

RÉSUMÉ

de la thèse de doctorat

UTILISATION DES TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE POUR DÉTERMINER LA PURETÉ VARIÉTALE DE PLANTES CULTIVÉES EN ROUMANIE

Doctorant: VASILE Valentina

Coordinateur scientifique: Prof. univ. Dr. CORNEA Călina Petruța

MOTS-CLÉS: pureté variétale; blé; maïs; marqueurs SSR ; KASP; diversité génétique

L'agriculture a une grande importance pour l'humanité et il n'est pas étonnant que l'intérêt et le développement de la recherche dans ce domaine se sont développés continuellement. Le développement des techniques de biologie moléculaire, notamment celles utilisant des marqueurs moléculaires ou des technologies basées sur la réaction PCR, ont offert de nouvelles opportunités à la recherche agricole au cours des dernières décennies. Cependant, les changements climatiques continus de générer une insécurité alimentaire en raison de la réduction des récoltes et de la hausse des prix ce qui affecte, ainsi, la situation économique mondiale.

Compte tenu du rôle important joué par notre pays dans la production céréalière de l'Union européenne, il devient impératif que les investissements dans l'agriculture, dans les ressources humaines et matérielles impliquées, ainsi que dans l'évolution de la recherche scientifique dans ce domaine, deviennent une priorité.

L'identification des variétés de plantes et l'évaluation de la pureté variétale jouent à la fois un rôle important dans le contrôle de la qualité des semences et dans la sélection, l'enregistrement et la protection des plantes.

En ce qui concerne le contrôle de qualité des semences, il est important de maintenir ou de confirmer la pureté génétique d'une variété et ainsi les techniques de biologie moléculaire sont bien plus utiles que l'utilisation des techniques impliquant l'approche phénotypique. Les techniques basées sur l'identification morphologique impliquent un effort intense et la pureté et la variété des différents types de semences peuvent parfois être difficile à évaluer. Ainsi, l'utilisation des techniques de biologie moléculaire dans les tests de pureté variétale peut simplifier beaucoup le processus de

contrôle des semences, en augmentant l'objectivité, l'efficacité et en même temps en réduisant l'effort matériel et le temps nécessaire à la réalisation des tests.

Le but de cette étude de recherche était d'évaluer la pureté variétale et implicitement la diversité génétique des principales plantes cultivées en Roumanie en utilisant des techniques de biologie moléculaire. En ce sens, cette étude de recherche visait à évaluer la pureté variétale et la diversité génétique de différentes variétés de blé et des lignées consanguines de maïs cultivées en Roumanie en utilisant des techniques de biologie moléculaire basées sur l'utilisation des marqueurs SSR.

Pour atteindre l'objectif de cette étude de recherche ont été poursuivis les suivants objectifs:

1. La sélection d'une technique de biologie moléculaire utilisant des marqueurs fiables afin que les résultats puissent être obtenus rapidement et que la technologie soit facile à utiliser, ne génère pas de coûts élevés et ne nécessite pas une grande quantité d'ADN et d'informations préalables sur le génome de la plante.

2. La sélection de la méthode de travail et des meilleures conditions de réaction pour les marqueurs SSR sélectionnés, qui permet d'obtenir des résultats satisfaisants dans des conditions de répétabilité et de reproductibilité.

3. La sélection des marqueurs SSR les plus informatifs pour mettre en évidence le polymorphisme génétique associé au matériel biologique utilisé.

4. La détermination de la pureté variétale des différentes variétés de blé et lignées consanguines de maïs cultivées en Roumanie à l'aide de marqueurs SSR sélectionnés .

5. L'évaluation de la diversité génétique des différentes variétés de blé et lignées consanguines de maïs cultivées en Roumanie à l'aide de marqueurs SSR sélectionnés .

6. Soulignant le fait que en Roumanie les exigences de qualité dans la production de semences certifiées sont assurées.

Après avoir atteint les objectifs proposés, il sera possible une détermination plus précise de la pureté variétale au niveau des semences pour les variétés de plantes sélectionnées et il sera possible de mettre en évidence la présence dans les cultures céréalières roumaines d'un matériel génétique diversifié, qui maintient le statut de la Roumanie comme un important producteur de céréales en Europe.

Cette étude a été structuré en deux parties principales, la partie I présentant **l'étude bibliographique** et la partie II présentant les **propres recherches**.

La première partie de la thèse comprend deux chapitres dans lesquels est présentée à la fois une synthèse de l'état actuel des recherches sur la détermination de la pureté variétale des plantes à l'aide des techniques de biologie moléculaire, ainsi qu'une synthèse des informations concernant les marqueurs moléculaires et les techniques de biologie moléculaire basées sur leur utilisation.

Dans le **chapitre I** intitulé "**L'état actuel des recherches sur la détermination de pureté variétale de plantes utilisant des techniques de biologie moléculaire**",

on résume à la fois des informations sur l'état actuel et les tendances sur les modalités d'évaluation de la pureté variétale des plantes, à savoir la détermination de la pureté variétale par électrophorèse des protéines et la détermination de la pureté variétale par l'utilisation de marqueurs moléculaires, ainsi que des règlements sur la manière de déterminer la pureté variétale et l'application des techniques de biologie moléculaire aux principales plantes cultivées. Considérant le statut de la Roumanie en tant que important producteur et exportateur de blé et de maïs, les recherches dans cette étude se sont concentrées sur ces deux cultures. Ainsi, est présentée ici une synthèse des techniques de biologie moléculaire utilisées chez le blé et le maïs.

Le chapitre II intitulé "**Marqueurs moléculaires et techniques de biologie moléculaire basées sur leur utilisation**" comprend à la fois des informations sur la classification et l'importance des marqueurs génétiques, étant inclus ici les marqueurs traditionnels et les marqueurs moléculaires, ainsi que des informations sur les marqueurs moléculaires utilisés dans les techniques de biologie moléculaire.

Sont synthétisées ici des informations sur les marqueurs non basés sur la PCR technique ainsi que des informations sur les marqueurs basés sur la PCR technique, énumérant dix des marqueurs PCR les plus utilisés (marqueurs: RAPD, AFLP, RAMP, ISSR, SCAR, ScoT, CAPS, SNP, KASP et SSR).

Considérant que dans cette étude de recherche ont été utilisés des marqueurs SSR, le chapitre II a inclus, aussi, un sous-chapitre sur l'importance de l'utilisation des techniques de biologie moléculaire et des marqueurs SSR pour évaluer la pureté variétale et la diversité génétique chez les plantes de champ.

Parce que, selon les études spécialisées et les informations présentées dans l'étude bibliographique, les techniques de biologie moléculaire utilisant des marqueurs SSR présentent des nombreux avantages en ce qui concerne la simplicité, l'efficacité, l'accessibilité et la reproductibilité, ils ont été sélectionnés dans cette étude de recherche pour tester la pureté variétale et la diversité génétique du blé et du maïs.

La deuxième partie de la thèse comprend **les chapitres III et IV** où on peut trouver des informations concernant les propres recherches sur la détermination de la pureté variétale et de la diversité génétique aux diverses variétés de blé et lignées consanguines de maïs cultivées en Roumanie.

Le chapitre III intitulé "**Détermination de la pureté variétale et de la diversité génétique des variétés de blé cultivées en Roumanie**" comprend une brève introduction sur le plan expérimental, des informations sur les matériaux et la méthode de travail, les résultats et les discussions sur l'utilisation de marqueurs SSR pour déterminer la pureté variétale et la diversité génétique dans certaines variétés de blé, aussi que les conclusions partielles résultats d'analyses moléculaires.

Dans le sous-chapitre "**Matériels et méthodes**", on peut trouver des informations sur:

- **Sélection du matériel végétal de blé**

Le matériel végétal utilisé dans l'étude de recherche était représenté par 40 échantillons de semences (C1-C40) provenant du Laboratoire Central de la Qualité des Semences et du Matériel Végétal (LCCSMS) obtenus de diverses campagnes de récolte et de collections de semences. Parmi ceux-ci, 34 échantillons étaient représentés par des variétés de blé certifiées, le reste étant constitué de semences des variétés non certifiées, comme l'épeautre (*Triticum spelta* L.), *Triticum monococcum*, le blé emmer (*Triticum dicoccon* Schrank), des graines appartenant à un autre genre, comme les graines de triticales (*xTriticosecale* Wittmack) et d'avoine nue (*Avena nuda* L.), échantillons de la collection de semences du LCCSMS.

Pour 14 des 34 variétés certifiées ont été incluses dans l'étude des semences de deux campagnes de récolte (2019 et 2020) et 4 des 14 variétés ont également été comparées aux semences standard. Ainsi, au cours de l'étude de recherche, ont été analysés un total de 58 échantillons provenant des deux campagnes de récolte.

Pour souligner que les conditions concernant le maintien de la pureté variétale sont respectées, sept échantillons des semences de la même variété certifiée de blé ont été introduits dans l'étude, semences multipliés en 2022 dans différents endroits dans les comtés de Calarasi, Ialomita, Suceava et Tulcea, les sept échantillons étant comparés à l'échantillon standard.

- Sélection de la méthode d'isolement de l'ADN

L'extraction de l'ADN a été réalisée à l'aide du kit d'extraction NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel). La sélection du tampon de lyse a été établie suite à un plan expérimental qui a consisté en l'utilisation des trois tampons de lyse: un tampon à base de CTAB (PL1), un tampon contenant du SDS (PL2) et un tampon de lyse (CF) d'un kit d'extraction de l'ADN à partir d'aliments (NucleoSpin Food).

- Marqueurs SSR utilisés dans les expériences

Dans cette étude, 22 marqueurs SSR ont été sélectionnés et utilisés pour évaluer la pureté variétale et la diversité génétique de certaines variétés de blé cultivées en Roumanie. Parmi eux, 14 marqueurs SSR (DuPw167, DuPw217, DuPw004, DuPw115, DuPw205, Xgwm155, Xgwm413, Xgwm003, Xgwm372, Xbarc184, Xbarc347, Xbarc074, Xgwm052 et Xgwm095) sont recommandés par un organisme d'accréditation international (ISTA) pour vérifier la pureté variétale de blé et les marqueurs SSR restants (Xwmc603, Xwmc596, Xwmc418, Xbarc170, Xgwm469, Xwmc474, Xwmc533, Xgwm71) ont été sélectionnés dans la littérature pour être testés dans le but choisi.

- Le plan expérimental concernant le choix des conditions de réaction

Pour les 14 marqueurs SSR (DuPw167, DuPw217, DuPw004, DuPw115, DuPw205, Xgwm155, Xgwm413, Xgwm003, Xgwm372, Xbarc184, Xbarc347, Xbarc074, Xgwm052 et Xgwm095) le plan expérimental consistait à choisir, pour chaque marqueur à la fois, a un mélange réactionnel PCR et la température optimale de réaction, afin que les produits d'amplification résultants puissent être bien mis en évidence, sans l'apparition des produits d'amplification non spécifiques, permettant

une bonne interprétation des résultats obtenus. Pour atteindre cet objectif ont été testés trois mélanges réactionnels PCR.

Pour le reste des marqueurs SSR, l'optimisation a consisté uniquement en la réalisation d'un gradient de température afin de choisir la température optimale, ainsi que les variations de la concentration des amorces et des temps de réaction.

- Les conditions de réaction finales sélectionnées

Sont incluses ici les conditions de réaction finales pour les 22 marqueurs SSR, conditions qui ont été sélectionnées suite à l'analyse des résultats obtenues dans le plan expérimental d'optimisation de la réaction PCR.

- Marqueurs KASP utilisés dans les expériences

Pour démontrer que les résultats obtenus avec les marqueurs SSR sont reproductibles, 3 marqueurs KASP (marqueur associé au gène *1-FEH w3*, marqueur BS00023119 (6A) et marqueur KASP BS00060097 (4A)) ont également été utilisés dans cette étude de recherche, marqueurs utilisés pour la première fois au niveau national pour l'évaluation de la pureté variétale des variétés de blé.

Dans le sous-chapitre "**Résultats et discussions**", sont présentées des informations sur les résultats et discussions liées à: la sélection de la méthode d'isolement de l'ADN pour les variétés de blé testées, l'optimisation des conditions de réaction pour les marqueurs SSR testés, l'analyse des produits obtenus avec les 22 marqueurs SSR testés, l'évaluation de la pureté variétale et de la diversité génétique des variétés de blé à l'aide des marqueurs SSR, ainsi que les résultats et les discussions liés à l'utilisation de la technique KASP dans l'évaluation de la pureté variétale et de la diversité génétique des variétés de blé sélectionnés.

Suite à l'analyse des résultats obtenus à partir de l'application de techniques de biologie moléculaire pour déterminer la pureté variétale et la diversité génétique des variétés de blé sélectionnées, a pu être finalement énoncée une série **de conclusions partielles**.

La méthode d'isolement de l'ADN sélectionnée pour les variétés de blé testées a permis d'obtenir des bons résultats d'amplification, l'ADN extrait répondant aux critères d'acceptabilité concernant la concentration et la pureté optimales pour la réaction d'amplification avec les marqueurs SSR. L'amplification de l'ADN extrait a été prouvée pour toutes les conditions d'extraction testées et la méthode d'extraction sélectionnée peut également être utilisée pour d'autres espèces des céréales.

La méthode de travail choisie pour déterminer la pureté variétale et la diversité génétique des variétés de blé sélectionnées à l'aide de marqueurs SSR remplit les conditions de **robustesse**, de **reproductibilité** et de **répétabilité**.

Tous les marqueurs SSR sélectionnés présentaient des produits d'amplification dans les conditions de réaction sélectionnées et l'utilisation d'une enzyme Hot Start a augmentait la **spécificité** de la méthode.

Les **analyses moléculaires** ont montré que sur les **22 marqueurs SSR**, **21** présentaient un certain degré de polymorphisme sur les échantillons de blé sélectionnés.

Le plus haut degré de polymorphisme a été observé pour le marqueur **Xwmc596** (7 allèles), suivi par les marqueurs **Xwmc603** et **Xwmc474** (6 allèles); Xgwm71, Xbarc347 et Xbarc074 (5 allèles); Xgwm469, DuPw004, Xgwm155 et Xbarc184 (4 allèles); Xwmc418, Xbarc170, Xwmc533, DuPw167, DuPw115, Xgwm413 et Xgwm372 (3 allèles); DuPw217, DuPw205, Xgwm003 et Xgwm095 (2 allèles). Le marqueur Xgwm052 a montré le plus faible degré de polymorphisme (un allèle), mais il peut être considéré pour des futures études sur d'autres variétés de blé.

Ainsi, tous les marqueurs SSR sélectionnés ont démontré leur potentiel dans la détermination de la pureté variétale, pouvant distinguer entre différentes variétés de blé, mais aussi entre différentes espèces et genres.

Les analyses moléculaires ont également montré que dans les deux campagnes de récolte (2019 et 2020), n'a été observée aucune contamination des variétés, démontrant ainsi que **les exigences d'assurance de la qualité pour la production de semences certifiées sont maintenues**. Aucune contamination n'a été observée même en comparant les semences des 4 variétés de blé certifiées avec les semences standard, ni dans le cas de la comparaison des semences de la même variété de blé certifiée, multipliées à différents endroits avec les semences standard.

L'utilisation d'une nouvelle technique pour évaluer la pureté variétale des variétés de blé, **la technique KASP** a montré que les résultats obtenus sont **reproductibles** considérant que aucune différence n'a été observée entre les résultats obtenus en utilisant des marqueurs SSR et ceux obtenus en utilisant des marqueurs KASP. Ainsi, l'utilisation des marqueurs KASP: BS00023119_6A, BS00060097 et du marqueur associé *1-Feh-w3*, a montré qu'entre les variétés testées des deux campagnes (2019 et 2020) et comparées à les semences standard et entre les semences multipliées en différents endroits et comparées à les semences standard, il n'y a pas de différences.

De cette façon, il a été possible de démontrer que est minimisé le risque que la méthode basée sur l'utilisation des marqueurs SSR génère des résultats faussement positifs ou faussement négatifs, mais aussi le fait que sont respectées les conditions en ce qui concerne maintien de la pureté variétale, facteur important dans le processus d'amélioration et de certification des semences.

L'analyse de la diversité génétique pour les 40 échantillons a montré la capacité des marqueurs SSR sélectionnés à détecter la diversité génétique entre différentes variétés de blé, mais aussi entre le blé et les autres espèces. Les marqueurs SSR sélectionnés ont permis de distinguer le blé de *Triticum spelta* L., *Triticum monococcum*, *Triticum dicoccon* Schrank, mais aussi de céréales appartenant à d'autres genres comme triticales (*×Triticosecale* Wittmack) et *Avena nuda* L. Ainsi, l'analyse des

données statistiques générées par l'application NTSYSpc2.10e et du dendrogramme généré par l'application de l'algorithme UPGMA et du coefficient Dice, a pu mettre en évidence la présence dans les cultures certifiées de blé en Roumanie d'un germoplasme diversifié.

Les marqueurs SSR sélectionnés dans cette étude de recherche se sont révélés utiles pour évaluer la pureté variétale et la diversité génétique et les marqueurs polymorphes peuvent également être utilisés dans les futurs programmes de sélection du blé. L'utilisation dans l'avenir a un nombre plus élevé de marqueurs SSR peut augmenter la spécificité de la méthode.

Dans **le chapitre IV** intitulé **"Détermination de la pureté variétale et de la diversité génétique des lignées consanguines de maïs cultivées en Roumanie"**, sont présentées des informations concernant les matériels et les méthodes utilisés dans l'étude expérimentale, les résultats et les discussions sur l'utilisation de marqueurs SSR dans la détermination de la pureté variétale et de la diversité génétique et conclusions partielles sur l'utilisation des marqueurs SSR pour déterminer la pureté variétale et la diversité génétique des lignées consanguines de maïs sélectionnées.

Le sous-chapitre **"Matériels et méthodes"** comprend des informations sur :

- Sélection du matériel végétal de maïs

Le matériel végétal de maïs a été représenté par des semences des 13 lignées consanguines de maïs (LC1-LC13) cultivées en Roumanie, obtenues du Laboratoire Central pour la Qualité des Semences et du Matériel Végétal (LCCSMS). Les semences testées appartenaient aux classes de semences pré-base génération 2 (PB G2) et base (B). Pour vérifier que la pureté de la variété est préservée, pour 3 des lignées consanguines de maïs, ont été analysées en parallèle des semences des catégories PBG2 et B. Pour démontrer que les marqueurs SSR prouvent leur efficacité dans l'évaluation de la pureté variétale des lignées de maïs, ont été introduits dans l'étude deux hybrides de maïs (H1 et H2).

- Extraction d'ADN de graines de maïs

L'optimisation à ce stade a consisté en l'extraction de l'ADN des graines de maïs à l'aide du tampon PL1 du kit NucleoSpin Plant II, les variations incluses sont: les extractions d'ADN des graines, d'embryons et du matériel végétal résultant de la germination des semences pour 3 des échantillons sélectionnés.

- Marqueurs SSR utilisés dans les expériences

Pour l'évaluation de la pureté variétale et de la diversité génétique des 13 lignées consanguines de maïs, ont été sélectionnés 8 marqueurs SSR (umc1545, umc1448, umc1117, umc1061, phi109275, phi102228, phi083, phi015).

- Test des conditions de réaction pour l'évaluation de la pureté variétale de lignées de maïs sélectionnées

Le plan expérimental a inclus des optimisations qui ont consisté en la variation de la concentration des amorces, du volume final de réaction et la réalisation pour tous les marqueurs SSR d'un gradient de température afin de choisir la température optimale.

- Le sous-chapitre "**Résultats et discussions**" a inclus les résultats et les discussions sur la sélection et l'optimisation de la méthode d'isolement de l'ADN, l'optimisation des conditions de réaction pour les marqueurs SSR sélectionnés, l'analyse des produits obtenus avec les marqueurs SSR sélectionnés, les résultats et les discussions concernant l'évaluation de la pureté variétale des lignées consanguines et des hybrides de maïs à la suite de l'utilisation des marqueurs SSR, ainsi que l'analyse de la diversité génétique des lignées consanguines de maïs sélectionnées.

Concernant la sélection et l'optimisation de la méthode d'isolement de l'ADN, le broyage des graines et l'extraction de l'ADN avec le tampon de lyse PL1 s'est avéré être la méthode d'extraction la plus efficace et la plus rapide. La méthode d'isolement choisie a permis d'obtenir des bons résultats d'amplification avec les 8 marqueurs SSR testés, l'ADN génomique répondant aux critères d'acceptabilité concernant la concentration et la pureté optimales pour la réaction PCR.

Dans les conditions de réaction sélectionnées pour l'étude expérimentale, tous les 8 marqueurs SSR ont présenté des produits d'amplification.

Suite aux **analyses moléculaires**, il a été observé que tous les marqueurs sélectionnés présentaient un certain degré de polymorphisme sur les lignées consanguines de maïs sélectionnées. Ainsi, le marqueur **phi015** s'est révélé être le plus polymorphe parmi les 8 marqueurs SSR sélectionnés (5 allèles) suivi des marqueurs **umc1545**, **umc1448** et **umc1117** (4 allèles), des marqueurs phi102228 et phi083 (3 allèles) et des marqueurs umc1061 et phi109275 (2 allèles).

Les marqueurs SSR testés ont prouvé leur efficacité tant dans l'**évaluation de la pureté variétale des lignées de maïs** que dans le cas de la **vérification de la pureté variétale des hybrides de maïs** sélectionnés (H1 et H2).

La vérification de la pureté variétale des deux hybrides de maïs sélectionnés n'a pu être confirmée qu'avec 3 des 8 marqueurs SSR utilisés dans l'étude. Ainsi, même si le marqueur phi109275 n'a pas montré initialement un polymorphisme élevé, il a pu établir avec certitude la pureté variétale de l'hybride H2. Le marqueur umc1117 a pu établir avec certitude la pureté variétale des deux hybrides et le marqueur phi083 a pu établir avec certitude la pureté variétale de l'hybride H1.

L'analyse statistique des données a inclus la réalisation d'une matrice binaire ainsi que la génération, à l'aide d'une application, d'un dendrogramme, qui a montré la diversité génétique entre les lignées consanguines de maïs introduites dans l'étude.

Suite à l'analyse des données statistiques générées par l'algorithme de calcul UPGMA à l'aide de coefficient Dice et des données de la matrice de similarité, on a pu observer une forte ressemblance génétique entre les lignées consanguines de maïs

LC1(PBG2) et LC2 (B), ce qui démontre que **la pureté de la variété est préservée entre les catégories des semences.**

Alors, considérant qu'entre les lignées consanguines de maïs LC3 (PBG2) et LC13 (B) et entre les lignées LC4 (B) et LC10 (PBG2), l'évaluation des produits d'amplification avec les huit marqueurs SSR a révélé un degré de similitude compris entre 25 et 37%, deux hypothèses peuvent être émises: soit une contamination de la lignée initiale, soit une amélioration de la lignée consanguine initiale désirée dans le processus d'amélioration.

Les analyses moléculaires effectuées ont démontré que les marqueurs SSR se sont révélés utiles pour l'évaluation de la pureté variétale et de la diversité génétique, étant capables de différencier les lignées apparentées de maïs et de placer les lignées consanguines de maïs en groupes basés sur la similarité génétique.

L'évaluation de la pureté variétale et de la diversité génétique entre les différentes lignées consanguines de maïs peut jouer un rôle important dans le processus d'amélioration et d'obtention des nouveaux hybrides, par conséquent, les résultats obtenus peuvent constituer un point de départ pour l'évaluation d'autres lignées consanguines de maïs et la sélection de lignées avec les traits souhaités dans les programmes de sélection d'hybrides de maïs.

Les résultats obtenus tant au chapitre III qu'au chapitre IV pourront être utilisés pour le développement et la validation des nouvelles méthodes d'évaluation de la pureté variétale, dans les programmes d'amélioration et/ou de conservation du matériel génétique.

À la fin de la thèse, une série de **conclusions générales** ont été incluses, ainsi que **le caractère de nouveauté de l'étude de recherche.**

Les résultats obtenus dans cette étude de recherche apportent pleinement une nouveauté dans le domaine au niveau national.

La nouveauté du sujet de recherche réside dans le fait qu'au niveau national, il n'existe pas des méthodes validées et/ou accréditées pour permettre l'évaluation de la pureté variétale des semences par des techniques de biologie moléculaire basées sur l'utilisation de marqueurs SSR.

Un autre aspect de nouveauté du thème de recherche réside dans le fait que la technique KASP est utilisée pour la première fois au niveau national dans l'évaluation de la pureté variétale des variétés de blé.

Les résultats obtenus dans cette étude de recherche fournissent à la fois des informations d'actualité sur la diversité génétique du matériel végétal de blé et de maïs cultivé en Roumanie, ainsi que des informations qui pourraient à l'avenir être utilisées dans le développement des nouvelles méthodes d'évaluation de la pureté variétale ou dans des programmes d'amélioration et/ou de conservation du matériel génétique.

Considérant que la méthodologie concernant l'utilisation des marqueurs SSR dans l'évaluation de la pureté variétale du matériel végétal de blé et de maïs n'est pas

entièrement définie dans la législation nationale et internationale, cette étude pourrait être à l'avenir une source d'informations pour développer une méthodologie appropriée qui puisse être appliquée tant au niveau national qu'international.

Les résultats obtenus dans cette étude de recherche pourront être utilisés à l'avenir pour la validation et l'accréditation des méthodes permettant d'évaluer la pureté variétale des semences et du matériel végétal de blé et de maïs, et la méthodologie de travail pourra être introduite à l'avenir dans la législation nationale spécifique.

L'activité de recherche a été réalisée tant à la **Faculté de Biotechnologies** de l'USAMV de Bucarest, qu'au **Laboratoire d'Électrophorèse et Organismes Génétiquement Modifiés** du LCCSMS. L'activité de recherche concernant la technique KASP a été réalisée dans le **Laboratoire de Phénotypage et Génotypage** de l'INCDA Fundulea.

La présente thèse contient un nombre de 202 pages et comprend 13 tableaux et 59 figures. La thèse comprend 6 annexes. Les annexes I et II présentent les listes des tableaux et des figures. L'Annexe III présente la concentration et les rapports de pureté d'ADN pour les variétés de blé utilisées dans l'étude. Les annexes IV et V fournissent des données incluses dans la matrice de similarité résultant de l'application de l'algorithme UPGMA et du coefficient Dice aux espèces de blé (annexe IV) et de maïs (annexe V) testées. L'annexe VI présente les résultats moléculaires obtenus dans cette étude pour les marqueurs SSR utilisés pour évaluer la pureté variétale des variétés de blé sélectionnées. La bibliographie contient 213 références bibliographiques publiées dans des revues spécialisées et des sources web.

Les résultats obtenus dans cette étude de recherche ont été diffusés à travers 4 articles publiés à la fois dans des revues indexées WOS et BDI, ainsi qu'à travers des communications scientifiques lors d'événements internationaux.