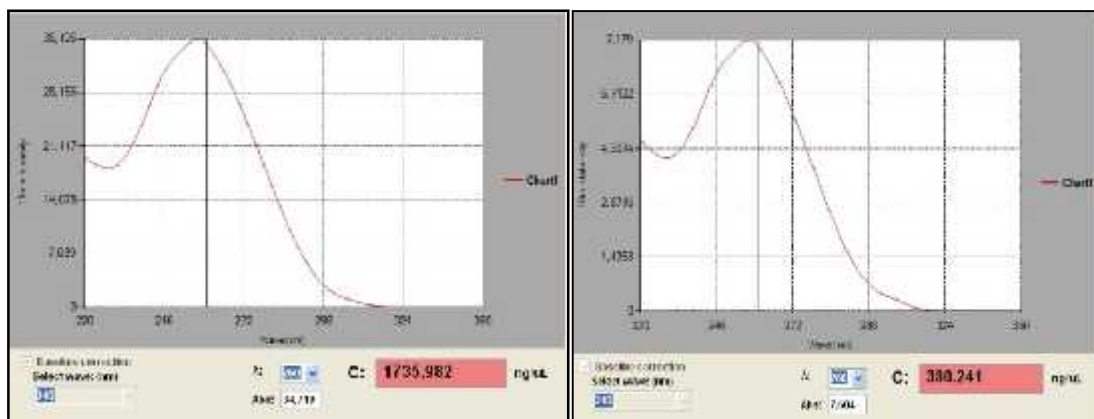
dNTPs: 2 mM dNTPs	Pour 1000 µL
100 mM dATP (Promega)	20 µL
100 mM dTTP (Promega)	20 µL
100 mM dCTP (Promega)	20 µL
100 mM dGTP (Promega)	20 µL
Eau bi-distillée stérile	920 µL

Annexe 6: Test de qualité de l'ADN par spectrophotomètre UV (Nanodrop ND-1000, NanoDr Technologies).



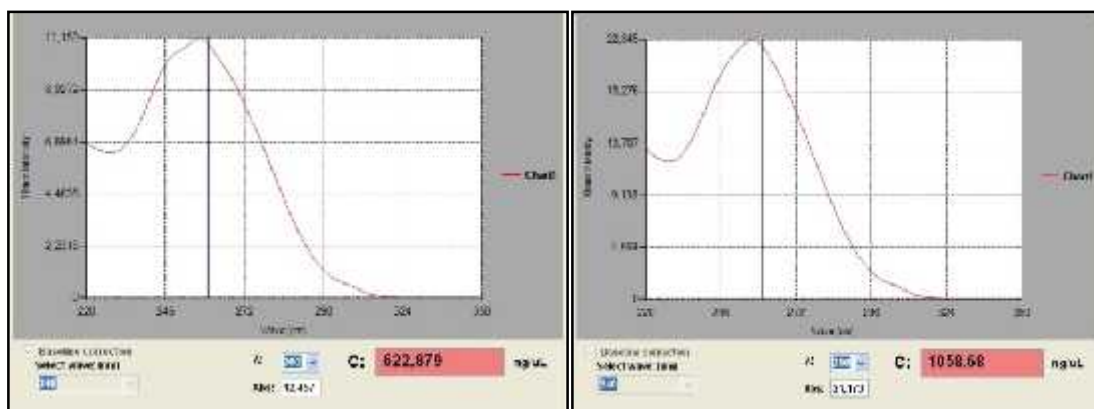
FLIP 9213c

FLIP 8293



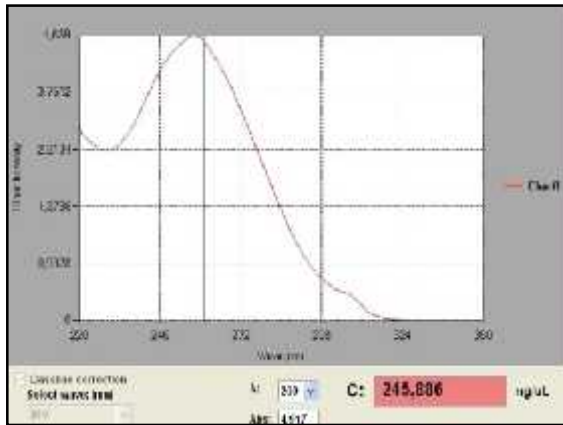
FLIP 9393c

FLIP 8492c

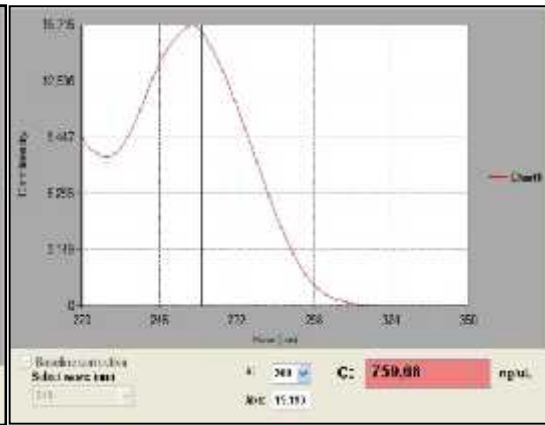


F1038

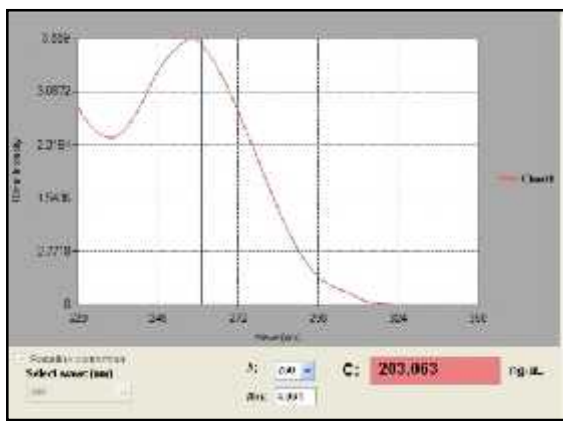
ILC482 (Chetoui)



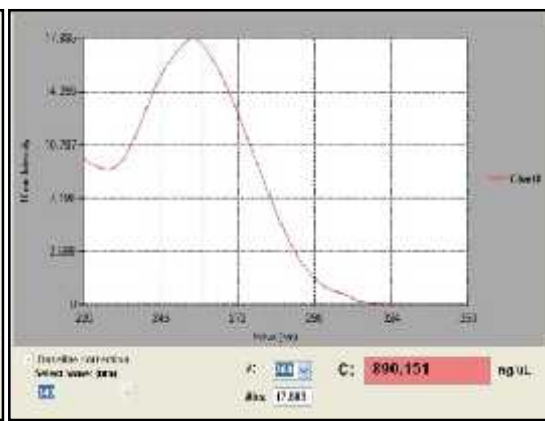
GARB (9)



BLED (6)



CECE NERO



ESP 1

Annexe 7 : Profil électrophorétique en gel de Polyacrylamide pour 10 accessions de pois chiches après amplification par PCR-SRR.

