الجمهوريـــــــة الجزائريـــة الديمقراطيـــة الشعبيـــة
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش –الجزائر
Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach – Alger

Ecole nationale supérieure المدرسة الوطنية العليا للفلاحة
Département : Zoologie agricole et forestière **القسم :** علم الحيوان الزراعي والغابي
Spécialité : Protection des végétaux :Zoophytiatrie **التخصص :**حماية النباتات :لحيوانات الضارة للنبات

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master En Sciences Agronomiques

THÈME

Etude de la diversité génétique interspécifique des coleoptères infestant les denrées stockées :*callosobruchus maculatus, Sitophilus oryzae, Rhyzopertha dominica et Tribolium confusum*

Présenté Par : **Louas Nadia**

Soutenu Publiquement le 15.12.2024

Devant le jury composé de :

Président	**M. DOUMANJI salaheddine**	Prof, ENSA
Promoteur	**M. CHEBLI abderrahmane**	MCA, ENSA
CO-promoteur	**M. RAHMOUNE Bilal**	MCA, ENSA
Examinateur	**M.BICHE mohamed**	Prof, ENSA
Examinateur	**M.CHAKALI gahdab**	Prof, ENSA

Promotion : 2019/2024

Sommaire

List des abréviations .....

Liste des figures.....

Liste des tableaux .....

Introduction 1

Synthèse bibliographique 3

CHAPITRE Ⅰ - Généralié sur les denrées stockées.....4

I.1. Origine et historique de la céréaliculture 5

I.2. Céréales 5

I.2.1. Importance économique des céréales.....6

I.2.1.1. Dans le monde 6

I.2.1.2. En Algérie 7

I.3. Légumineuses 7

I.3.1. Taxonomie 7

I.3.2. Principales variétés 7

I.3.3. Importance économique des légumineuses 7

I.3.3.1. Dans le monde 7

I.3.3.2. En Algérie 8

I.4. Conservation des denrées stockées.....8

I.4.1. Méthodes de conservation 8

I.4.1.1. Ventilation 8

I.4.1.2. Transilage.....8

I.4.1.3. Séchage.....9

I.4.2. Mode de stockage des grains.....9

I.4.2.1. Stockage traditionnel 9

I.4.2.2. Stockage en épis 10

I.4.2.3. Stockage moderne 10

I.4.2.3.1. Stockage en vrac 10

CHAPITRE Ⅱ - Généralité sur les insectes des denrées stockées..... 12.

II.1. Insectes des denrées stockées..... 13

II.2. *Tribolium confisum* (Duval, 1868)..... 14

II.2.1. Généralités..... 14

II.2.2. Classification et taxonomie..... 15

II.2.3. Description morphologique 15

II.2.4. Cycle biologique 15
II.2.5. Dégâts 16
II.3. *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) 17
II.3.1. Généralités 17
II.3.2. Classification et taxonomie 17
II.3.3. Description morphologique 17
II.3.4. Cycle biologique 18
II.3.5. Dégâts 19
II.4. *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) 19
II.4.1. Généralité 19
II.4.2. Classification et taxonomie 20
II.4.3. Description morphologique 20
II.4.4. Cycle biologique 20
II.4.5. Dégâts 21
II.5. *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) 22
II.5.1. Généralité 22
II.5.2. Classification et taxonomie 22
II.5.3. Description morphologique 23
II.5.4. Cycle biologique 23
II.5.5. Dégâts 24
CHAPITRE Ⅲ- Généralités sur les techniques moléculaires ..... 26.
III.1. Insectes des denrées stockées et la biologie moléculaire 27
III.2. Techniques d'extraction et purification d'ADN 27
III.2.1. Lyse cellulaire 27
III.2.1.1. Lyse mécanique 27
III.2.1.1.1. Homogénéisateurs de broyeurs à billes 28
III.2.1.1.2. Traitement chimique et enzymatique 28
III.2.1.2. Lyse enzymatique 28
III.2.1.3. Utilisation de détergents dans la lyse cellulaire 29
III.2.2. Méthodes d'extraction d'ADN 29
III.2.2.1. Méthodes classiques 29
III.2.2.1.1. Extraction au CTAB 29
III.2.2.1.2. Extraction au SDS-protéinase K 29
III.2.2.2. Méthodes commerciales 30
III.2.2.2.1. Les kits commerciaux 30
III.2.3. Méthodes de purification 30

III.2.3.1. Précipitation/concentration par l'éthanol ou l'isopropanol..... 30
III.2.3.2. Centrifugation 30
III.2.4. Contrôle de pureté et quantification des extraits d'ADN 30
III.2.4.1. La pureté de l'ADN 30
III.2.4.2. Quantification de la concentration de l'ADN 31
III.2.4.3. NanoDrop..... 31
III.3. Facteurs qui influencent l'extraction d'ADN 31
III.3.1. Traitements..... 31
III.3.2. Température et le pH..... 31
III.3.3. Nature du matériel de départ..... 31
III.3.4. Contamination de l'ADN 32
III.3.5. Méthode de conservation..... 32
III.4. Étude moléculaire de la diversité génétique des insectes ravageurs 32
III.4.1. Introduction à la diversité génétique des insectes de denrées stockées..... 32
III.4.2. Méthodes moléculaires pour l'identification et la caractérisation des insectes..... 32
III.4.2.1. Techniques de séquençage génétique..... 32
III.4.2.2. Marqueurs moléculaires pour la détection des espèces 33
III.4.2.2.1. Technique RAPD..... 33
IV- Matériel et méthodes..... 34
IV.1. Objectif de l'étude..... 35
IV.2. Matériel biologique 35
IV.3. Préparation des échantillons..... 35
IV.3.1. Identification des espèces 35
IV.3.2. Analyse morphologique approfondie 36
IV.3.3. Elevage..... 36
IV.4. Analyse moléculaire..... 37
IV.4.1. Préparation des échantillons 37
IV.4.2. Broyage des insectes 38
IV.4.3. Pesée précise..... 38
IV.5. Extraction de l'ADN..... 39
IV.6. Contrôle de la qualité et quantité d'ADN extrait..... 43
IV.7. Etude du polymorphisme par marqueur moléculaire 44
IV.7.1. Principe de la technique RAPD..... 44
IV.7.2. Amplification d'ADN par Polymérase Chain Réaction (PCR) 44
IV.7.2.1. Caractéristiques de l'amorce testée 44
IV.7.2.2. Protocole 45

IV.7.3 Préparation du gel d'agarose 47
IV.7.3.1 Préparation préalable 47
IV.8. Electrophorèse 49
IV.9. Lecture et visualisation des bandes 50
Chapitre V -Résultats 52
V.1. Elevage en masse et l'Identification morphologique des espèces 53
V.1.1. Aspects morphologiques observés 53
V.2. Extraction d'ADN génomique des déférentes espèces 56
V.2.1. Analyse de la qualité et quantité d'ADN 56
V.2.2. Quantité d'ADN 56
V.2.3. Qualité d'ADN 58
V.3. PCR et marqueur RAPD 60
V.3.1. Analyse des résultats 60
V.3.2. Comparaison de profil 60
ChapitreVI-Discussion ..... 62.
VI.1. Interprétation des qualités et quantité d'ADN extrait 63
VI.2. Analyse du profil interspécifique et évaluations de la diversité génétiques des quatres espèces 63
CONCLUSION 65
Références bibliographiques 69
Annexe .....

ملاصة
يهدف هذا البحث إلى تقييم التنوع الجيني لأربعة أنواع من الحشرات التي تصيب المخزون الغذائي وهي: خنفساء الفاصولياء (Callosobruchus maculatus)، وسوسة القمح (Sitophilus oryzae)، وخنفساء الدقيق (Tribolium confusum)، وخنفساء الأرز (Rhyzopertha dominica). أظهرت النتائج اختلافًا كبيرًا في كفاءة استخلاص الحمض النووي بين الأنواع، حيث تميزت سوسة القمح بكمية ونوعية عالية من الحمض النووي.
كشفت تحاليل PCR-RAPD عن وجود تشابه جيني كبير بين سوسة القمح وخنفساء الدقيق وخنفساء الأرز، مما يشير إلى قرابة تطورية. على النقيض من ذلك، أظهرت خنفساء الفاصولياء نمطًا جينيًا مختلفًا، مما قد يكون مرتبطًا بتكيفات خاصة بنظامها الغذائي. تؤكد هذه النتائج أهمية مراعاة التنوع الجيني داخل تجمعات الحشرات التي تصيب المخزون الغذائي لتطوير استراتيجيات مكافحة فعالة ومستدامة

Résumé

Cette étude a pour objectif d'évaluer la diversité génétique de quatre espèces d'insectes des denrées stockées : Callosobruchus maculatus, Sitophilus oryzae, Tribolium confusum et Rhyzopertha dominica. Les résultats montrent une variabilité significative des rendements d'extraction d'ADN entre les espèces, avec Sitophilus oryzae se distinguant par une qualité d'ADN supérieure. L'analyse par RAPD-PCR révèle une forte similarité génétique entre Sitophilus oryzae, Tribolium confusum et Rhyzopertha dominica, suggérant une proximité évolutive. En revanche, Callosobruchus maculatus présente un profil génétique distinct, ce qui pourrait être lié à des adaptations spécifiques à son régime alimentaire. Ces résultats soulignent l'importance de considérer la diversité génétique au sein des populations d'insectes des denrées stockées pour développer des stratégies de lutte efficaces et durables

Abstract

This study aimed to assess the genetic diversity of four stored product insect species: Callosobruchus maculatus, Sitophilus oryzae, Tribolium confusum, and Rhyzopertha dominica. Results showed significant variability in DNA extraction yields among species, with Sitophilus oryzae exhibiting superior DNA quality. RAPD-PCR analysis revealed a high degree of genetic similarity between Sitophilus oryzae, Tribolium confusum, and Rhyzopertha dominica, suggesting a close evolutionary relationship. In contrast, Callosobruchus maculatus exhibited a distinct genetic profile, which could be attributed to specific adaptations to its diet. These findings highlight the importance of considering genetic diversity within stored product insect populations to develop effective and sustainable control strategies.