الجمهوريـــــــــة الجزائريـــــة الديمقراطيـــــة الشعبيـــــه

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليـــم العالـــي والبحـــث العلمـــي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département: Zoologie Agricole et forestières

القسم: علم الحيوان الزراعي الغابي

Spécialité: Zoologie Agricole et forestières :

- Entomologie

التخصص: علم الحيوان الزراعي الغابي :

- علم الحشرات

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master En Sciences Agronomiques

THEME

Étude comparative des protocoles d'extraction d'ADN et diversité génétique du criquet migrateur (*Locusta migratoria*) dans deux régions du sud algérien

Présenté Par : RABHALLAH Ouael

Soutenu Publiquement le 16 /07/2025

Devant le jury composé de :

Président :	M. DOUMANDJI Salaheddine	Professeur, Émérite, ENSA El-Harrach
Promoteur :	M. CHEBLI Abderrahmane	MCA, ENSA El-Harrach
Co-Promoteur :	M. RAHMOUNE Bilal	MCA, ENSA El-Harrach
Examinateurs :		
	M. BICHE Mohammed	Professeur, ENSA El-Harrach
	M. ABDELLAHOUM Zakaria	MCB, ENSA El-Harrach

TABLE DES MATIERES

Corrected Table of Contents

Introduction. 1
Chapitre 1: Généralités sur le criquet migrateur (Locusta migratoria)
1. Caractéristiques biologiques et écologiques. 6
   1.1. Systématique. 6
   1.2. Morphologie..... 7
   1.3. Cycle biologique. 8
2. Polymorphisme phasaire 10
   2.1. Caractéristiques des phases solitaires et grégaire..... 10
   2.2. Facteurs induisant la transformation phasaire 11
   2.3. Réversibilité du polymorphisme phasaire 12
3. Contexte environnemental et impacts 14
   3.1. Répartition géographique. 14
   3.2. L'agriculture saharienne et la problématique acridienne. 15
   3.3. Impact des conditions climatiques sur la dynamique des populations. 16
   3.4. Dégâts causés par Locusta migratoria 17
Chapitre 2: Généralités sur les approches biomoléculaires dans l'étude des insectes
1. Introduction aux méthodes d'extraction d'ADN. 18
   1.1. Méthode CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide). 18
   1.2. Méthode SDS (Sodium Dodecyl Sulfate). 19
   1.3. Kits commerciaux d'extraction d'ADN. 20
2. PCR standard et ses variantes pour les acridiens. 21
   2.1. Applications du séquençage de nouvelle génération (NGS). 22
   2.2. Marqueurs moléculaires pour l'étude de la biodiversité des acridiens. 24
      2.2.1. Marqueurs mitochondriaux. 24
      2.2.2. Cytochrome c Oxidase I (COI). 24
      2.2.3. Autres marqueurs mitochondriaux. 26
   2.3. Marqueurs basés sur la PCR. 26
      2.3.1. Marqueurs SSR (Simple Sequence Repeats). 27
      2.3.2. Marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). 28
Chapitre 3: Matériel et Méthodes
1. Matériel biologique et Conditions d'Élevage. 29
   1.1. Matériel biologique. 29
   1.2. Conception des cages. 29
   1.3. Substrat de ponte. 30
   1.4. Protocole alimentaire. 31
   1.5. Entretien et nettoyage. 32
   1.6. Conditions environnementales. 33
   1.7. Reproduction et développement. 33
   1.8. Comparaison entre populations. 35
   1.9. Incidents d'élevage et collecte opportuniste. 35
   1.10. Conservation des échantillons pour analyses génétiques ultérieures. 36
2. Protocoles d'Extraction et de Purification de l'ADN. 37
   2.1. Préparation des échantillons. 37
   2.2. Extraction par méthode SDS. 38

2.3. Extraction CTAB (Promega Wizard® Genomic DNA Purification Kit). 39
2.4. Extraction par kit QIAamp Fast DNA Tissue (Qiagen). 42
2.5. Contrôle qualité et quantification de l'ADN. 53
3. Protocoles d'Amplification Moléculaire. 46
3.1. Code-barre COI (PCR standard). 46
3.2. Marqueurs microsatellites (SSR). 48
3.3. Marqueurs RAPD. 50
3.4. Séparation électrophorétique. 52
Chapitre 4: Résultats
1. Introduction du Chapitre. 53
2. Évaluation des méthodes d'extraction d'ADN. 56
2.1. Rendement et qualité spectrophotométrique. 56
2.2. Intégrité de l'ADN. 57
2.3. Évaluation des inhibiteurs PCR par amplification COI. 58
3. Analyses de diversité génétique. 59
3.1. Marqueurs microsatellites (SSR). 60
3.2. Marqueurs RAPD. 62
Chapitre 5: Discussion
1. Choix et validation du protocole d'extraction d'ADN. 66
1.1. Compromis Rendement vs Pureté. 66
1.2. Mécanismes d'inhibition de la PCR. 67
2. Différenciation génétique entre les populations sahariennes d'Adrar et de Ménia. 69
2.1. Mise en évidence d'un polymorphisme via les marqueurs Microsatellites (SSR). 69
2.2. Profils RAPD et variabilité. 70
2.3. Synthèse SSR+RAPD. 70
2.4. Interprétation écologique et évolutive de la différenciation observée. 71
Conclusion. 72
Références Bibliographiques. 74

Résumé :

L'expansion de l'agriculture irriguée au Sahara a créé des 'oasis anthropiques' permanentes, soulevant des questions sur leur impact sur la structure des populations d'espèces nuisibles comme le criquet migrateur, *Locusta migratoria*. Cette étude visait un double objectif: premièrement, valider un protocole d'extraction d'ADN robuste pour ce matériel biologique difficile, et deuxièmement, fournir une première évaluation de la différenciation génétique entre les populations de deux oasis sahariennes, Adrar et Ménia. Trois méthodes d'extraction (SDS, CTAB, et un kit sur colonne de silice QIAamp) ont été comparées sur la base du rendement, de la pureté spectrophotométrique, de l'intégrité de l'ADN, et de leur succès fonctionnel via l'amplification du gène mitochondrial COI. Les résultats méthodologiques ont révélé un compromis critique entre rendement et pureté fonctionnelle: malgré des rendements d'ADN quantitativement plus élevés (jusqu'à 290 ng/µL), les méthodes par précipitation (SDS, CTAB) ont échoué à l'amplification PCR en raison de la co-purification d'inhibiteurs. Seul le kit QIAamp a fourni un ADN de qualité amplifiable (rendement ≈13 ng/µL), démontrant que l'élimination des inhibiteurs est prioritaire sur la maximisation du rendement. Bien que la taille d'échantillon fût très limitée (N=3 par population) suite à des contraintes expérimentales, les analyses génétiques ont montré des signaux concordants de divergence: un polymorphisme de longueur fixe a été observé au locus SSR MMgSSR4 (allèle ≈350 pb pour Adrar vs. ≈400 pb pour Ménia), et les marqueurs RAPD ont révélé un profil mosaïque de bandes partagées et de marqueurs privés pour la population d'Adrar. Ensemble, ces résultats préliminaires, renforcés par la concordance entre deux types de marqueurs indépendants, fournissent la première preuve moléculaire suggérant une structuration génétique entre les populations de *L. migratoria* d'Adrar et de Ménia, et soutiennent l'hypothèse que les oasis anthropiques agissent comme des barrières au flux génique. Cette étude établit ainsi une base méthodologique indispensable pour les futures recherches sur les acridiens sahariens et formule une hypothèse de travail claire sur les conséquences évolutives de l'anthropisation des paysages arides, qui devra être confirmée par des analyses à plus grande échelle.

Abstract:

The expansion of irrigated agriculture in the Sahara has created permanent 'anthropogenic oases,' raising questions about their impact on the population structure of pest species like the migratory locust, *Locusta migratoria*. This study had a dual objective: first, to validate a robust DNA extraction protocol for this challenging biological material, and second, to provide a preliminary assessment of the genetic differentiation between the populations of two Saharan oases, Adrar and Ménia. Three extraction methods (SDS, CTAB, and a QIAamp silica-column kit) were compared based on yield, spectrophotometric purity, DNA integrity, and their functional success via amplification of the mitochondrial COI gene. The methodological results revealed a critical trade-off between yield and functional purity: despite quantitatively higher DNA yields (up to 290 ng/µL), precipitation-based methods (SDS, CTAB) failed in PCR amplification due to the co-purification of inhibitors. Only the QIAamp kit provided amplifiable quality DNA (yield ≈13 ng/µL), demonstrating that inhibitor removal is a higher priority than yield maximization. Although the sample size was very limited (N=3 per population) due to experimental constraints, genetic analyses showed concordant signals of divergence: a fixed-length polymorphism was observed at the SSR locus MMgSSR4 (allele ≈350 bp for Adrar vs. ≈400 bp for Ménia), and RAPD markers revealed a mosaic profile of shared bands and private markers for the Adrar population. Together, these preliminary results, reinforced by the concordance between two independent marker types, provide the first molecular evidence suggesting genetic structuring between the *L. migratoria* populations of Adrar and Ménia, and support the hypothesis that anthropogenic oases act as barriers to gene flow. This study thus establishes an indispensable methodological foundation for future research on Saharan acridids and formulates a clear working hypothesis on the evolutionary consequences of the anthropization of arid landscapes, which will require confirmation through larger-scale analyses.

الملخص:

أدى التوسع في الزراعة المروية في الصحراء إلى خلق "واحات اصطناعية" دائمة، مما يثير تساؤلات حول تأثيرها على البنية الوراثية لمجموعات الآفات مثل الجراد المهاجر، *Locusta migratoria*. هدفت هذه الدراسة إلى تحقيق هدف مزدوج: أولاً، التحقق من فعالية بروتوكول قوي لاستخلاص الحمض النووي من هذه المادة البيولوجية الصعبة، وثانياً، تقديم تقييم أولي للتمايز الوراثي بين مجموعات الجراد في واحتين صحراويتين، أدرار والمنيعة. تمت مقارنة ثلاث طرق للاستخلاص (SDS, CTAB, ومجموعة QIAampالتجارية القائمة على أعمدة السيليكا (بناءً على المردود، والنقاوة الطيفية، وسلامة الحمض النووي، ونجاحها الوظيفي عبر تضخيم جين COI الميتوكوندري. كشفت النتائج المنهجية عن مفاضلة حاسمة بين المردود والنقاوة الوظيفية: فعلى الرغم من أن طرق الترسيب (SDS, CTAB) أعطت مردوداً كمياً أعلى من الحمض النووي (يصل إلى 290 ng/µL)، إلا أنها فشلت في تضخيم تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) بسبب التنقية المشتركة للمثبطات. وحدها مجموعة QIAamp هي التي وفرت حمضاً نووياً ذا جودة قابلة للتضخيم (مردود ≈13 ng/µL)، مما يثبت أن إزالة المثبطات لها الأولوية على زيادة المردود. على الرغم من أن حجم العينة كان محدوداً جداً (N=3) لكل مجموعة) بسبب قيود تجريبية، أظهرت التحليلات الوراثية إشارات متوافقة على وجود تمايز: لوحظ تعدد أشكال ثابت الطول في موقع الواسمات التابعة للتكرارات المترادفة القصيرة) MMgSSR4 (SSR) أليل 350 bp≈لأدرار مقابل 400 bp≈ للمنيعة)، وكشفت واسمات RAPD عن نمط فسيفسائي من الأشرطة المشتركة والواسمات الخاصة بمجموعة أدرار. مجتمعةً، تقدم هذه النتائج الأولية، المعززة بالتوافق بين نوعين مستقلين من الواسمات، أول دليل جزيئي يشير إلى وجود بنية وراثية بين مجموعات *L. migratoria* في أدرار والمنيعة، وتدعم فرضية أن الواحات الاصطناعية تعمل كحواجز أمام التدفق الجيني. وبذلك، تؤسس هذه الدراسة قاعدة منهجية لا غنى عنها للبحوث المستقبلية حول الجراديات الصحراوية وتصوغ فرضية عمل واضحة حول العواقب التطورية لتأثير النشاط البشري على المناظر الطبيعية القاحلة، والتي ستحتاج إلى تأكيد من خلال تحليلات على نطاق أوسع.