

# 12

## **Modification de la conductance stomatique de diverses origines tunisiennes de caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) soumises à une contrainte hydrique prolongée**

M.N. REJEB\*, D. LAFFRAY\*\*, P. LOUGUET\*\*

\* *Laboratoire d'écologie forestière, INRF, BP2 2080 Ariana, Tunisie*

\*\* *Laboratoire de physiologie végétale, UFR Sciences, université Paris Val-de-Marne, 94010 Créteil cedex, France*

### **Résumé**

La conductance stomatique a été suivie chez cinq origines tunisiennes de Caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) soumises ou non à une contrainte hydrique prolongée. L'examen des résultats obtenus montre que les origines Sfax et Béni-Khiar ont fermé plus rapidement leurs stomates après application de la contrainte.

Pour toutes les origines, on observe après réhydratation, une réouverture des stomates supérieure à celle des témoins. Au cours d'un deuxième cycle de déshydratation nous avons noté que la conductance stomatique diminue moins fortement qu'au cours du premier, ce qui peut traduire un durcissement de la feuille et son adaptation à la contrainte.

### **Introduction**

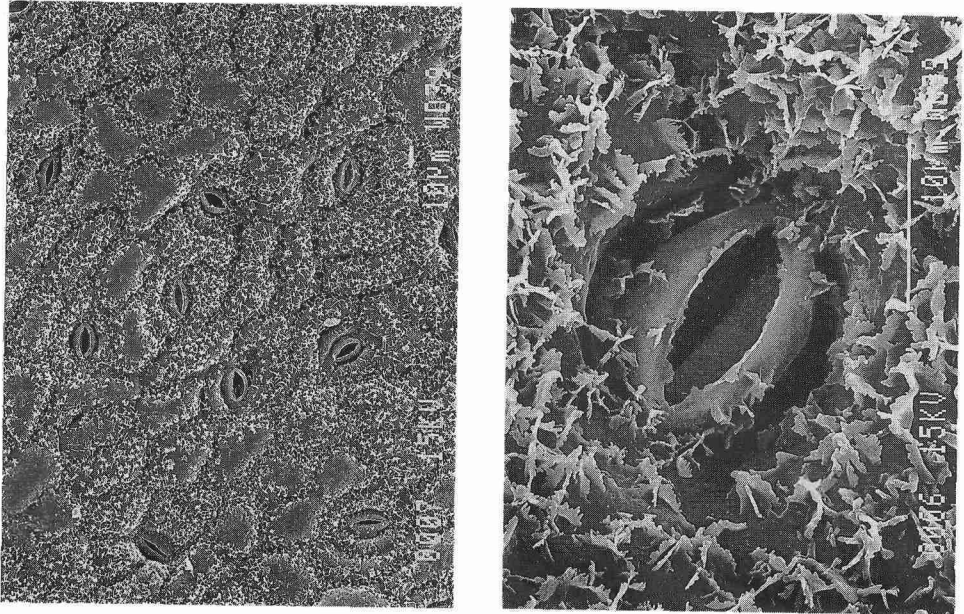
Le Caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) est un arbre de dix à quinze mètres de hauteur, à cime très étalée, à feuillage persistant. Le fruit est consommé cru et réputé

antidiarrhéique. Il se trouve souvent placé dans des conditions de déficit hydrique et soumis fréquemment à des pressions sélectives limitant la productivité et la qualité des récoltes de gousses.

Dans le but de déterminer un marqueur physiologique de la contrainte hydrique qui permettrait d'identifier un ou plusieurs écotypes tunisiens de caroubier plus résistants à la sécheresse, nous avons étudié l'évolution des conductances stomatiques de plusieurs origines tunisiennes de Caroubier soumises à une contrainte hydrique appliquée pendant 18 semaines en conditions semi-naturelles. Les études des relations plante-eau ont montré que la plupart des processus physiologiques sont affectés par la contrainte [10, 16] et les mécanismes de résistance mis en jeu sont nombreux (morphologiques, physiologiques et biochimiques). Dans ce cas, le criblage en vue de la sélection de génotypes ne peut se faire sur la base d'un seul critère [4, 14, 17]. Ainsi, nous serons amenés à rechercher l'existence éventuelle d'autres marqueurs métaboliques et morphologiques caractéristiques des écotypes plus résistants à la sécheresse.

## Matériel et méthodes

Les feuilles de *Ceratonia siliqua* sont persistantes, composées paripennées, comportant quatre à dix folioles ovales, d'un vert luisant au-dessus, plus clair au-dessous. Ce sont des feuilles hypostomatées, pratiquement glabres, avec d'importants dépôts de cires (fig. 1).



**Figure 1.** Microphotographie au microscope électronique à balayage de la face abaxiale de la feuille de Caroubier. a : Faible grossissement. b : Détail d'un stomate. Noter la présence de cires cuticulaires abondantes. La barre blanche représente 10 microns.

## *Conductance stomatique du caroubier et déficit hydrique*

Les origines étudiées proviennent des régions de Tabarka, Tunis, Beni-Khiar, Souassi et Sfax; les plantes, élevées en pépinière dans des fosses de 1,5 m × 14 mètres, sont âgées de deux ans au moment de leur utilisation. La germination est effectuée dans des boîtes de Petri tapissées de papier filtre humidifié après traitement préalable par l'acide sulfurique concentré. Les plantules de taille voisine sont sélectionnées individuellement sur un mélange sable-terreau. L'arrosage a lieu tous les 10 jours avant le démarrage de l'expérience. La contrainte hydrique est obtenue par un arrêt complet de l'arrosage et la réhydratation est faite à la capacité au champ. La durée totale de cette expérimentation a été de vingt cinq semaines. La résistance stomatique est mesurée à l'aide d'un poromètre à diffusion de vapeur d'eau (Delta T Devices, UK). Le potentiel hydrique est mesuré par la chambre à pression de Scholander après ensachage de l'échantillon.

## **Résultats**

### **Evolution des potentiels hydriques (fig. 2a)**

#### *Les témoins*

Afin d'illustrer le comportement du Caroubier lors de la contrainte hydrique, nous avons choisi une cinétique d'évolution au cours du temps des potentiels hydriques et des conductances stomatiques sur la provenance Beni Khiar (fig. 2a et 2b). Les origines témoins sont arrosées régulièrement tous les dix jours. Leur potentiel hydrique, pris en milieu de journée se maintient entre  $-2$  et  $-3$  MPa (fig. 2), ce qui représente déjà des valeurs relativement basses de potentiel comparativement à la plupart des plantes herbacées (Tableau I).

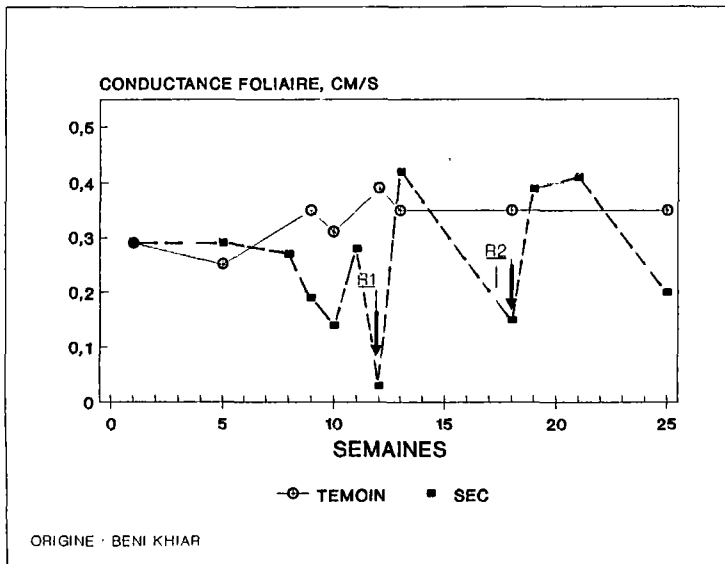
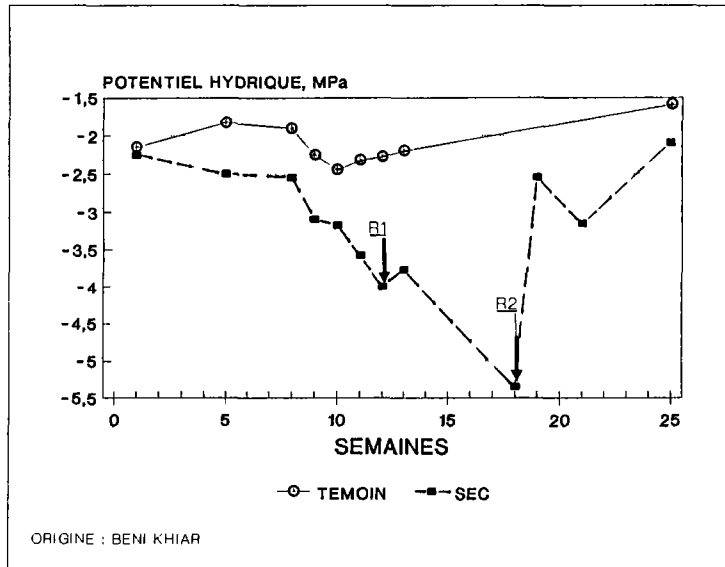
#### *Les contraintes*

La contrainte hydrique est obtenue par suspension de l'arrosage. Le potentiel hydrique de toutes les plantes traitées reste comparable à celui des témoins durant les premières semaines puis devient très bas à partir de la douzième semaine ( $-4$  MPa pour Beni Khiar). Il en est de même pour Sfax ( $-4,4$  MPa), ce qui nous a conduit à irriguer ces deux provenances. L'arrêt de la contrainte hydrique intervient pour toutes les provenances à la dix-neuvième semaine. A ce moment, nous avons mesuré des potentiels hydriques de  $-5$  MPa, pour Sfax,  $-4$ MPa pour Souassi et  $-5,4$  pour Béni Khiar.

### **Évolution des conductances stomatiques (fig. 2b)**

#### *Les témoins*

La figure 2b illustre l'évolution de la conductance stomatique au cours du temps chez la provenance Beni Khiar. Pour les autres origines, les conductances stomatiques des témoins varient entre  $0,25$  et  $0,30$   $\text{cms}^{-1}$  les premières semaines et augmentent jusqu'à  $0,40$   $\text{cms}^{-1}$  à partir de la huitième semaine (mai-juin). Cette



**Figure 2.** Evolution du potentiel hydrique foliaire (a) et de la conductance stomatique (b) en fonction du temps chez les témoins (⊗) et les plantes soumises à la contrainte (■). Provenance Beni Khiar. R1, R2, réhydratation des plantes.

### *Conductance stomatique du caroubier et déficit hydrique*

**Tableau I.** Valeurs du potentiel hydrique mesurées chez quelques plantes herbacées et chez des Caroubiers témoins au milieu de la journée à pleine ouverture.

Espèces	PH en bars	Références
Tomate	-6 à -11	[12]
Concombre	-0,5	[2]
Piment	-0,4	[2]
Blé	-0,5 à -9	[3]
Dactyle	-1	[5]
Haricot	-0,65	[9]
Plaintain	-0,8 à -1	[7]
Caroubier	-1,5 à -3	[6, 13]

augmentation est probablement liée aux facteurs climatiques puisque l'expérience se déroule en pépinière, à ciel ouvert.

#### ***Les contraintes***

Les plantes soumises à une contrainte hydrique prolongée se sont comportées comme les témoins jusqu'à la huitième semaine. A partir de la neuvième semaine, l'ouverture stomatique est réduite chez les origines INRF, Tabarka et Souassi. Les stomates sont complètement fermés chez les origines Beni Khiar et Sfax. Après réhydratation, on retrouve le degré d'ouverture stomatique initial. L'application d'un deuxième cycle de sécheresse provoque une fermeture stomatique moins importante que dans le cas du premier cycle. A la suite de cette réhydratation, nous avons constaté un surcroît d'ouverture stomatique.

#### ***Relations conductance stomatique-potentiel hydrique*** (fig. 3 à 7)

Nous avons relié la conductance stomatique au potentiel hydrique mesuré au milieu de la journée à l'équilibre. Pour le premier cycle d'assèchement (fig. 3, 4, 5), on notera que la conductance stomatique diminue linéairement avec l'abaissement du potentiel hydrique. On remarquera que la pente des droites est différente suivant les variétés, celle de la provenance Sfax étant supérieure à celles des deux autres qui sont par ailleurs semblables. Ceci semble indiquer une sensibilité particulière à la diminution du potentiel hydrique pour la provenance Sfax.

Pour les cycles d'assèchement suivants, après une période de réhydratation, on notera essentiellement :

— pour toutes les provenances, une conductance stomatique plus élevée pour un potentiel hydrique donné (-2 à -3 MPa);

— pour la provenance Sfax (fig. 3), on notera que pour toute la durée de la phase d'assèchement consécutive à la première réhydratation (semaine 12), les conductances sont toujours plus élevées que pendant la première période de contrainte. La pente de la droite reliant la conductance stomatique au potentiel hydrique est également plus faible. Ces faits peuvent traduire un durcissement des feuilles et une adaptation stomatique après des contraintes hydriques répétées.

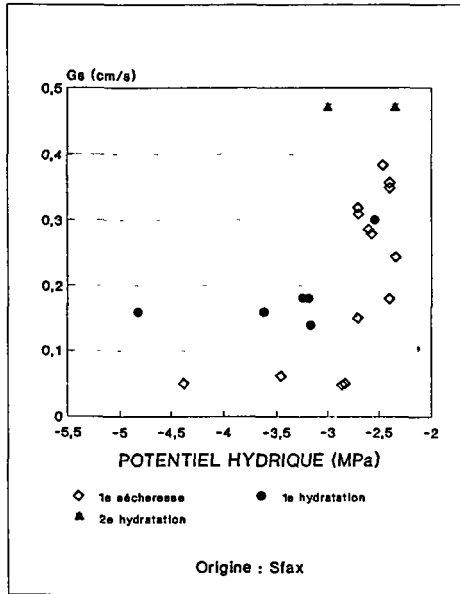


Figure 3. Relation entre la conductance stomatique et le potentiel hydrique au cours de l'assèchement pour la provenance Sfax.

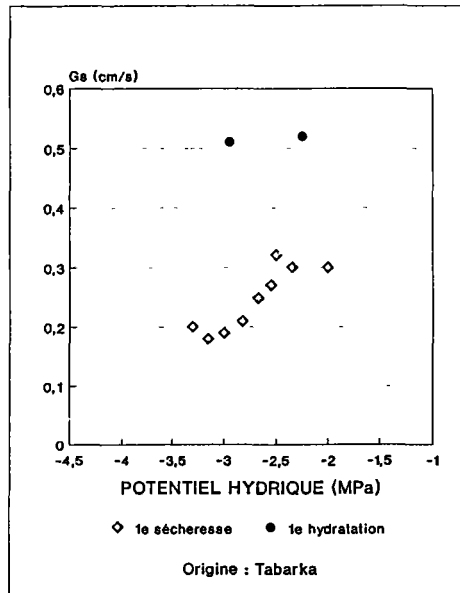
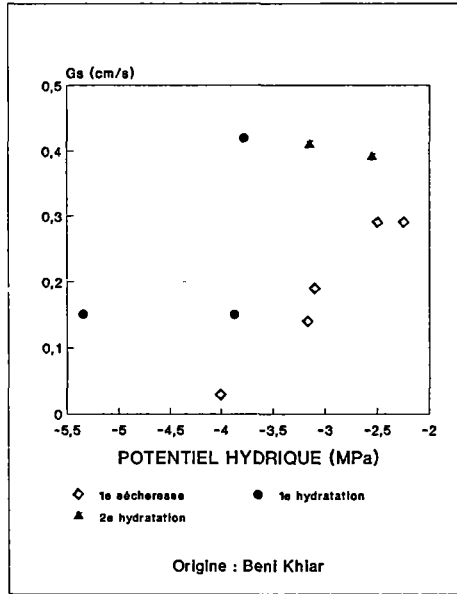
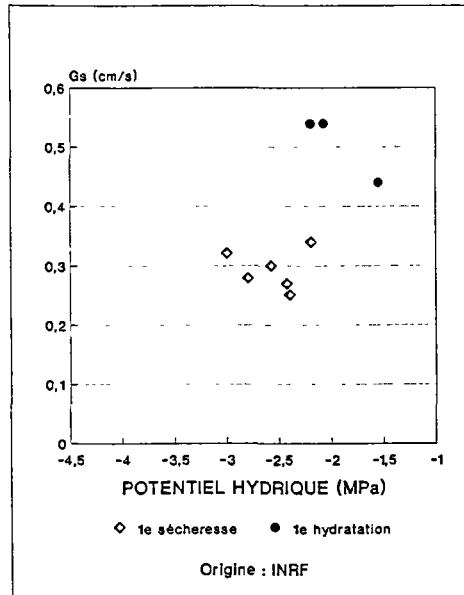


Figure 4. Relation entre la conductance stomatique et le potentiel hydrique au cours de l'assèchement pour la provenance Tabarka.

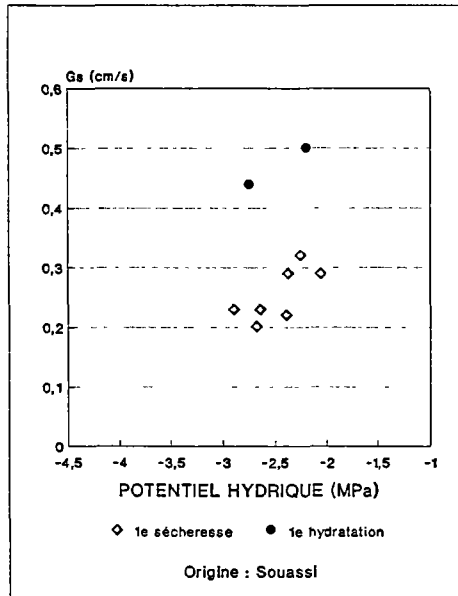
*Conductance stomatique du caroubier et déficit hydrique*



**Figure 5.** Relation entre la conductance stomatique et le potentiel hydrique au cours de l'assèchement pour la provenance Beni Khlar.



**Figure 6.** Relation entre la conductance stomatique et le potentiel hydrique au cours de l'assèchement pour la provenance Inrf.



**Figure 7.** Relation entre la conductance stomatique et le potentiel hydrique au cours de l'assèchement pour la provenance Souassi.

Les relations conductance stomatique/potentiel hydrique sont plus difficiles à analyser sur les figures 6 et 7 concernant les provenances INRF et Souassi. La contrainte hydrique n'a pas été suffisamment prolongée sur ces deux provenances, probablement à cause d'une consommation en eau inférieure.

## Discussion

L'application d'une contrainte hydrique prolongée sur différentes origines tunisiennes de Caroubier montre qu'au cours des premières semaines après la suspension de l'arrosage, la conductance stomatique reste assez élevée et les premiers effets sur l'ouverture stomatique ne se manifestent qu'à partir de la neuvième semaine. Chez d'autres espèces, cultivées également sur le terrain, ce délai de réponse est souvent beaucoup plus court (13 jours chez le Palmier à huile [1]). Pour les plantes herbacées cultivées dans un volume de sol réduit, ce qui limite la réserve utile en eau et l'extension du système racinaire, ce délai n'est que de quelques jours. Vasquez (15) obtient une fermeture stomatique complète au bout de 6 jours de contrainte sur *Vigna* et *Phaseolus*. La vitesse de réponse des stomates au cours du temps non seulement dépend des espèces et de leur consommation en eau mais aussi de la réserve en eau utilisable du sol. Afin de comparer les diverses réponses, la conductance stomatique doit être exprimée en fonction d'un paramètre hydrique qui, dans nos expériences, est le potentiel hydrique foliaire.



Le maintien des stomates ouverts malgré la contrainte prolongée implique que la feuille de Caroubier peut transpirer sans limitations et que l'eau perdue est récupérée par le système racinaire puisque le contenu relatif en eau se maintient au voisinage de 95 %. Les potentiels hydriques à ce moment ont atteint  $-2.5$  MPa. Ces résultats sont en accord avec ceux de Lo Gullo et Salleo [6]. En effet, pour un même degré de sclérophyllie que *Laurus nobilis* et *Olea oleaster*, ces auteurs montrent dans une étude comparative que *Ceratonia siliqua* se comporte comme une espèce qui supporte la sécheresse par des capacités rapides de récupération grâce à une conductivité hydraulique élevée liée au diamètre important des éléments conducteurs. Ces teneurs en eau élevées mesurées pendant cette période (de l'ordre de 95 %) sont également en accord avec les données de ces auteurs. Herwitz *et al.* [8] mesurent sur le terrain et sur cette espèce hypostomatée des valeurs de transpiration très élevées ( $2,4$  g d'eau/dm<sup>2</sup>/h). Une relation linéaire est établie entre la conductance et le potentiel hydrique pour des valeurs de potentiel comprises entre  $-2$  et  $-4$  MPa. Une relation du même type a été établie sur la même espèce pour la transpiration et le contenu relatif en eau du sol [8].

Par ailleurs, selon les origines, nous avons pu mettre en évidence des différences dans la pente de ces droites indiquant une sensibilité différente aux variations de potentiel hydrique. Chez Sfax, on peut interpréter la fermeture stomatique rapide comme une meilleure adaptation à la sécheresse, permettant à la plante d'économiser l'eau disponible et de maintenir une teneur en eau des tissus élevée et aussi une certaine sensibilité à la déshydratation. Au contraire une fermeture stomatique plus lente comme pour les autres origines peut traduire une certaine tolérance à la déshydratation qui peut être accompagnée d'un ajustement osmotique (travail en cours). Nunes *et al.* [13] ont montré sur le même matériel que ces capacités d'ajustement existent.

La réhydratation après un cycle de sécheresse s'accompagne d'un surcroît d'ouverture essentiellement pour trois provenances (Sfax, Tabarka et Beni Khiar). Par ailleurs, au cours de la seconde phase de déshydratation (Sfax, fig. 3), on enregistre une diminution de la pente de la droite reliant la conductance stomatique au potentiel hydrique et une valeur minimale de conductance supérieure. On peut interpréter ces faits par un possible ajustement stomatique à la suite de ces cycles de contrainte [11].

## Références

1. Adjahossou DF, Louguet P, Vieira Da Silva JB. (1984). Corrélation entre les résistances stomatiques de divers croisements de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq) et la tolérance à la sécheresse. *Oecol Plant* ; 5, 2 : 163-178.
2. Behboudian MH. (1977). Wata relations of cucumber, tomato and sweet pepper. *Medede lingen Landb. wageningen*; 6 : 1-84.
3. Ben Salem M. (1988). Etude comparative de la résistance à la sécheresse de quelques variétés de Blé. Thèse de Doctorat d'Etat de l'Université Paris VII, 378 p.
4. Blum A, Ebercon A. (1981). Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Sci* ; 21 : 43-47.

5. Cavande SA, Taylor SA. (1967). Influence of soil water potential and atmosphere evaporative demand on transpiration and the energy status of water in plants. *Agr J*; 59 : 4-7.
6. Lo Gullo MA, Salleo S. (1988). Different strategies of drought resistance in three mediterranean sclerophylloces trees growing in the same environmental conditions. *New Phytol* ; 108 : 267-76.
7. Henchi B, Boukhris M. (1985). Effet de la sécheresse et du sel sur les composés azotés chez *Plantago albicans*. *Bull fac Sci Nat Tun* ; 17 : 33-40.
8. Herwitz SR, Yair A, Shachak M. (1988). Water use patterns of introduced cards trees (*Cerotonia siliqua* L.) on rocky hillslopes in the Negev Desert. *J Arid Environ* ; 14 : 83-92.
9. Jensen CR. (1981). Influence of water and salt stress on water relationships and carbon dioxide exchange of top and roots in beans. *New phytol* ; 87 : 285-295.
10. Laffray D. (1986). Les stomates. Réseaux lutte contre la sécheresse, ACCT, pp. 41-74.
11. Louguet P. (1978). Les stomates : caractères principaux et mécanismes de leur mouvement. In : Ed. Gauthier-Villard *photosynthèse et production végétales* ; 195-219.
12. Ludlow MM. (1980). Adaptive significance of stomatal responses to water stress. In : Turner NC., Kramer PJ., eds. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Wiley Intersciences NY; 123-38.
13. Mougou A. (1984). Evaluation de la résistance à la sécheresse par des paramètres morphologiques, Ecophysiologicals et biochimiques chez plusieurs espèces de tomates. Thèse de l'Université de l'Etat à Gand, 208 p.
14. Nunes MA, Catarino F, Pinto E. (1989). Strategies for acclimation to seasonal drought in *Ceratonia siliqua* leaves. *Physiol Plant*; 77 : 150-6.
15. Sullivan CY, Ross WM. (1979). Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. In : Eds H. Musselnd R. Sables *Stress physiology in Crop plants*. John Wiley and sons New York, pp. 263-281.
16. Vasquez AT, (1989). Action du déficit hydrique sur l'intégrité et sur la composition protéique des chloroplastes chez *Phaseolus vulgaris* et *Vigna unguiculata*.
17. Vieira Da Silva JB. (1984). Application des études fondamentales à l'amélioration des plantes résistantes à la sécheresse. *Bull Soc Bot FR*. 131, *actual Bot* ; 1 : 51-57.
18. Wien HC, Littleton EJ, Ayanaba A. (1979). Drought stress of cowpea and soybean under tropical conditions. In : Eds Mussell H. et Stapples R.C. *Stress physiology in Crop plants*. John Wiley and sons.

# 13

## **Les chocs thermiques et leurs applications**

J. DUBOIS

*Station d'Amélioration des plantes, 4 rue du Bordia 5800 Gembloux, Belgique*

Il est admis que les plantes subissent, comme tous les êtres vivants, l'action de divers stress; chez les plantes cultivées, la baisse de rendement due à ces facteurs peut atteindre 50 %. Les stress communément rencontrés sont : l'action des températures extrêmes, positives et négatives, des régimes hydriques, des radiations et des concentrations salines [10]. Il suit que le sélectionneur doit tenir compte de ces données dans son travail de création de variétés. Si dans les régions tempérées l'action de ces facteurs est généralement modérée, les régions tropicales en revanche les subissent fortement. Le but de ce court exposé est de présenter l'impact du stress thermique dans la stratégie de sélection des céréales.

### **Définition du stress**

Le stress correspond à toute condition de l'environnement ou combinaison de conditions qui empêche la plante de réaliser l'expression de son potentiel génétique pour la croissance, le développement et la reproduction [7].

### **Travaux de base**

La première observation de l'apparition de protéines *heat shock* (HSP) a été réalisée par Ritossa [19] sur la drosophile : après exposition à des températures élevées, on observait des excroissances au niveau des polytènes; l'apparition de ces excroissan-

ces, produites en quelques minutes après le choc thermique, était associée à la synthèse *de novo* d'ARN messagers; en 1973, Tissières *et al.* observèrent que l'induction des polytènes coïncidait avec la synthèse d'un petit nombre de protéines nouvelles (HSP) [22]. Ce système original de synthèse a permis depuis d'étudier la structure des gènes codant pour ces protéines et leur régulation. L'organisation de ces gènes hps dans le génome a pu être décodée [1], de même que l'étude de la structure de la chromatine, avant et après l'activation de ces gènes; l'identification des séquences régulatrices et la caractérisation des facteurs de transcription ont été déterminées [12]; il apparaît que les gènes hsp sont hautement conservés au niveau du codage pour les protéines et au niveau régulation. Il n'est peut-être pas sans intérêt de signaler que les gènes hsp ont été les premiers gènes eucaryotiques clonés. Le phénomène d'induction des protéines HSP présente un système général d'étude de développement au niveau cellulaire [16], du cal, du tissu, de l'organe et de la plante entière.

### **Les protéines *heat shock***

La réaction des organismes vivants à des situations défavorables (stress) se traduit, notamment, par la synthèse rapide de polypeptides [12, 20]. On distingue trois groupes principaux de protéines HSP caractérisées par leur poids moléculaire : 68 à 104 Kd, 20 à 33 Kd et 15 à 18 Kd; les deux premiers groupes se retrouvent chez tous les organismes vivants, le dernier groupe est particulier aux plantes. Les synthèses de toutes ces protéines sont coordonnées : elles résultent soit d'un changement brutal de température — passage brusque (de 25 °C à 39°-41 °C), soit une augmentation régulière de  $\pm 2,5$  °C par heure. Cependant, il faut noter que la synthèse des HSP est transitoire — dès que la source de chaleur anormale disparaît la synthèse des HSP diminue et finit par cesser. Plusieurs gènes hsp végétaux ont été clonés et séquencés, notamment hsp 18 du soja et hsp 70 de maïs. L'étude moléculaire a relevé l'existence d'éléments promoteurs et régulateurs ainsi qu'il en est normalement chez les végétaux [8]. Ces gènes sont manifestement thermoinductibles mais la signification physiologique de ce type d'induction n'est pas connue : on constate que, durant le choc thermique, il y a répression de la synthèse des protéines habituellement synthétisées. En fait, on observe une « séquestration » momentanée des ARN messagers durant le choc thermique.

La localisation de l'accumulation momentanée des protéines HSP a été déterminée [11]. Chez le soja, les HSP 15-18 et 69-70 Kd sont associées au noyau, aux mitochondries et aux ribosomes, les 22-24 Kd aux mitochondries et les 84-92 Kd au surnageant de la fraction ribosomale. On peut déjà déduire de ces localisations que la perméabilité membranaire — à l'eau, aux ions, aux solutions organiques — joue un rôle très important dans la translocation de ces protéines. De même, les fonctions vitales de la plante sont atteintes au niveau de la photosynthèse, de la respiration et du flux cytoplasmique. C'est surtout le photosystème II qui est atteint dans sa fonction de phosphorylation.

Chez les tissus reproducteurs, les fonctions suivantes sont touchées : viabilité des grains de pollen, transfert de ceux-ci au niveau du stigmate, de même que leur germination et l'élongation du tube pollinique ; finalement les HSP interviennent

aussi dans la capacité d'union du pollen et de l'ovocyte. Toutes ces séquences de la reproduction sont affectées par le choc thermique.

L'adaptation des plantes au choc thermique est finalement une question de dégradation métabolique : lors du choc, les gènes responsables de la synthèse des protéines HSP sont activés et permettent à la plante de surmonter le stress subi.

En ce qui concerne la tolérance à la dessiccation, des travaux très récents en ont montré quel est le mécanisme moléculaire en cause [18]. L'étude a été menée sur *Craterostigma plantaqueum Hoch*, de la famille des scrophalariacées. Chez la majorité des plantes supérieures, la tolérance à la dessiccation est strictement réservée à la semence; dans le cas de *Craterostigma plantagineum*, la résistance se situe au niveau de la plante entière que l'on a baptisée « plante résurrection ». Une banque d'ADN complémentaire (ADNc) a été construite à partir d'ARN poly(A) extraits de feuilles séchées. A partir du criblage de ces cDNA, des clones ont été obtenus qui s'hybrident exclusivement aux ARNm issus de tissus tolérants à la dessiccation. La plupart des gènes étudiés sont rapidement activés après le début de la dessiccation, les hybridations Southern ont révélé que là les gènes ne sont pas dégradés. La plupart de ces clones appartiennent à une petite famille de gènes. Deux gènes appartenant à cette famille ont été clonés et séquencés.

Les températures basses induisent aussi des changements dans les protéines, les activités enzymatiques et les structures membranaires. Contrairement au choc de chaleur dont le rôle physiologique n'est pas connu, les températures basses sont responsables de l'évolution physiologique des plantes, telle que la vernalisation ou l'acclimatation au froid. Le choc de froid induit, comme pour les températures élevées, des changements au niveau des protéines, qui sont différentes des HSP induites par la chaleur.

## **Rôle des HSP**

Si les effets des chocs thermiques ont été étudiés de manière très approfondies chez les êtres vivants [8], les rôles possibles des protéines induites restent peu connus.

Toutefois des hypothèses ont été avancées : les protéines HSP 70 et HSP 90 joueraient un rôle dans la structure et l'assemblage des protéines au sein du cytoplasme et du reticulum endoplasmique [17] ; ces protéines peuvent, d'autre part, participer au réassemblage des structures cellulaires endommagées par le choc de température. Le mécanisme d'action, la spécificité de substrat et les fonctions physiologiques précises restent à élucider. Burke *et al.* soulignent également l'incapacité des recherches à élucider quel rôle joue les protéines induites par les chocs thermiques [2]. Toutefois, ces auteurs suggèrent qu'en cas d'élévation de la température cellulaire on assisterait à une diminution de l'efficacité du système de transport membranaire des sels et ions métalliques : ce serait une action directe de la température élevée sur les pompes transmembranaires. La diminution de l'activité de ces pompes à travers la plasmalemmes et le tonoplaste pourrait résulter d'une altération de l'activité du transport ionique, par exemple du calcium ou de métaux (aluminium, fer, cuivre et cadmium). La plupart des stress, sinon tous, étudiés en conjonction avec les chocs de température affecteraient soit les gradients de concentration métallique, soit l'énergie requise pour alimenter les pompes

ioniques ou le transport des sels à travers la membrane. L'évaluation de ces ions et métaux toxiques n'aurait plus lieu, ce qui conduirait la cellule à l'intoxication. Craig, très récemment, a passé en revue les rôles essentiels de protéines 70 Kd dans la cellule [9].

Les HSP 70 induites par la chaleur font partie d'une famille de protéines hautement conservées que l'on trouve dans tout organisme examiné. Certaines de ces protéines sont essentielles pour la vie de la cellule. Des travaux récents ont montré que ces protéines HSP 70 sont associées aux mouvements des protéines dans et à travers les différents compartiments de la cellule eucaryotique.

## Applications

Comme nous le soulignons dans l'introduction, le problème de l'adaptation des plantes cultivées aux hautes températures est sérieux et difficile. Chez les céréales, mises à part l'acclimatation et l'amélioration [7] par croisements, le sélectionneur dispose de peu d'outils efficaces.

Toutefois, Chen *et al.* ont produit une étude approfondie sur l'adaptabilité des plantes cultivées (pois, pomme de terre, soja, tomate) aux chocs thermiques; dans ce même article, l'acclimatation à la chaleur de ces espèces est discutée de même que sont donnés des tests de viabilité [3]. Plus récemment, l'acquisition de la thermotolérance a été décrite chez le soja [11]; Marmioli *et al.* [3] ont étudié la synthèse protéique durant un choc de froid chez l'orge tandis que Sarhan et Perras s'intéressaient à l'accumulation de protéines à haut poids moléculaire durant la vernalisation du blé; de même, Helm *et al.* [6] ont développé une étude sur la réponse d'embryons de blé en germination. Des études sur la plante modèle *Arabidopsis thaliana* [5, 9, 23] ont montré que l'augmentation de la tolérance au froid (+ 4°C à - 7°C) pouvait être corrélée à des changements dans la répartition des protéines solubles. Des analyses *in vitro* des produits de traduction à partir d'ARN messagers isolés suggèrent que l'induction est active au niveau transcriptionnel.

D'après ce qui précède et dans l'état actuel de nos connaissances, la seule approche que nous voyons dans l'amélioration du caractère résistance aux chocs thermiques — chaleur et froid — serait l'utilisation des manipulations génétiques. C'est la démarche qu'ont choisie Marmioli et ses collaborateurs [14] en clonant les gènes induits par le stress thermique chez l'orge; le même groupe [15] a d'autre part recherché, chez l'orge, l'hérédité des protéines de biologie moléculaire appliquées à l'amélioration du caractère de résistance aux chocs de température sont encore peu étendues mais il est permis de croire que le développement rapide de ces techniques pourra apporter un début de réponse à ce problème important touchant l'agriculture.

## Références

1. Atkinson BG, Walden DB. (1985). Changes in eukaryotic gene expression in response to environmental stress. Academic Press.
2. Burke JJ, Orzech A. (1988). *Plant, cell and environment* ; 11 : 441-444.
3. Chen HH, Shen ZY, Li PH. (1982). Adaptability of crop plants to high temperature stress. *Crop Sc* ; 22 : 719-725.
4. Craig EA. (1989). Essential roles of 70 Kd a heat inductible proteins. *Bio Essays* ; 11 : 2-3 et 51-52.
5. Gilmour SJ, Hajela RK, Thomasshow MF. (1988). Cold acclimatation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Phys* ; 87 : 745-750.
6. Helm KW, Petersen NS, Abernethy RH. (1989). Heat shock response of germinating embryos of wheat. *Plant Physiol* ; 90 : 598-605.
7. Jones JR, Qualset CO. (1984). Breeding crops for environmental stress tolerance in applications of genetic engineering to crop improvement. Eds. Collins G B. and Petolino J G. Martinus Nijhoff, Junks publishers pp. 305-340.
8. Key JL, Kosuge T. (1985). Cellular and molecular biology of plant stress. Alan Liss, N.Y.
9. Kurkela S, Franck M, Heino P, Lang V, Palva ET. (1988). Cold induced gene expression in *Arabidopsis thaliana* plan Cell Reports Z. pp. 495-498.
10. Levitt J. (1980). Responses of plants to environmental stress. Academic Press, 2 vol.
11. Lin CV, Roberts JK, Key JL. (1984). Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings. *Plant Phys* ; 74 : 152-160.
12. Lindquist S, Craig EA. (1988). The heat shock proteins. *Ann Rev Genetics* ; 22 : 631-677.
13. Marmioli N, Terzi V, Odoardi Stanca M, Lorenzoni C, Stanca AM. (1986). Protein synthesis during cold shock in barley tissues. Comparison of two genotypes with winter and spring growth habit. *Teor Appl Genet* ; 73 : 190-196.
14. Marmioli N, Di Cola G, Lorenzoni C. *et al.* (1988). Cloning of cereal stress genes. A molecular approach to plant improvement for adaptation to environmental changes in cereal breeding related to intergrated cereal production. Joma M L. and Sloomaker L A J. Pudoc, Wageningen.
15. Marmioli N, Lorenzoni C, Stanca AM, Terzi V. (1989). Preliminary study of the inheritance of temperature stress proteins in barley. *Plant Science* ; 62 : 147-156.
16. Nover L. (1984). Heat shock response of eukaryotic cells. Springer, Berlin.
17. Pelham HRB. (1986). Speculations on the functions of the major heat shock and glucose — regulated proteins. *Cells* ; 46 : 959-961.
18. Piatkowski D, Schneider K, Salamini F, Bartels D. (1989). Molecular analysis of dessication tolerance in EMBO Symposium Heidelberg, 18-21 sept.
19. Ritossa F. (1962). *Experientia* ; 18 : 571-73.
20. Sachs MM, Tuan-Hua David HO (1986). Alteration of gene expression during environmental stress in plants. *Ann Rev Plant Phys* ; 37 : 363-376.
21. Schlessinger MJ, Ahshumer M, Tissières A. (1982). Heat shock from bacteria to man. cold Spring Harbor Lab., N.Y.
22. Tissières A, Mitchell HK, Tracy UM. (1974). *J Mol Biol* ; 84 : 389-98.
23. Wu CH, Caspar T, Browse J, Lindquist S, Somerville C. (1988). Characterization of an HSP 70 cognate gene family in *Arabudiosis*. *Plant Phys* ; 88 : 731-740.





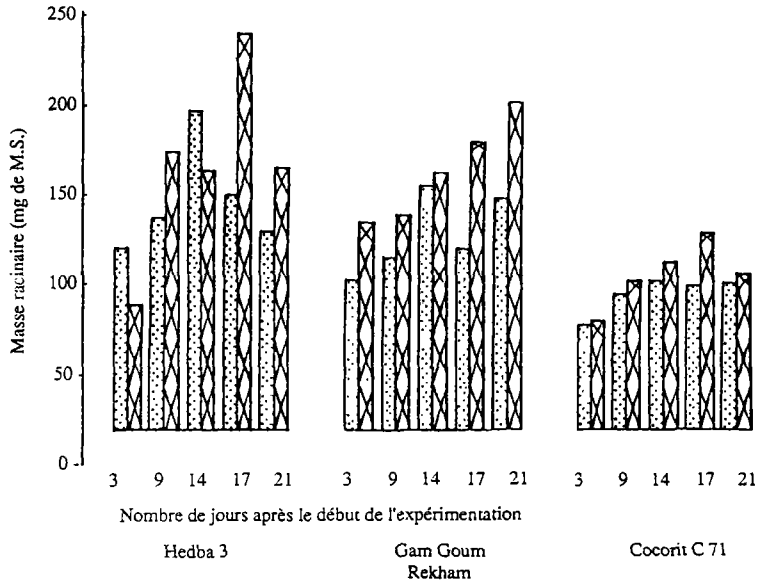
# 14

## **Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver ?**

Ph. MONNEVEUX

*École nationale supérieure agronomique, Chaire de phytotechnie, Station d'amélioration des plantes, ENSA-INRA, 2 Place Viala, 34060 Montpellier Cedex, France*

L'amélioration génétique des céréales s'est donnée pendant longtemps pour objectif primordial l'augmentation de la productivité (ou aptitude au rendement, ou rendement potentiel), mais le succès de cette stratégie d'amélioration des rendements moyens à travers une augmentation de la productivité est lié à l'existence de conditions environnementales (milieu naturel, techniques) favorables, permettant l'expression des différents facteurs du rendement. D'autre part, on sait que l'augmentation effective de la productivité a été obtenue chez les céréales, moins par une augmentation de la production de biomasse, que par une modification de l'architecture de la plante et par une augmentation de l'indice de récolte liée à la réduction de la taille des chaumes; or cette réduction de la taille des chaumes est fortement corrélée à une réduction du système racinaire, chez le blé [16], comme chez l'orge : ceci se traduit, compte tenu de la double fonction d'absorption et de « mise en réserve » de l'eau jouée par les racines, par un accroissement considérable de la sensibilité au déficit hydrique. Ce fait explique en grande partie l'échec rencontré dans les années 70 par les « variétés à haut rendement » (variétés à paille courte), dans les régions fortement marquées par le déficit hydrique (zone méditerranéenne en particulier) : la figure 1, qui montre à titre d'illustration les masses racinaires, en pots de culture, avec et sans déficit hydrique, de la variété demi-naine Cocorit C 71 et de deux lignées tirées de



**Figure 1.** Masse racinaires de 3 génotypes de blé dur : Hedba 3, Gam Goum Rekham et Cocorit C 71. □ : sol maintenu au tiers de la capacité au champ. ▨ : arrosage interrompu au 36<sup>e</sup> jour après la levée.

populations algériennes (Gam Goum Rekham et Hedba 3), permet de prendre la mesure de l'importance des caractères d'enracinement dans la tolérance au déficit hydrique.

La sélection de céréales dans des régions à forte contrainte hydrique implique donc une remise en cause des doctrines et des stratégies, s'appuyant sur une analyse des relations plante-milieu et sur une étude approfondie des mécanismes d'adaptation du végétal.

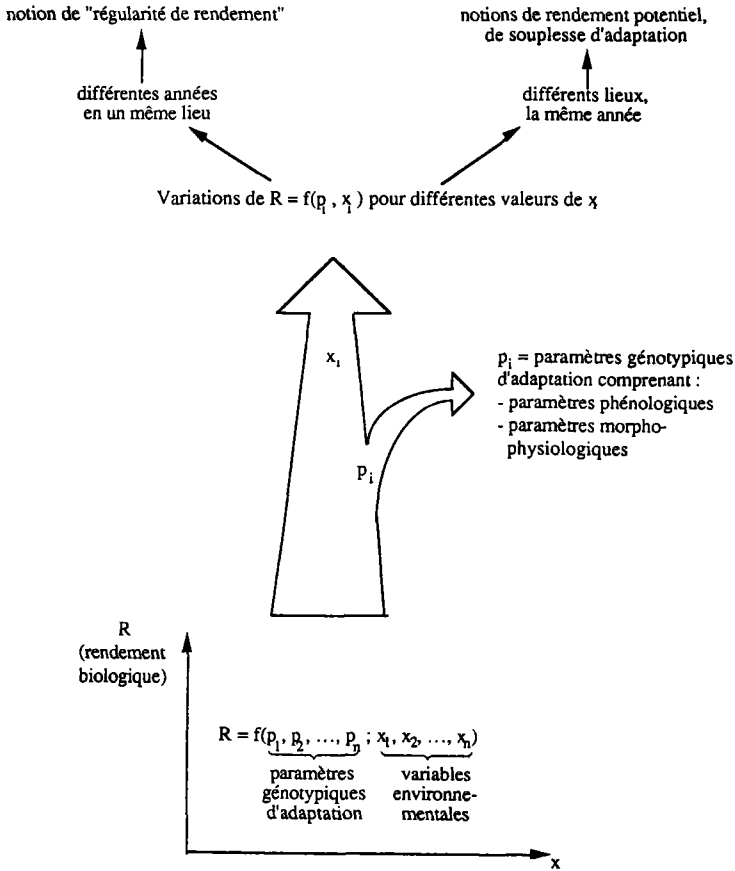
### Essai de formalisation de la question : le concept de paramètre d'adaptation

Le rendement biologique (rendement effectif au niveau de la parcelle) peut être exprimé en première analyse sous la forme d'une fonction d'adaptation du génotype à son milieu (environnement naturel + techniques appliquées), cette fonction étant caractérisée par (fig. 2) :

- des variables  $x_1, x_2, \dots, x_n$ , liées aux contraintes de l'environnement : températures, caractéristiques physico-chimiques et humidité du sol, etc.;
- des paramètres « d'adaptation »  $p_1, p_2, \dots, p_n$ , liés au génotype.

Parmi ces paramètres (Tableau I), on peut distinguer des paramètres phénologiques d'adaptation et des paramètres morphophysiologiques d'adaptation.

*Amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver*



**Figure 2.** L'analyse de la fonction d'adaptation du génotype à son milieu débouche : (1) sur l'étude des interactions génotype x milieu, et sur les notions de « régularité de rendement », de « rendement potentiel », et de « souplesse d'adaptation »; (2) sur l'étude des paramètres génotypiques d'adaptation.

Les « paramètres phénologiques d'adaptation » caractérisent le « calage » du cycle vis-à-vis des événements climatiques : en jouant sur ce type de paramètres, il est possible d'éviter la coïncidence des phases critiques du cycle avec les dates d'occurrence maximale de certains accidents climatiques (hautes températures, déficit hydrique). La prise en compte de ce type de paramètres renvoie à la notion d'« évitement » ou d'« esquive » définie par Levitt [17] : dans le cas de la contrainte hydrique par exemple, la mise en place d'une stratégie d'évitement consiste à inscrire le cycle à l'intérieur d'une période au cours de laquelle les potentiels initiaux (sol) et finaux (atmosphère) du continuum sol-plante-atmosphère sont élevés et permettent d'éviter une baisse du potentiel hydrique ( $\psi$ ) de la plante. Ceci peut être réalisé soit par la voie des techniques culturales (choix de la date de

**Tableau I.** Paramètres phénologiques et morphophysiologiques d'adaptation au déficit hydrique.

Paramètres d'adaptation		Exemples
Paramètres phénologiques		– Précocité
Paramètres morphologiques	paramètres macromorphologiques paramètres micromorphologiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>– extension du système racinaire</li> <li>– port et surface des feuilles</li> <li>– taille du chaume</li> <li>– longueur des barbes</li> <li>– enroulement des feuilles</li> <li>– densité du trichome</li> <li>– glaucescence et couleur des familles</li> <li>– présence de cires</li> <li>– densité et taille des stomates</li> <li>– compaction du mésophylle</li> <li>– épaisseur de la cuticule</li> <li>– nombre et diamètre des vaisseaux au xylème racinaire</li> </ul>
Paramètres physiologiques		<ul style="list-style-type: none"> <li>– effets stomatiques et non stomatiques du déficit hydrique sur la photosynthèse</li> <li>– réduction de la transpiration par fermeture des stomates</li> <li>– maintien d'un potentiel hydrique élevé</li> <li>– osmorégulation (accumulation d'ions minéraux, de proline, de sucres solubles)</li> </ul>

semis), soit par la voie génétique (sélection de variétés précoces), les deux voies ne présentant par ailleurs pas les mêmes avantages (Tableau II).

En conditions méditerranéennes, la sélection de céréales précoces a sans doute été jusqu'ici le moyen le plus utilisé pour lutter contre les effets de la sécheresse de fin de cycle, et ceci avec des résultats indiscutables : dans une étude sur 53 cultivars de blé, d'orge, et de triticale [11, 31] ont montré que chaque jour de précocité supplémentaire conduisait à une augmentation moyenne de rendement de 3 q.ha<sup>-1</sup>. Cette stratégie a toutefois ses limites (la nature de ces limites conduit d'ailleurs à prendre en considération l'étude des interactions entre contraintes) :

- pour exprimer son caractère précoce, le génotype doit manifester une vitesse de croissance printanière élevée, être capable de croître à basse température et être insensible à la photopériode;

*Amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver*

- la réduction de la longueur du cycle s'accompagne le plus souvent d'une augmentation de la précocité de floraison; celle-ci conduit à son tour :

- à une sensibilité accrue aux gels tardifs (fréquents en zone méditerranéenne d'altitude) : cette conséquence ressort particulièrement bien des études menées sur le blé par l'INRA et l'ITGC en Algérie [8];
- à une réduction du potentiel de production consécutive à la diminution de la matière sèche à la floraison et à la réduction du nombre de sites de remplissage [12, 31].

L'existence même de ces limites conduit à accorder une importance croissante aux paramètres morphophysiologiques d'adaptation.

— Les paramètres morphophysiologiques d'adaptation permettent de rendre compte des phénomènes de tolérance avec potentiel hydrique ( $\psi$ ) élevé, de tolérance avec faible potentiel hydrique et de résistance (ou tolérance à la déshydratation) :

- la tolérance avec potentiel hydrique élevé (ou « retard dans la déshydratation ») est liée à la réduction des pertes d'eau (régulation stomatique, adaptations micromorphologiques des tissus foliaires, enroulement des feuilles, glaucescence induisant une augmentation de la réflectance) et/ou à une augmentation des quantités d'eau consommées (importance du système racinaire, mécanismes de transfert prioritaire de l'eau vers les organes en croissance);
- la tolérance avec faible potentiel hydrique est caractérisée par une diminution du potentiel hydrique  $\psi$ , et par un maintien du potentiel de turgescence, l'ajustement du potentiel osmotique pouvant être réalisé par l'accumulation d'ions minéraux (vacuole) et de composés organiques (sucres solubles, proline);
- la résistance ou tolérance à la déshydratation est liée à une aptitude plus ou moins grande du génotype à maintenir l'intégrité de ses structures (membranes) et de ses fonctions (photosynthèse).

Au sein des paramètres (ou caractères) morphophysiologiques (Tableau II), peuvent être distingués des paramètres physiologiques et des paramètres morphologiques (micro ou macro) : cette distinction n'a qu'un intérêt classificatoire formel, compte tenu des interactions étroites existant entre ces deux types de paramètres.

Plus intéressante d'un point de vue physiologique est la distinction qui peut être faite entre :

- caractères morphophysiologiques constitutifs;
- caractères morphophysiologiques inductibles.

Dans le premier cas, on peut, en allant à l'extrême, aboutir à des adaptations de types xérophytiques (cires, cuticule épaisse, pubescence) peu intéressantes car ayant un coût important en terme de productivité; dans le cas de caractères inductibles (régulation osmotique, enroulement des feuilles), on a au contraire affaire à des mécanismes se mettant en place à titre « provisoire » pour faire face à une contrainte limitée dans le temps.

**Tableau II.** Mise en place d'une stratégie d'évitement du déficit hydrique par la voie génétique (1) ou par la voie des techniques culturales (2) : avantages attendus.

Voie	Influence sur le rendement biologique	Influence sur le rendement potentiel	Sécheresse de			Sécheresse en cours de cycle	
			Début de cycle	Fin de cycle	Faibles pluies régulières	Période d'absence de pluie	sur phase sensible
<b>(1) Voie génétique :</b>							
- Développement phénologique rapide = Précocité	+	-	+	+	0	0	0
<b>(2) Voie des techniques culturales :</b>							
- Décalage de la phase sensible dans le cycle	+	0	0	0	0	+	0

- : influence négative.  
 + : influence positive.  
 0 : sans influence.

## **Les différentes approches dans l'étude de l'adaptation à la sécheresse des céréales et la sélection de variétés tolérantes**

### **Approche empirique**

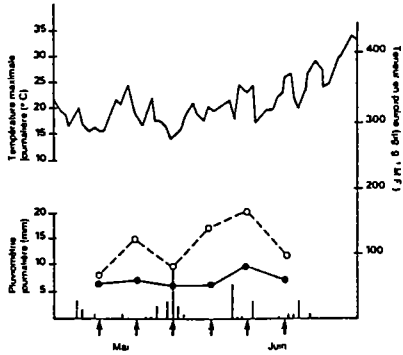
Une première approche, qui peut être appelée « approche empirique », est celle qui a été utilisée jusqu'ici par les sélectionneurs et qui a conduit, on l'a vu, à privilégier les caractères phénologiques d'adaptation et en particulier la précocité. Elle a permis des résultats substantiels, mais elle implique la mise en place d'essais multilocaux répétés comme outil principal de recherche, et l'étude des interactions génotype  $\times$  milieu comme facteur explicatif. Il s'agit d'une approche « descriptive » dans le sens où l'on s'intéresse essentiellement aux rendements obtenus dans les essais, le fonctionnement de la plante et du peuplement végétal étant considéré comme une « boîte noire » [12].

### **Approche analytique explicative**

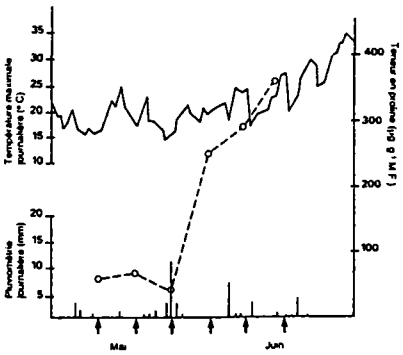
Un deuxième type d'approche, que nous qualifierons d'« approche analytique explicative », est celui qui consiste à étudier un mécanisme d'adaptation donné (lié à un paramètre morphologique ou physiologique d'adaptation). Il s'agit d'une approche « analytique » dans le sens où elle consiste à isoler le mécanisme et à l'étudier individuellement, et « explicative » dans la mesure où elle cherche à comprendre et à expliquer les phénomènes biochimiques ou biophysiques qui sont à la base des mécanismes de tolérance ou de résistance. L'objectif visé par cette approche est bien sûr de mettre au point des méthodes simples d'étude de ces mécanismes susceptibles de constituer des « tests » utilisables en sélection, et si possible de manière précoce. Cette approche s'adresse surtout aux niveaux cellule, organe et plante (même si l'intégration entre ces différents niveaux n'est pas toujours aisée...) alors que l'approche précédente s'adressait au niveau peuplement (parcelle expérimentale). Afin de bien montrer l'intérêt et les limites de l'approche analytique explicative, nous avons choisi de traiter un exemple, à savoir l'accumulation de proline, phénomène largement étudié, en particulier dans notre laboratoire.

L'accumulation rapide de proline dans les feuilles à la suite d'un déficit hydrique a été mise en évidence chez l'orge par Savitskaya [26], et chez le blé par Tyankova [32], et Vlasyuk *et al.*, [33]. En suivant l'évolution des teneurs foliaires en proline au cours du cycle, Monneveux et Nemmar [18] ont confirmé que la dynamique d'accumulation était indépendante du stade de développement et, au contraire, très étroitement liée à la pluviométrie (fig. 3). La même étude a permis de montrer (fig. 4) qu'il existait une variabilité importante pour le caractère, tant chez le blé tendre (teneurs comprises entre 150 et 280  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  MF) que chez le blé dur (teneurs comprises entre 210 et 380  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  MF).

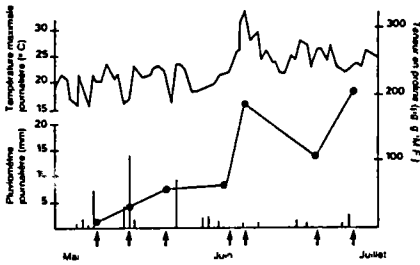
Enfin, les quantités de proline accumulées semblent pouvoir être reliées au niveau de tolérance du génotype : Protsenko *et al.* [22] observent, chez le blé, que les teneurs en arginine et en proline sont plus élevées, en cas de déficit hydrique,



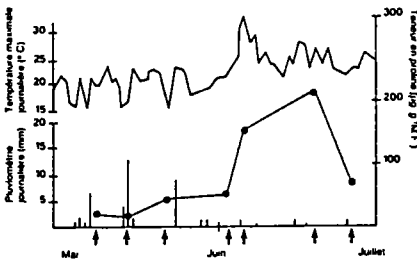
Blé tendre 1981, bread wheat 1981.



Blé dur 1981 ; durum wheat 1981.



Blé tendre 1980 ; bread wheat 1980.



Blé dur 1980 ; durum wheat 1980.

Variétés de blé tendre utilisées dans les essais  
Bread wheat varieties used in the experiments

Variétés témoins (présentes dans tous les essais) :

Bizostasia, Cheyenne, Ducat, Etoile de Chousy, Florence x Aurore, Mars Hobbitt, Lutin, Roazon, Talent, Top.

Autres variétés testées (et origine des variétés) :

1981
Alass (Syrie)
Arvand (Syrie)
Arz (Liban)
Banni (Yemen)
Capitole (France)
Hamsi (Yemen)
Haramoun (Syrie)
Inia 66 (Mexique)
Khachabi (Yemen)
Mahon Demias (Algérie)
Maris Huntsman (Gd.-Bretagne)
Mexicano (Mexique)
Odwari (Yemen)
Pumafior (Algérie)
Siete Cerros (Mexique)

Variétés de blé dur utilisées dans les essais.  
Durum wheat varieties used in the experiments.

1980	1981
Agathe (France)	Bidi 17 (Algérie)
Bidi 17 (Algérie)	Gloire de Montgolfier (Algérie)
Capeiti (Italie)	Haurani (Liban)
Cocorit (Mexique)	Inrat 69 (Tunisie)
Créso (Italie)	Mohamed Ben Bachir (Algérie)
Durtal (France)	Montpellier (Algérie)
Lakota (U.S.A.)	Polonicum x Zenati (Algérie)
Mondur (France)	
Tomclair (France)	
Valnova (Italie)	

Données climatiques (pluviométrie et températures maximales journalières) et évolution de la teneur en proline de la dernière feuille au cours du cycle de développement.

● —●—● moyenne des variétés témoins

○ —○—○ moyenne des variétés testées.

Climatic data (rainfall and maximal daily temperatures) and proline value of the last leaf during the development cycle.

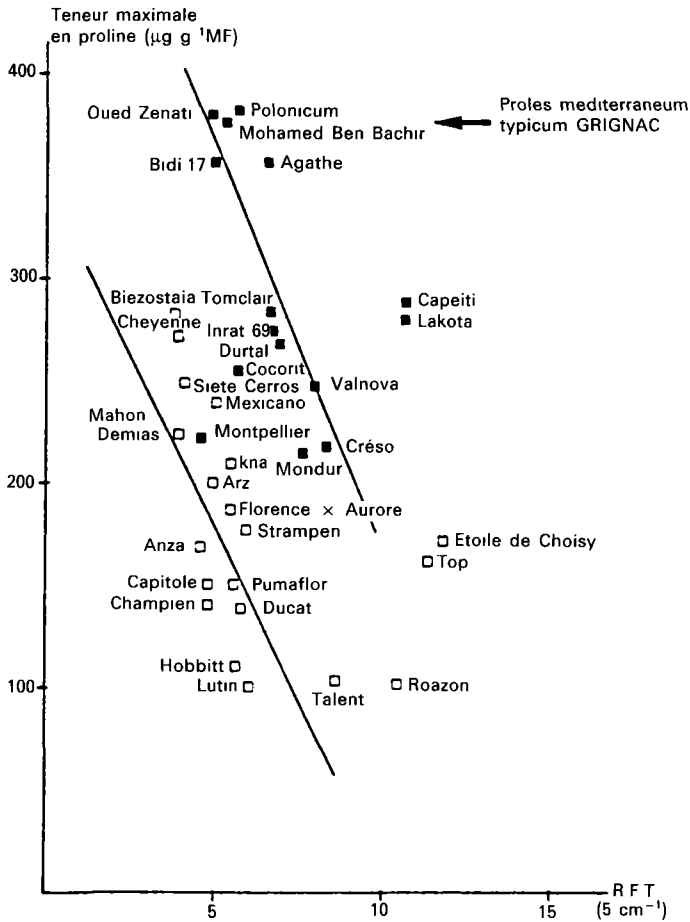
● —●—● mean value of the controls

○ —○—○ mean value of all tested varieties.

Figure 3. Cinétiques d'accumulation de la proline au cours du cycle de développement, en relation avec les variables climatiques. (d'après Monneveux et Nemmar, 1986).



*Amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver*



*Relation entre la résistance foliaire à la transpiration et la teneur en proline, lors du palier hydrique.*

*Relation between foliar resistance to transpiration and proline value.*

- Blé tendre ; bread wheat.
- Blé dur ; durum wheat.

**Figure 4.** Illustration de la variabilité du caractère « accumulation de proline » (chez le blé tendre et chez le blé dur) et de la relation entre ce caractère et la tolérance au déficit hydrique (le *proles mediterraneum typicum*, qui rassemble les blés durs d'Afrique du Nord, se distingue par sa tolérance au déficit hydrique) (d'après Monneveux et Nemmar, 1986).

chez les variétés tolérantes; Singh *et al.* [28] notent également, chez l'orge cette fois, que les accumulations de proline sont plus élevées chez les variétés tolérantes.

En résumé, l'accumulation de proline au niveau des tissus foliaires est donc un phénomène :

- lié au déficit hydrique;
- présentant, à l'intérieur d'une espèce donnée, une assez grande variabilité;
- facile à mettre en évidence, le dosage de l'acide aminé par les méthodes adaptées de Troll et Lindsley [30] étant particulièrement simple;
- apparemment lié au niveau de tolérance du génotype.

A ce titre, l'accumulation de proline chez les plantes soumises à des contraintes physiques a fait l'objet de nombreuses études et a même été préconisée par plusieurs auteurs comme test précoce de sélection pour la tolérance au déficit hydrique [27].

En réalité, le rôle de l'accumulation reste encore mal connu (s'agit-il d'un simple symptôme de souffrance — Singh *et al.* — ou d'un véritable mécanisme de tolérance [15] dont les causes peuvent être multiples [11] : stimulation de la synthèse due à un manque de rétroinhibition, inhibition de l'oxydation due à un effet mitochondrial, détérioration de la capacité de synthèse protéique, réduction du taux de translocation de l'acide aminé à travers le phloème.

Par ailleurs, de nombreuses limitations à l'utilisation du critère « accumulation de proline » comme test de sélection sont rapidement apparues :

- l'accumulation de proline n'est pas spécifique au déficit hydrique : la proline s'accumule également sous l'effet de la salinité [29], et sous l'effet des basses températures [7] et des hautes températures [19]; l'étude des relations entre tolérance à la contrainte hydrique et accumulation de proline suppose donc que soit écartée toute éventualité d'intervention d'autres contraintes provoquant également des augmentations de teneur en proline (excès thermiques, salinités);

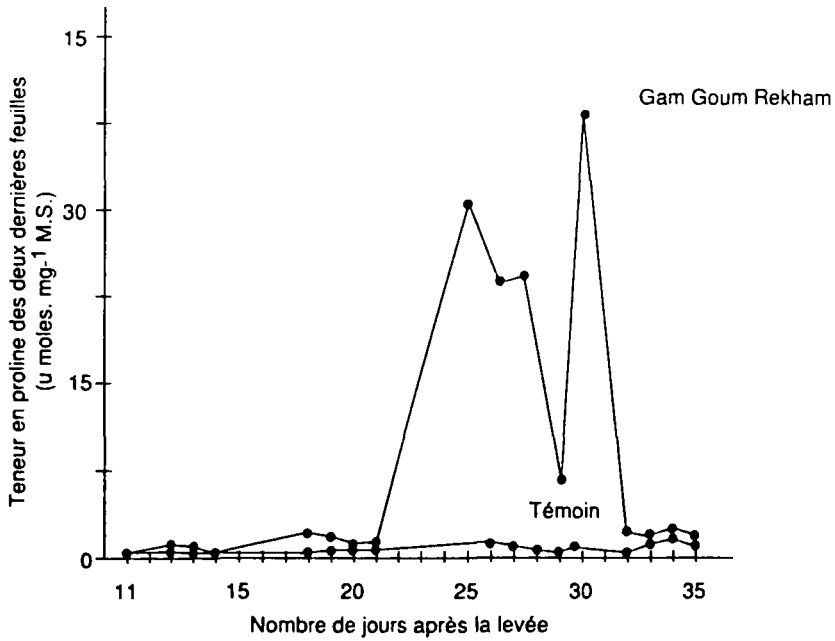
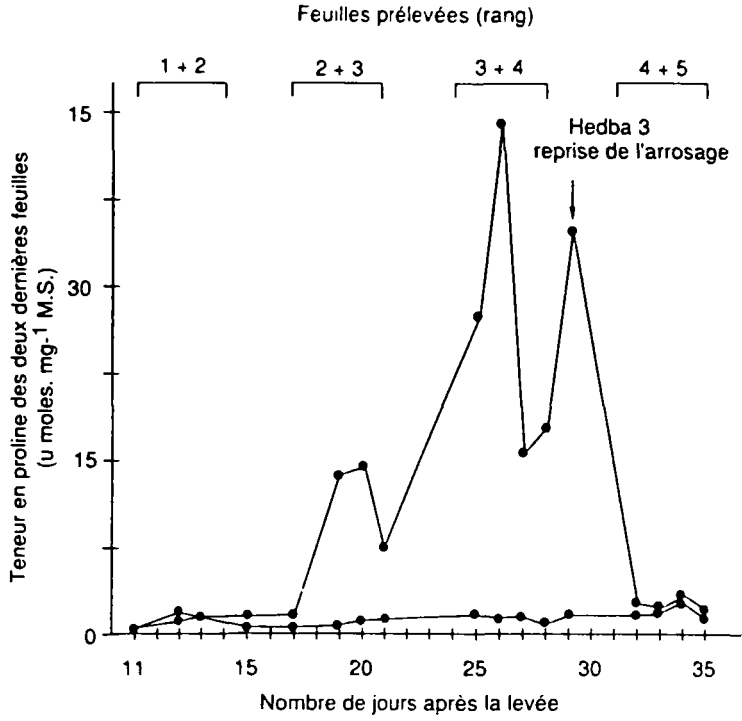
- des corrélations négatives entre quantités de proline accumulée et niveau de tolérance au déficit hydrique ont été observées, tant chez l'orge [13] que chez le blé [24] : ce fait pourrait être expliqué par une aptitude, de la part de certains génotypes, à accumuler plus rapidement (mais pas forcément en plus grandes quantités) la proline lors d'une contrainte hydrique (fig. 5), ce qui rendrait le résultat du dosage fortement dépendant du délai séparant le début de la contrainte hydrique de la date de prélèvement de l'échantillon [4]. En résumé, il n'existe donc pas de relation simple entre quantités de proline accumulées et tolérance au déficit hydrique [34];

- la variabilité du caractère « accumulation de proline », élevée à l'intérieur d'une espèce donnée ou à l'intérieur d'un échantillon de variétés très contrastées quant à leur comportement vis-à-vis du déficit hydrique, se révèle souvent trop faible lorsqu'il s'agit de comparer (et de cribler) des lignées en sélection [23].

---

**Figure 5.** Cinétique d'accumulation de la proline chez deux variétés algériennes de blé dur, tolérantes au déficit hydrique (Hedba 3 et Gam Goum Rekham). On notera les différences en ce qui concerne le délai séparant le début du déficit (7<sup>e</sup> jour) et le début de l'accumulation (17<sup>e</sup> jour pour Hedba 3, 21<sup>e</sup> jour pour Gam Goum Rekham) (*d'après Benlaribi et Monneveux, 1988*).

Amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver



Cette rapide rétrospective des travaux consacrés au mécanisme d'accumulation de proline illustre bien les limites de l'approche analytique, comme pourrait l'illustrer d'ailleurs l'étude de n'importe quel mécanisme d'adaptation au déficit hydrique. Elle montre par ailleurs le caractère illusoire d'une recherche qui se bornerait à la mise au point d'un test physiologique unique permettant de cribler des génotypes pour leur rendement sous contrainte hydrique (le Tableau III résume les conditions auxquelles aurait à répondre un tel test).

Il convient donc désormais de compléter ces travaux par des études englobant plusieurs mécanismes, et même par des études de comportement sous contrainte et de stratégie d'adaptation du génotype (Tableau IV); pour ce faire, il est nécessaire d'étendre le champ de recherche à des « fonctions larges » (exemple : absorption de l'eau, osmorégulation, transpiration, photosynthèse sous contrainte hydrique), ce qui implique des études fines d'interaction entre mécanismes : le Tableau V montre un essai de schématisation des axes et des thèmes d'une telle recherche.

Une autre voie de recherche consiste enfin à essayer de relier ces ensembles de mécanismes et de caractères au rendement biologique sous contrainte hydrique, ou à des indices de tolérance : c'est l'objectif que se fixent les démarches de type « synthétique » ou « multicaractères ».

### Approche synthétique ou multicaractères

L'approche « synthétique » ou « multicaractères » est basée sur un constat : celui de la difficulté, pour le sélectionneur, d'identifier et de caractériser le génotype à travers une observation du phénotype : la précision de cette caractérisation diminue en effet avec l'augmentation de complexité du caractère et devient donc extrêmement faible pour des caractères très complexes comme le rendement. Sur la base de ce constat, l'approche synthétique tente de définir des « combinaisons

**Tableau III.** Principales conditions auxquelles aurait à répondre un test physiologique utilisable isolément en sélection, et caractères facilitant son utilisation.

---

#### Conditions d'utilisation du test.

---

- Spécificités vis-à-vis du phénomène étudié
  - Variabilité du caractère suffisante pour discriminer des lignées en sélection
  - Corrélation étroite entre l'expression du caractère et le phénomène étudié
  - Héritabilité du caractère
  - Facilité de mise en œuvre du test (simplicité de l'observation ou de la mesure)
- 

#### Caractères du test facilitant son utilisation.

---

- Caractère non destructif de la mesure
  - Possibilité d'utilisation à un stade précoce
-

*Amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver*

**Tableau IV.** Etude du comportement, en situation de déficit hydrique, de deux variétés algériennes de blé dur ( $V_1$  = Hedba 3 et  $V_2$  = Gam Goum Rekham) (d'après Benlaribi et Monneveux, 1988).

	Nombre de jours après levée	Nombre de jours après le début des arrosages	Symptômes		Déshydratation des tissus foliaires		Accumulation de la proline		Absorption de l'eau	
			$V_1$	$V_2$	$V_1$	$V_2$	$V_1$	$V_2$	$V_1$	$V_2$
Phase d'installation du déficit	11	7								
	15	11	Flétrissement	Flétrissement	lente	rapide			Elevée	Faible
Déficit	21	17		Dessèchement	Déshydratation	Déshydratation	Accumulation	Accumulation		
Récupération	28	24							Lente	Rapide

de traits » et de sélectionner sur cette base pour maximiser la productivité et/ou améliorer la stabilité du rendement.

Les principales étapes de cette démarche, telle qu'elle est pratiquée par exemple à l'Icarda (International Center for Agricultural Research in Dry Areas, Aleppo, Syria) par Acevedo et Ceccarelli, sont résumées par le Tableau VI [2]. Chaque étape pose toutefois des problèmes particuliers qu'il convient de détailler.

***Essai de définition du milieu et de quantification de ses contraintes - essai de quantification de la tolérance aux contraintes***

La caractérisation des contraintes climatiques est rendue difficile par leur irrégularité; il est alors nécessaire de calculer des probabilités d'occurrence des événe-

**Tableau V.** Essai de schématisation d'une recherche analytique par « fonctions larges ».

Fonctions « larges »	Paramètres morphophysiques concernés	Techniques d'étude
Absorption de l'eau	- Caractères d'enracinement (volume et masse, profondeur, ramification...)	Mesures <i>in situ</i> ou en cultures aéroniques
Osmorégulation	- Mesures de $\psi$ - Mesures de potentiel osmotique - Etudes d'élasticité membranaire - Dosage d'osmoticum ( $\text{NO}_3^-$ , $\text{K}^+$ , proline, betaine, sucres solubles)	Psychrométrie Osmométrie
Transpiration	- Transpiration cuticulaire (rôle des cires, de la glaucescence) - Transpiration stomatique	Pertes d'eau, études micromorphologiques de la feuille, porométrie
Photosynthèse sous contrainte hydrique	- Effets stomatiques - Effets non stomatiques	Mesures d'échanges gazeux (Irga, Licor) Fluorescence

**Tableau VI.** Les principales étapes de la démarche « synthétique » ou « multicaractères ».

1. Essai de définition du milieu (environnement, techniques) et de quantification des contraintes; essai de quantification de la tolérance aux contraintes
2. Identification et description des traits « idéotypiques » (= paramètres morphophysiques d'adaptation) intervenant dans la tolérance au déficit hydrique et dans l'efficacité de l'eau, ces traits devant être facilement repérables ou mesurables et devant permettre un criblage facile
3. Essai de corrélation des paramètres d'adaptation avec les rendements obtenus dans des milieux à forte contrainte hydrique ou avec un index de tolérance au déficit hydrique
4. Évaluation de la variabilité de ces paramètres, à l'intérieur d'ensembles comportant un grand nombre de géotypes d'origines variées
5. Vérification de la validité du choix de ces paramètres, à travers des expériences de sélection indirecte multiparamètre et/ou de sélection divergente
6. Incorporation des paramètres dans des ensembles génétiques bien adaptés.

ments climatiques (pluies, gelées, etc.) sur la base de données climatiques de plusieurs années.

La quantification des effets des contraintes passe, quant à elle, on l'a vu plus haut, par l'évaluation de gains ou de pertes de rendements en grains. Fischer et Maureer [11], définissent un « indice de sensibilité à la sécheresse » (*Drought susceptibility index*, DSI). Blum [6] préconise, quant à lui, l'utilisation d'une analyse

*Amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver*

de la stabilité comme celle de Finlay et Wilkinson [10] ou celle de Eberhart et Russell [9] mais cet indice ne fait pas intervenir la précocité, pourtant étroitement associée, comme on l'a vu, à la notion d'évitement. Bidinger *et al.*, [5], proposent alors un « indice de résistance à la sécheresse » (*Drought resistance index*, DRI), tenant compte de l'aptitude au rendement (assimilée au rendement obtenu sur le site le plus humide) et de la précocité.

**Identification et description des « traits idéotypiques » intervenant dans la tolérance au déficit hydrique**

Il s'agit, au cours de cette étape, de repérer et de décrire les caractères morpho-physiologiques qui permettent à la plante de tolérer des déficits hydriques et de maintenir une efficacité de l'eau élevée; pour ce faire, il peut être fait appel à plusieurs modèles conceptuels :

- le modèle de Passioura [20], qui considère le rendement en grains sous contrainte hydrique comme la résultante de la transpiration, de l'efficacité de l'eau (*water use efficiency*, WUE) et de l'indice de récolte (*Harvest index*, HI);

**Tableau VII.** Paramètres liés au rendement sous contrainte hydrique en zone méditerranéenne. Cas de l'orge (*d'après Acevedo et Ceccarelli, 1988*).

Objectifs	Caractères morpho-physiologiques concernés	Outil de criblage
Maximisation de la transpiration en tant que composante de l'évapotranspiration	- couverture rapide du sol - port érigé - bonne croissance hivernale ( <i>vigueur précoce</i> )	Visuel Visuel Visuel
Maximisation de la photosynthèse sous contrainte hydrique	- efficacité de carboxylation élevée - effets non stomatiques sur la photosynthèse faible - la régulation stomatique - couleur sombre, puis claire du feuillage	IRGA (ou discrimination C-13 D) IRGA (ou discrimination C-13 D) Porométrie, ou température du couvert Visuel
Maximisation de l'indice de récolte	- translocation des assimilats vers le grain - date de floraison - phase de remplissage du grain courte	Dessiccation  Visuel Visuel

- les modèles de Passioura [21] et de Richards [25], qui font résulter le rendement sous contrainte hydrique :

- d'une capacité de la culture à extraire l'eau du sol,
- d'une aptitude à produire de la matière sèche à partir d'un apport d'eau limité,
- d'une capacité à transférer vers le grain la matière sèche synthétisée.

Ces modèles ont en particulier servi de point de départ à Acevedo [2], pour une évaluation des traits permettant le maintien du rendement en conditions sèches méditerranéennes (Tableau VII).

L'identification de ces traits peut être réalisée à travers le suivi de collections larges de variétés et de populations (les *physiology nurseries* de Acevedo et Ceccarelli [2], présentant la plus large diversité possible dans l'expression des principaux caractères agronomiques précocité, port, vigueur, hauteur, rendement,...). L'étude de ces traits permet :

- d'établir les principales différences architecturales et phénologiques entre génotypes locaux et génotypes « améliorés » (voir Tableau VIII, le cas de l'orge à 2 rangs);
- d'avoir une première idée de la variabilité des caractères;
- d'étudier, chez les génotypes locaux, les relations entre certains caractères et l'origine géographique;
- de mesurer les valeurs moyennes de certains paramètres (physiologiques en particulier) pour une espèce donnée et par la suite de comparer différentes espèces pour la valeur de ces paramètres et le comportement qui leur est associé. (Voir Tableau IX, la comparaison entre l'orge et le blé pour l'efficience de l'eau, l'évapotranspiration du couvert, et la photosynthèse nette de la feuille.)

**Tableau VIII.** Comparaison de différents paramètres phénologiques, morphologiques et physiologiques entre lignées tirées de populations locales d'orge à 2 rangs et variétés améliorées (*d'après Acevedo et Ceccarelli, 1988*).

---

Rendement élevé sous contrainte hydrique  
Indice de récolte élevé  
Poids de 1 000 grains élevé  
Epiaison précoce  
Période de remplissage du grain plus courte  
Indice de résistance à la sécheresse plus élevé  
Port dressé en hiver  
Coloration foncée des feuilles avant montaison  
Coloration claire des feuilles après montaison  
Taille courte  
Tallage herbacé élevé  
Tallage épis élevé  
Discrimination C-13 élevée  
Besoins en vernalisation moyens  
Phase levée-double ride plus longue  
Phases d'initiation de l'épi et de croissance de l'épi courtes

---

Composition de la pépinière : 14 lignées issues de populations locales syriennes, 23 variétés améliorées.



**Essai de corrélation des paramètres d'adaptation avec les rendements obtenus dans les milieux à forte contrainte ou avec un index de tolérance au déficit hydrique**

Cette étape de la recherche consiste à étudier les relations entre les valeurs des différents paramètres enregistrés et les valeurs de rendement en conditions sèches (ou les valeurs d'un index de tolérance). Le Tableau X, établi par Acevedo [3], donne par exemple la liste des paramètres corrélés significativement, chez l'orge, au DRI de Bidinger dans les conditions de Breda et Bouider (Syrie) en 1986 et 1987.

**Tableau IX.** Comparaison entre l'orge et le blé pour l'efficacité de l'eau, l'évapotranspiration du couvert et la photosynthèse nette de la feuille (*d'après Acevedo et Ceccarelli, 1988*).

	Orge	Blé	Orge/Blé
Efficiéce de l'eau (en mg MS.g <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O)	4,6	4,2	0,91
Evapotranspiration du couvert (en mg MS.g <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O)	7,6	6,3	0,82
Photosynthèse nette de la feuille (entre épiaison et anthèse) (en µmole CO <sub>2</sub> .mmol <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O)	5,6	4,3	0,77

**Tableau X.** Paramètres phénologiques et morphophysologiques corrélés à l'indice de résistance à la sécheresse (DRI, *drought resistance index*) chez l'orge à 2 rangs (sur 2 lieux et 2 années) (*d'après Acevedo et Ceccarelli, 1988*).

Type de paramètre	Trait
Phénologique	Courte période de remplissage du grain Cycle court
Morphologique	Bonne couverture du sol en hiver Port dressé en début de cycle Port horizontal de la feuille en début de cycle Taille courte Tallage herbacé élevé Tallage épis élevé
Physiologique	Biomasse aérienne élevée à l'anthèse Poids de 1 000 grains élevé Biomasse aérienne élevée à la récolte Indice de récolte élevé Discrimination C-13 élevée Coloration claire des feuilles à l'anthèse

***Evaluation de la variabilité des paramètres mesurés, à l'intérieur d'ensembles comportant un grand nombre de génotypes d'origines variées***

L'étude de la variabilité des caractères doit être menée sur un nombre suffisant de génotypes (72 dans le cas de l'étude menée sur l'orge par Acevedo et Ceccarelli, 81 dans le cas de l'étude menée actuellement sur blé dur par Acevedo et Monneveux), ce qui limite le nombre de variables étudiées et oblige à choisir parmi celles-ci les plus faciles à mesurer ou à observer. Acevedo et Ceccarelli [2] proposent une liste de ces variables (Tableau VIII), mais cette liste n'est pas exhaustive.

***Vérification de la validité du choix de ces paramètres, à travers des expériences de sélection indirecte multiparamètre et/ou de sélection divergente***

La méthode de validité de choix des paramètres la plus utilisée jusqu'à présent est sans conteste l'utilisation de lignées para-isogéniques; or cette méthode, qui relève typiquement de la démarche analytique dont il a été question plus haut, n'est que très partiellement satisfaisante : elle donne en effet des informations sur les effets d'un caractère particulier dans un corpus génétique particulier, alors que le sélectionneur s'intéresse aux effets dans des corpus génétiques très variés. La sélection divergente pour une combinaison de caractères<sup>(1)</sup> apparaît donc mieux adaptée à l'objectif recherché :

- elle permet d'évaluer le rôle de caractères individuels comme de combinaisons de caractères dans des *backgrounds* génétiques variés;
- elle donne une information sur l'héritabilité des caractères;
- elle permet de comparer l'efficacité de la sélection basée sur le rendement et celle de la sélection basée sur les caractères morphophysiologiques.

***Incorporation des paramètres dans des corpus génétiques bien adaptés***

Il s'agit là d'une étape familière au sélectionneur; une vérification ultérieure de l'impact de la sélection peut être effectuée au niveau d'essais de rendement.

## **Conclusion**

Les différentes démarches présentées ne sont évidemment pas exclusives les unes des autres. L'approche empirique sera sans doute longtemps encore utilisée en permettant des progrès en sélection, et tous les intermédiaires et compromis peuvent exister, dans le cadre d'une stratégie d'amélioration de la tolérance à la sécheresse des céréales, entre des démarches analytiques et des démarches de type plus synthétique [25], chaque type de démarche ayant son intérêt et ses limitations.

---

(1) La sélection divergente pour une combinaison de caractères consiste ici à croiser des parents différant dans l'expression des caractères retenus et à effectuer une sélection des familles  $F_3$  en conditions sèches et en conditions irriguées; l'analyse des données consiste à comparer les groupes de lignées différant pour l'expression d'1, 2, 3,..., n caractères.

La puissance explicative de l'approche analytique<sup>(2)</sup> apporte, dans un domaine aussi complexe que l'adaptation des végétaux à la sécheresse, une meilleure connaissance des mécanismes physiologiques de tolérance et de résistance; une « décompartmentation » est toutefois souhaitable, on l'a vu, si l'on veut élever cette compréhension au niveau de « fonctions larges » (absorption de l'eau, osmorégulation, transpiration, effets stomatiques et non stomatiques du déficit hydrique sur la photosynthèse) et prendre ainsi en compte les interactions entre mécanismes. L'approche analytique est enfin indispensable à toute velléité d'approche synthétique (« sans analyse, pas de synthèse... »). La principale limitation de l'approche analytique « explicative » réside en fait surtout dans la difficulté d'application directe et d'intégration des résultats attendus à la sélection; certes cette intégration peut être réalisée par la voie des « tests physiologiques », mais nous avons bien vu, à partir d'un cas particulier (celui de l'accumulation de proline), les difficultés rencontrées et finalement la faible efficacité de cette voie, compte tenu de la masse de travaux lui ayant été consacrés au cours de ces dernières années.

Très efficace lorsqu'il s'agit de comprendre et d'expliquer les mécanismes, l'approche analytique se révèle en définitive inadaptée lorsqu'il s'agit d'aborder la nécessaire interconnexion entre physiologie et génétique des caractères d'adaptation.

La démarche synthétique ou multicaractères apparaît en revanche tout à fait capable d'assurer aujourd'hui la liaison entre caractérisation du génotype d'une part, et observation du phénotype et mesure du rendement d'autre part; à ce titre, elle semble donc à même de garantir l'intégration des études physiologiques à la sélection. Les liaisons qu'elle établit entre caractères et rendement (ou indices de tolérance) sont toutefois de nature plus statistique que fonctionnelle, et cette approche laisse dans la compréhension du comportement global des génotypes de vastes « zones d'ombres », qui sont autant de champs auxquels doit désormais s'appliquer la vocation explicative de l'approche analytique.

En résumé, nous pourrions dire de ces démarches, en paraphrasant l'historien et philosophe Pan Kou, que « s'opposant l'une l'autre, elles se complètent donc l'une l'autre » (fig. 6). Réaliser la synthèse de ces différentes démarches est certes un ambitieux projet (qui implique que s'étendent les réseaux de collaboration pluridisciplinaires déjà existants), mais cette ambition doit être à la hauteur du défi que constitue aujourd'hui l'amélioration de la production végétale (et céréalière en particulier) en conditions sèches.

---

(2) Voir la réponse de Laplace à un député de la Convention (le 20 janvier 1795) : « Nous ne pouvons nous élever aux vérités générales que par la comparaison des résultats particuliers qu'il faut considérer longtemps et varier d'un grand nombre de manières, pour saisir ce que ces résultats ont de commun entre eux, et pour en faire éclore ces grandes théories qui changent la face des sciences et font époque dans l'histoire. Cette méthode se nomme analyse : l'esprit humain lui doit tout ce qu'il sait avec précision sur la nature des choses. »

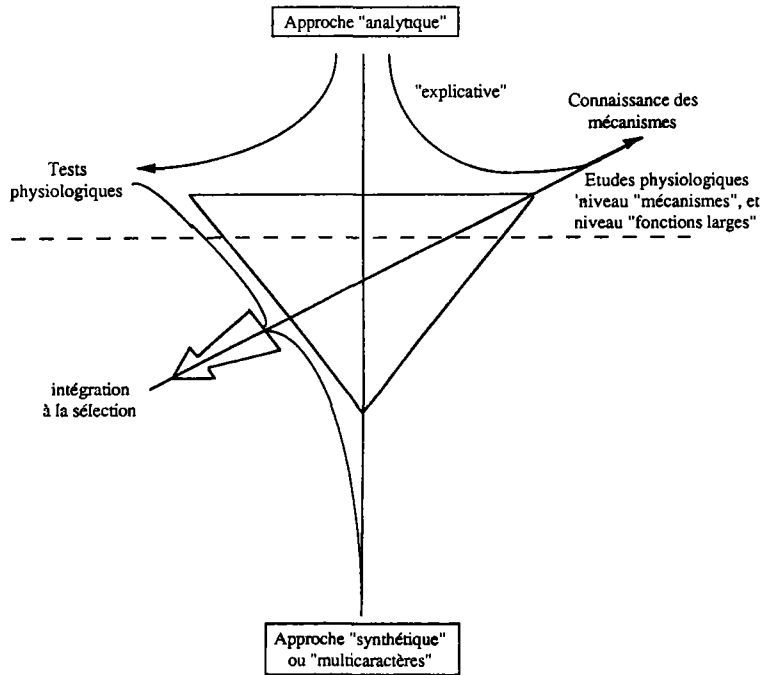


Figure 6. Place des différentes démarches dans une stratégie globale d'amélioration génétique des céréales pour leur adaptation aux contraintes du milieu.

## Références

1. Acevedo E. (1987). Assessing crop and plant attributes for cereal improvement in water-limited Mediterranean environments. In : *Drought tolerance in Winter cereals*. John Wiley Ed. New York, pp. 303-320.
2. Acevedo E, Ceccarelli S. (1987). Role of Physiologist-Breeder in a Breeding Program for drought resistance conditions. ICARDA, 19 p.
3. Acevedo E. (1988). Morphophysiological traits of adaptation of cereals to Mediterranean environment. In : *Proceeding of the International Symposium on Improving Winter Cereals under temperature and salinity stresses*, Cordoba (Spain), 26-29 oct. 1988.
4. Benlaribi M, Monneveux P. (1988). Etude comparée du comportement, en situation de déficit hydrique, de deux variétés algériennes de blé dur (*Triticum durum* DESF) adaptées à la sécheresse. *C R Acad Agric Fr* ; 74 (5) : 73-83.
5. Bidingier FR, Mahalakshmi V, Rao GDP. (1987). Assessment of drought resistance in Pearl Millet (*Pennisetum americanum* Leeke). II. Estimation of genotype response to stress. *Aust J Agric Res* ; 38 : 49-59.
6. Blum A. (1982). Evidence for genetic variability in drought resistance and its implications for plant breeding. In : *Drought resistance in crops with emphasis in rice*, IRRRI Philippines, pp. 53-68.

*Amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver*

7. Chu TM, Jusaitis M, Aspinall D, Paleg LG. (1978). Accumulation of free proline at low temperatures. *Physiol Plant* ; 43 : 254-260.
8. Conesa AP, Bouchier A, Gaid M, Monneveux P, Mouret JC, Ould Said H. (1989). Etude intégrée de l'agrosystème blé dur. Identification des facteurs de variabilité du rendement (1987-1988). Projet de Recherche-Développement sur l'intensification des céréales, légumes secs, fourrages dans la Wilaya de Sidi-bel-Abbès. INRA-ITGC, 99 p.
9. Eberhart SA, Russell WA. (1966). Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science* ; 6 : 36-40.
10. Finlay KW, Wilkinson GN. (1963). Analysis of adaptation in a plant-breeding program. *Aust J Agric Res*, 14; (6) : 742-754.
11. Fischer RA, Maurer R. (1978). Drought resistance in Spring wheat cultivars. I. Grain yield response. *Aust J Agric Res* ; 29 : 897-912.
12. Fischer RA. (1981). Optimizing the use of water and nitrogen through breeding of crops. *Plant and soil* ; 58 : 249-278.
13. Hanson AD, Nelsen CE, Everson EH. (1977). Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two barley cultivars. *Crop Sci* ; 17 : 720-6.
14. Hanson AD, Hitz WD. (1982). Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Ann Rev Plant Physiol* ; 33 : 163-203.
15. Hubac C, Guerrier D. (1972). Etude de la composition en acides aminés de deux Carex : le *Carex stenophylla* Wahl., très résistant à la sécheresse, et le *Carex setifolia* Godion, peu résistant. Effet d'un apport de proline exogène. *Ecol Plant* ; 7 (2) : 147-155.
16. Hurd EA. (1974). Phenotype and drought tolerance in wheat. *Agric Meteorol* ; 14 : 39-55.
17. Levitt J. (1972). Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York.
18. Monneveux P, Nemmar M. (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* DESF.) : étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie* ; 6 (6) : 583-590.
19. Paleg LG, Douglas TJ, Van Dall A, Keech DB. (1981). Proline, betaine and other organic solutes protect enzymes against heat inactivation. *Aust J Plant Physiol* ; 8 : 107-114.
20. Passioura JB. (1977). Grain yield, harvest index and water use of wheat. *J Aust Inst Agric Sci* ; 43 : 117-120.
21. Passioura JB. (1986). Resistance to drought and salinity : avenues for improvement. *Aust J Plant Physiol*; 13 : 191-201.
22. Protsenko DC, Shmat'koi G, Rubanyuk EA. (1968). Drought hardness of winter wheat varieties as related to their amino acid composition. *Fiziol Rast* ; 15 : 680-7.
23. Quarrie SA. (1980). Genotypic differences in leaf water potential, abscisic acid and proline concentrations in spring wheat during drought stress. *Ann Bot* ; 46 : 383-394.
24. Rao AS, Nainawatee HS. (1980). Water-stress associated proline accumulation in wheat seedlings. *Haryana Agric Univ J Res* ; 10 : 365-8.
25. Richards RA. (1982). Breeding and selecting for drought resistance in wheat. In : Drought resistance in Crops with Emphasis in Rice, IRRI Philippines, 303-316.
26. Savitskaya NN. (1967). Problem of accumulation of free proline in barley plant under conditions of soil water deficiency. *Fiziol Rast* ; 14 : 737-739.
27. Singh TN, Aspinall D, Paleg LG. (1972). Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley : a potential metabolic measure of drought resistance. *Nature* ; 236 : 188-9.

28. Singh TN, Paleg LG, Aspinall D. (1973). Stress metabolism. I : Nitrogen metabolism and growth in barley plant during water stress. *Aust J Biol Sci* ; 26 : 45-56.
29. Stewart GR, Lahrer F. (1980). Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In : The biochemistry of plants, vol. 5 : Amino acids and derivatives, Miñin ed., Academic Press, 609-635.
30. Troll W, Lindsley J. (1955). A photometric method for the determination of proline. *J. Biol Chem* ; 215 : 655-660.
31. Turner NC. (1986). Crop water deficits : a decade of progress. *Adv Agron* ; 39 : 1-51.
32. Tyankova LA. (1967). Effects of I.A.A. and 2,4-D on free and bound amino acids in wheat plant recovering after brief drought treatments. *Field Crop Abstr.* ; 1531 (20) : 3.
33. Vlasyuk PA, Shmat'koi G, Rubanyuk EA. (1968). Role of the trace elements zinc and boron in amino acid metabolism and drought resistance of winter wheat. *Fiziol Rast* ; 15 : 281-287.
34. Zagdanska B, Neumann M. (1984). Amino acid changes in drought-affected spring wheat. Bull. of the Polish Academy of Sciences, *Biological Sciences* ; 32 (5-6) : 229-235.

# 15

## **Méthodologie de sélection par utilisation de la valeur en lignée et la production d'haploïdes doublés chez le piment**

H. HARZALLAH, N. CHALBI

*Laboratoire de génétique et biométrie, Faculté des Sciences, campus universitaire, 1060 Tunis, Tunisie*

### **Résumé**

**Le piment est parmi les espèces maraîchères les plus cultivées en Tunisie et sa culture présente un certain nombre de problèmes. Nous avons donc essayé d'appliquer une méthode de sélection qui permettrait d'obtenir, en un très petit nombre de générations, des variétés fixées.**

**Nous avons introduit l'haplodiploïdisation après une première sélection par le prédicteur de la valeur en lignée. Cet estimateur nous a permis de quantifier les effets d'épistasie au niveau, de certains caractères.**

**Les lignées haploïdes doublées obtenues présentent des performances en concordance avec les précisions énoncées.**

### **Introduction**

Parmi les plantes adaptées aux conditions des milieux arides, caractéristiques de la Tunisie, le piment (*Capsicum annuum* L.) constitue une des espèces maraîchères des plus cultivées et des plus consommées.

En effet la superficie totale cultivée est d'environ 13 000 hectares dont 495 seulement sont protégés par les tunnels en plastiques. C'est dire que la majeure partie des cultures est confrontée avec des conditions climatiques difficiles et nécessite un appoint d'eau, la plante étant essentiellement cultivée en été, saison sèche. La production annuelle est d'environ 12 000 tonnes. Cette production est marquée par une certaine irrégularité dont divers facteurs sont à l'origine, telles les maladies virales et cryptogamiques, les effets du milieu et les possibilités offertes par l'irrigation.

La nouaison dépend essentiellement de la température, les hautes températures sont défavorables et entraînent l'avortement des fleurs [10], elles diminuent également la germination du pollen. Une période sèche avant la nouaison favorise la précocité mais est nuisible au rendement total.

Le piment est plus sensible aux effets de la température que la tomate. La croissance de la plante est optimale à 24°C. Les grands écarts entre les températures diurnes et nocturnes font qu'une coloration noire apparaisse sur les fruits.

Cependant les variétés à petits fruits résistent mieux à la chaleur.

Le piment est assez sensible à la salinité, facteur limitant du rendement. Le piment poussant sur des sols salins ou irrigués avec de l'eau saumâtre, reste nain et à petits fruits [13]. Sur des sols salins, les plantes sont également plus sensibles à la nécrose apicale. Cette maladie physiologique est causée également par des irrégularités dans le régime de l'eau. Les contraintes hydriques et les températures élevées favorisent l'apparition de maladies cryptogamiques tel l'oïdium (*Leveillula Taurica*).

Les objectifs d'un travail de sélection sur le piment sont donc nombreux, ils concernent la résistance aux maladies, l'adaptation aux contraintes climatiques des régions de culture, la qualité des fruits produits, la résistance à la salinité et à la sécheresse.

Il était nécessaire de faire un choix parmi les méthodes de sélection des plantes autogames, dans le but d'arriver rapidement, à la création de nouvelles variétés possédant des caractéristiques intéressantes. Comme on le sait, la méthode de sélection classique des plantes autogames consiste à faire des hybridations entre cultivars et les descendances sont suivies en sélection généalogique.

Pour réaliser un compromis entre l'amélioration à long terme et la création de variétés à court terme, on a préconisé pour diverses plantes l'utilisation de l'haplodiploïdisation [2, 3].

La production de plantes haploïdes viables et après dédoublement de leur stock chromosomique permet d'obtenir des génotypes homozygotes en une seule génération. L'intérêt d'une telle méthodologie est dans la réduction du temps de pratique de la sélection. Cependant une telle méthodologie présente malgré son apport important, des inconvénients. L'un des inconvénients majeur réside dans la faible fréquence des génotypes haploïdes obtenus à partir de la formation d'embryons. Il en résulte une diminution de la variance génétique et réduit le champ de la sélection ultérieure, surtout quand il s'agit de caractères quantitatifs donc à contrôle polygénique.

Pour éviter ce risque, on a considéré qu'il serait tout indiqué d'orienter dès le départ la sélection par le choix des meilleurs géniteurs à haploïdiser en appliquant la stratégie de création variétale proposée par Gallais [3].



### *Méthodologie de sélection et production d'haploïdes doublés chez le piment*

La valeur en lignée est définie comme l'aptitude d'un génotype à donner de bonnes lignées. Elle peut se mesurer, par la moyenne de toutes les lignées que peut donner ce génotype et peut être évaluée par la quantité  $L_{F_1}$  donnée par :

$$L_{F_1} = (2F_2 - F_1)$$

où  $F_2$  = performance moyenne des plantes  $F_2$

$F_1$  = valeur de la  $F_1$

Lorsque les génotypes étudiés sont constitués par des  $F_1$ , il est possible, si on veut exploiter cette série de croisements dans le but d'obtenir le maximum de transgressions favorables, de faire d'abord un premier tri avec le prédicteur ( $L_{F_1}$ ) de la valeur moyenne en lignées, sans épistasie ou seulement épistasie (additive  $\times$  additive) et par la suite faire une haplodiploïdisation des meilleurs génotypes.

Pochard et Dumas de Vaulx avaient proposé un schéma de sélection comparable pour le piment, par passage à l'état monoploïde en troisième génération [8].

Pour des caractères peu affectés par le milieu, l'HD permettra d'obtenir plus rapidement les génotypes recherchés et ceci n'a de sens que si le nombre de loci est faible.

La présentation des résultats suivants constitue donc une mise au point sur une méthodologie de sélection, éprouvée sur un certain nombre de caractères et que nous pensons élargir à d'autres solanacées. Elle pourrait servir pour la sélection rapide d'aptitudes relatives au stress hydrique par exemple.

## **Matériel et méthodes**

### **Variétés de piment utilisées**

Baklouti (Bak) : piment de Bekalta (Tunisie).

Dhirat (Dhi) : sélection INRAT, Tunisie.

Nabeul II (Nab) : Cap Bon (Tunisie).

SM477 : *Capsicum annum var fasciculatum* inflorescence fasciculée (fa) et petits fruits dressés (up). Résistant au PVY et au CMV.

Jalapeno Rayado (Jal) : origine mexicaine, fruits abondants et coniques.

### **Les plantes mères**

Celles-ci utilisées pour le prélèvement des anthères, constituent la descendance  $F_2$  de croisements diallèles entre ces variétés.

### **Le stade de prélèvement des boutons floraux**

Ce stade correspond à la phase qui succède immédiatement à la première mitose pollénique. Phénotypiquement ce stade est repérable par une équivalence de la longueur des pétales et des sépales ( $P = S$ ).

### Milieux de culture [1]

La mise en culture est faite sur un milieu contenant du 2 — 4 D ( $10^{-8}$  g/ml) et de la Kinétine ( $10^{-8}$ g/l), coulé en boîtes de pétri de 6 cm de diamètre. Les boîtes sont gardées à l'étuve à 35°C pendant 8 jours, puis placées sous lumière avec une photopériode de 12 heures et une température de 25°C. Après 12 jours les anthères sont systématiquement transférées sur un milieu sans 2 — 4 D et avec  $10^{-7}$  g/ml de kinétine.

Les premiers embryons commencent à apparaître dans les fentes à déhiscence des anthères après 25 à 30 jours de culture.

Les plantes obtenues sont soit haploïdes, soit diploïdes, le comptage chromosomique est fait sur les racines des plantes jeunes, en pleine croissance. Sur les plantes haploïdes, on réalise le dédoublement chromosomique avec une solution de colchicine à 5 ‰.

### Résultats

La quantité  $L_{F_1} = (2F_2 - F_1)$  a été estimée pour différents caractères concernant le fruit du piment.

Les mesures ont été prises sur les plantes cultivées dans un même essai (bloc complet randomisé).

Pour classer les différentes valeurs  $L_{F_1}$  et rechercher les caractères les plus discriminants, nous avons utilisé l'analyse canonique discriminante [11]. On a considéré les six caractères portés sur le Tableau II soit : la précocité, le poids du fruit, la longueur du fruit, la largeur du fruit, le rapport longueur/largeur et l'épaisseur de la chair; pour lesquels on a établi les matrices suivantes :

- V : matrice de variance — covariance totale
- B : matrice de variance — covariance inter-génotype
- W : matrice de variance — covariance intra-génotype.

**Tableau I.** Estimation des quantités  $(2F_2 - F_1)$  pour chacun des caractères.

	Pré $\sqrt{x}$	P F log	L F log	I F cm	E <sub>p</sub> F $\sqrt{x}$
Bak × Dhi	4,3	1,3	0,99	2,74	1,52
SM 477 × Dhi	5	1,2	0,95	2,1	1,33
SM 477 × Bak	5,1	1,02	0,77	2,2	1,35
Jal × Dhi	5,2	1,12	0,85	2,37	1,69
Jal × Bak	4,8	1,145	0,87	2,1	1,66
Jal × SM 477	5,26	0,88	0,60	2	1,51
Jal × Nab II	6,61	0,89	0,79	1,85	1,42
SM 477 × Nab II	3,047	1,14	0,8	2,1	1,8

- Pré : Précocité en  $\sqrt{x}$
- PF : Poids du fruit en log
- LF : Longueur du fruit en log
- IF : Largeur du fruit en cm
- Ep : Epaisseur du péricarpe en  $\sqrt{x}$

*Méthodologie de sélection et production d'haploïdes doublés chez le piment*

On extrait la corrélation multiple  $r$  qui représente, la corrélation des anciennes variables avec les composantes canoniques.  $r = \varepsilon_i$

$$\varepsilon_i = i^{\text{ème}} \text{ valeur propre de la matrice } V^{-1} B$$

$$\lambda_i = i^{\text{ème}} \text{ valeur propre de la matrice } W^{-1} B$$

$$\text{et } \lambda_i = \frac{\varepsilon_i}{1 - \varepsilon_i}$$

Les deux premières composantes totalisent 81 % de l'inertie (Tableau II).

La deuxième composante est expliquée par le poids, la longueur et la largeur du fruit.

Si nous considérons la projection des moyennes des valeurs ( $2F_2 - F_1$ ) par rapport aux deux premières composantes canoniques (Tableau III) :

Nous remarquons que les croisements Bak  $\times$  Dhi, SM 477  $\times$  Dhi et SM 477  $\times$  Bak présentent les meilleurs résultats.

Nous avons également essayé de quantifier les effets d'épistasie [5], à partir de la matrice diallèle des écarts : ( $2F_2 - F_1$ ) et pour les différents caractères.

**Tableau II.** Corrélations entre les composantes canoniques et les anciens caractères.

Caractères	Can 1	Can 2
Précocité	0,75	0,59
A Poids du fruit	— 0,18	0,93
B Longueur du fruit	0,27	0,933
C Largeur du fruit	0,14	0,76
L/l	0,18	0,67
D Epaisseur de la chair	0,70	0,06
$r^2 = \varepsilon_i$	0,926	0,909
$\lambda_i$	12,59	10,025
Proportion	45 %	36 %

La première composante canonique est corrélée positivement avec la précocité et négativement avec l'épaisseur de la chair.

**Tableau III.** Moyennes des génotypes projetés sur les variables canoniques.

	Can 1	Can 2
6 Bak $\times$ Dhi	1,67	5,04
7 SM 477 $\times$ Dhi	2,24	2,3
8 SM 477 $\times$ Bak	1,42	— 0,76
9 Jal $\times$ Bak	— 1,63	0,98
10 Jal $\times$ Dhi	1,58	0,48
11 Jal $\times$ SM 477	— 1,47	— 4,77
SM 477 $\times$ Nab II	3,84	— 2,55
Jal $\times$ Nab II	— 7,27	1,32

Les résultats sont portés sur le Tableau IV : on peut remarquer que le X à 6 ddl est significatif pour tous les caractères sauf pour D = épaisseur de la chair, qui s'exprime donc sans épistasie.

Le croisement Bak × Dhi (6) ne montre ni dominance ni épistasie, il y a une additivité pour tous les caractères. Les croisements SM 477 × Bak (8) et SM 477 × Dhi (7) ont des effets de dominance et d'épistasie significatifs pour tous les caractères.

La quantification des effets d'épistasie et de dominance nous permet de décider de la stratégie à adopter en cours de sélection et de voir quels sont parmi les caractères, ceux que l'on peut chercher à améliorer et parmi les croisements ceux qui pourront nous donner de bonnes lignées.

Dans une seconde étape nous avons procédé à la mise en culture des anthères.

Trois essais ont été réalisés.

Le 1<sup>er</sup> au printemps 1986 (INRA, Montfavet France).

Le 2<sup>e</sup> en été 86 (Faculté des Sciences, Tunis).

Le 3<sup>e</sup> en automne 87 (INRA, Montfavet France).

Un 4<sup>e</sup> essai effectué en hiver de la même année n'a pas permis d'avoir des plantes haploïdes.

L'essai 1 fournit les meilleurs résultats. Dans le même essai on peut remarquer des différences selon les croisements. SM 477 × Bak donne les meilleurs résultats (Tableau V).

Il existe également, des différences dans la production d'embryons selon la plante mère (Tableau VI). Le nombre d'anthères embryogènes diffère selon les fleurs et une seule anthère peut donner beaucoup d'embryons.

Les plantes haploïdes obtenues ont été diploïdisées et nous avons comparé les haploïdes doublés aux lignées parentales. Nous avons estimé les écarts :

$$(MP - HD)$$

**Tableau IV.** Effets d'épistasie (Yfs) et de dominance (Hfs)

Carac- tères	X <sup>2</sup>		Croisements					
			6	7	8	9	10	11
A	39,37*	(1)	-0,04	0,08*	0,02	-0,39**	-0,05	0,105
	6 ddl	(2)	-0,012	0,16*	0,011	-0,045	-0,07	0,025
B	36,23*	(1)	-0,05*	0,04*	0,095**	-0,012	0,13**	0,17**
	6 ddl	(2)	-0,011	0,09*	-0,004	-0,04	0,06*	0,6*
C	122,26**	(1)	-0,04	0,18*	-0,3*	-0,02	-0,24*	0,04
	6 ddl	(2)	-0,04	0,19*	-0,35*	-0,123	-0,43*	0,04
D	11,48	(1)	-0,054	0,19*	-0,2	-0,31*	0,04*	0,18*
	6 ddl							

(1) = Hfs      (2) = Yfs

*Méthodologie de sélection et production d'haploïdes doublés chez le piment*

**Tableau V.** Production de plantes haploïdes.

F <sub>2</sub>	A	AE	E	PL	AE % A	PL % A		
Bak × Dhi	1 660	15	30	28	2,3	4,2		
	2 30	0						
	3 100	1		3			3	
SM 477 × Dhi	1 310	11	13	9	3,5	2,9		
	2 30	0						
	3 100	1	1	1				
SM 477 × Bak	1 330	12	45	42	3,6	12,7		
	2 114		10	10			8,8	8,8
	3 150			14				9,3
Jal × Dhi	1 230	0						
	2 70		3	1			1,4	
	3 150			1				
Jal × Bak	1 140	0						
	2 50		3	1			6	2
Jal × SM 477	1 190	4	7	7	2,1	3,7		
SM 477 × Nab	1 260	1	1	1				
	2 110		9	1			8,2	
Jal × Nab	1 270	1	1	1				

A = nombre d'anthers mis en culture  
 AE = nombre d'anthers embryogènes  
 E = nombre d'embryons  
 PL = nombre de plantes haploïdes

**Tableau VI.** Effet fleur et effet anthère dans la production d'embryons.

F <sub>2</sub>	A	AE	E	PL
Bak × Dhi	70	5	15	9
	50	2	3	3
	80	2	8	5
	40	2	9	8
SM 477 × Bak	20	1	2	1
	30	7	24	24
	20	1	6	6

A = Nombre d'anthers mis en culture  
 AE = Nombre d'anthers embryogènes  
 E = Nombre d'embryons  
 PL = Nombre de plantes haploïdes

**Tableau VII.** Mesure de l'écart entre la moyenne parentale et la valeur des HD : MP – HD.

F <sub>2</sub>	HD	P.F	L.F	l.F	Ep F.	Nbre F
	85	-0,210*	0,019	-0,195**	0,022	-0,6
	81	-0,215*	0,022	-0,255**	0,028	-1,13*
	826	-0,044	0,051*	-0,155*	0,077	
8	828	-0,311**	-0,177**	-0,138*	-0,42	
	76	0,249**	0,199***	0,096*	-0,017	-0,136*
7	85	0,093	0,083**	0,051	-0,035	-1,668*
	75r	-0,073*	-0,071**	0,082*	-0,153*	2,69*
	63	-0,110*	-0,027	-0,054	0,102	1,067
6	610	-0,149*	0,097*	-0,171*	0,074	1,133*

C'est la déviation exprimée par l'H.D. par rapport à la moyenne des deux parents dont il en est issu (Tableau VII). La signification de l'écart est testée par le test t de Student-Fisher.

Les écarts ne sont pas significatifs pour le caractère épaisseur de la chair, sauf pour un seul H.D.

Si on considère que (MP – HD) représente une épistasie du type (additif × additif) nous pouvons remarquer que les conclusions apportées ici coïncident avec les estimations du Prédicteur de la valeur en lignée.

## Discussion

Dans ce travail nous avons essayé d'utiliser une méthode de sélection fondée sur l'haplodiploïdisation, qui nous permet d'obtenir des lignées homozygotes fixées en un petit nombre de générations, ce qui constitue un gain considérable dans le travail du sélectionneur.

Nous avons constaté que la production de plantes haploïdes dépend de la croissance de la plante mère et qu'il existe des différences saisonnières dans la production d'embryons. Ces différences dépendent également du génotype [7, 9] et de l'hétérozygotie de la plante mère [6, 12].

Les difficultés constatées par l'obtention de plantes haploïdes et la relation qu'elle a sur le génotype de la plante, font qu'il apparait nécessaire de faire un choix préalable des génotypes à haploïdiser. L'utilisation du prédicteur nous a donc permis de prévoir les génotypes qui donneront les meilleurs résultats pour la production d'haploïdes.

Elle nous a permis de définir les caractères qui peuvent être améliorés. Tout se passe comme si dans les résultats observés il y a une bonne concordance des faits réalisés avec la prévision selon le prédicteur. Ainsi par exemple, l'épaisseur du fruit (Ep F) qui s'exprime surtout par additivité selon le prédicteur semble d'après le Tableau VII, s'exprimer également selon un schéma additif au niveau des haploïdes doublés.

### *Méthodologie de sélection et production d'haploïdes doublés chez le piment*

Les caractères qui s'expriment avec Epistasie peuvent être prévus en comparant les générations F<sub>1</sub> et F<sub>2</sub>. Les lignées haploïdes doublées obtenues étant homozygotes auront des performances différentes des parents si on considère ces mêmes caractères. L'épistasie exprimée au niveau des caractères des H.D. et du type (Additif × Additif), elle est stable quel que soit la génération d'autofécondation.

### **Références**

1. Chambonnet D. (1985). Culture d'anthères *in vitro* chez trois solanacées maraichères. Le piment (*Capsicum annum*, L.). L'aubergine (*Solanum melongena* L.). La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) et obtention de plantes haploïdes. Thèse de doctorat d'université des Sciences et Techniques du Languedoc, 85 p.
2. Choo TM. (1980). Doubled Haploïds for estimating additive Epistatic Genetic variances in self - pollinating crops. *Can J Genet cytol* ; 22 : 125-7.
3. Gallais A. (1978 d). Place de l'haploïdie dans un schéma de sélection. *Sélectionneur fr* ; 26 : 39-49.
4. Gallais A. (1979). Le concept de valeur en lignées d'un génotype et son utilisation possible en sélection. *Ann, Amélior Pl* ; 29 (1) : 22.
5. Hayman BI. (1957). Interaction, Heterosis and diallel crosses. *Genetics* ; 42 : 336-55.
6. Henry Y, De Buyser J. (1983). Androgénèse chez le blé tendre. Analyse théorique et utilisation en sélection. Thèse de doctorat d'Etat es Sciences Naturelles. Univ. Paris-Sud, Orsay 132 p.
7. Oono K. (1975). Production of haploïd plants of rice (*oryza sativa*) by anther culture and their user for breeding. *Bull Nat Inst Agr Sci* ; 26 : 139-22.
8. Pochard E, Dumas de Vaulx R. (1971). La monoploïdie chez le piment (*Capsicum annum* L.). *Z Pflanzenzüchtg* ; 65 : 23-46.
9. Powel W. (1988). Diallel analysis of Barley anther culture response. *Genome* ; 30 : 152-57.
10. Quagliotti L. (1979). Floral Biology of capsicum and *Solanum melongena*. In : *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae*. Ed Acad Press, London, pp. 399-419.
11. Rao CR. (1952). Advanced statistical methods in Biometric Research. John Wiley and Sons.
12. Raquin C. (1984). Etude de l'androgénèse chez *Petunia hybrida* (hort.) et recherche des conditions d'obtention de plantes haploïdes. Thèse de doctorat d'Etat, univ. Paris-Sud, Orsay.
13. Verlodt E. (1977). Rapport technique sur les expérimentations faites en Tunisie (1976-1977) chez la tomate et le piment. Données non publiées.





# 16

## **Analyse de l'adaptation à l'aridité de quelques ressources génétiques locales d'orge (*Hordeum vulgare* L.) comparativement à des variétés améliorées**

M. ELFALAH\*, N. CHALBI\*\*, M. EL GUAZZAH\*\*

\* *Institut national de la recherche agronomique, rue 7050, 2080 Ariana, Tunisie*

\*\* *Laboratoire de génétique et biométrie, faculté des sciences, campus universitaire, 1060 Tunis, Tunisie*

### **Résumé**

La Tunisie est caractérisée par un régime pluviométrique irrégulier combiné à d'autres stress d'ordre thermique et édaphique. L'orge, étant une céréale à paille diploïde ( $2n = 14$ ), semble plus adaptée à ce type de milieu que les blés et le triticale. Des essais de rendements conduits au cours des deux campagnes 1986-1987 et 1988-1989 dans deux stations Béja, et le Kef, ont montré que certaines orges locales, lorsque les conditions de milieu sont difficiles, avaient un comportement meilleur que des orges améliorées comme Cérés, Martin, Faîz et Rihane. Ainsi, les orges locales pourraient avoir des propriétés adaptatives exploitables dans un programme de sélection portant sur les paramètres déjà étudiés tels que le rendement en grains, le poids de mille grains, la teneur en protéines totales, l'épiaison et l'indice de récolte.

## **Introduction**

La Tunisie est caractérisée par un climat méditerranéen qui présente des irrégularités imprévisibles des pluviosités et des autres paramètres météorologiques [6]. Les grandes fluctuations climatiques d'une année à une autre, les étés chauds et secs, et les hivers souvent humides caractérisent en grande partie le climat tunisien. Dans un même site, la pluviométrie peut osciller entre 200 et 450 mm d'une année à une autre. La distribution dans le temps de cette pluviométrie est également très irrégulière. 70 à 90 % de la pluviométrie totale peuvent être enregistrés entre novembre et janvier (anonymes, 1988). A côté de la pluviométrie, les basses et hautes températures conditionnent dans une grande partie la production céréalière nationale. Dans certaines zones, le printemps peut comporter des périodes de chaleur et de sécheresse durant certaines années, ou des températures basses dans d'autres années. Les siroccos peuvent encore aggraver la situation. Ces vents à la fois chauds et secs, qui soufflent du désert, coïncident avec la floraison ou avec la période de remplissage des grains, et affectent par conséquent sérieusement le rendement.

En Tunisie, trois régions principales se distinguent. Le Nord, avec 350 à 700 mm de pluie par an, assure près de 70 % de la production céréalière et la quasi-totalité du blé tendre. Les emblavures annuelles en céréales sont de l'ordre de 700 000 à 800 000 hectares selon les années avec des rendements moyens de 12 quintaux par hectare. Le Centre est caractérisé par une pluviométrie annuelle qui oscille entre 200 et 300 mm. Le blé dur est cultivé dans les zones reconnues plus favorisées, alors que l'orge est laissée aux zones les plus sèches. Les pluies annuelles au Sud ne dépassent guère les 200 mm. L'orge est la seule céréale qui pourrait, être cultivée : Elle couvre 50 % des emblavures et ses rendements sont relativement faibles. Signalons que le blé dur et le blé tendre y sont occasionnellement cultivés (fig. 1).

La balance céréalière pose le problème très important de la sécurité alimentaire. En Tunisie, les plans quinquennaux de développement économique et social ont toujours mentionné l'autosuffisance alimentaire. Le VII<sup>e</sup> Plan prévoit en 1991 l'autosuffisance en céréales avec une production nationale moyenne de 16 millions de quintaux de céréales par an au cours du quinquennat. Entre 1970 et 1985, l'écart entre la demande et l'offre nationale est passé de 25 à 40 kg par habitant, ce qui se traduit par des importations de l'ordre de 42 % de nos besoins. La production annuelle des céréales est passée en vingt ans (1964 à 1984) d'une moyenne de 7 millions à 12 millions de quintaux, réalisant ainsi une croissance moyenne annuelle de 2,7 %. La production du blé est passée de 90 kg en 1970 à 115 kg par habitant durant le début des années 80. Malheureusement, la production nationale céréalière reste tributaire des variations climatiques. Durant les années 80, des productions annuelles records de plus de 20 millions de quintaux ont été obtenues. Durant d'autres années moins favorables, des seuils de moins de 5 millions de quintaux n'ont pu être franchis.

Dans ce contexte, des directives ont été données dans le sens de la création de variétés adaptées aux conditions marginales des zones défavorisées où le stress hydrique combiné au stress thermique et à d'autres conditions adverses de culture entravent l'augmentation de la production nationale.

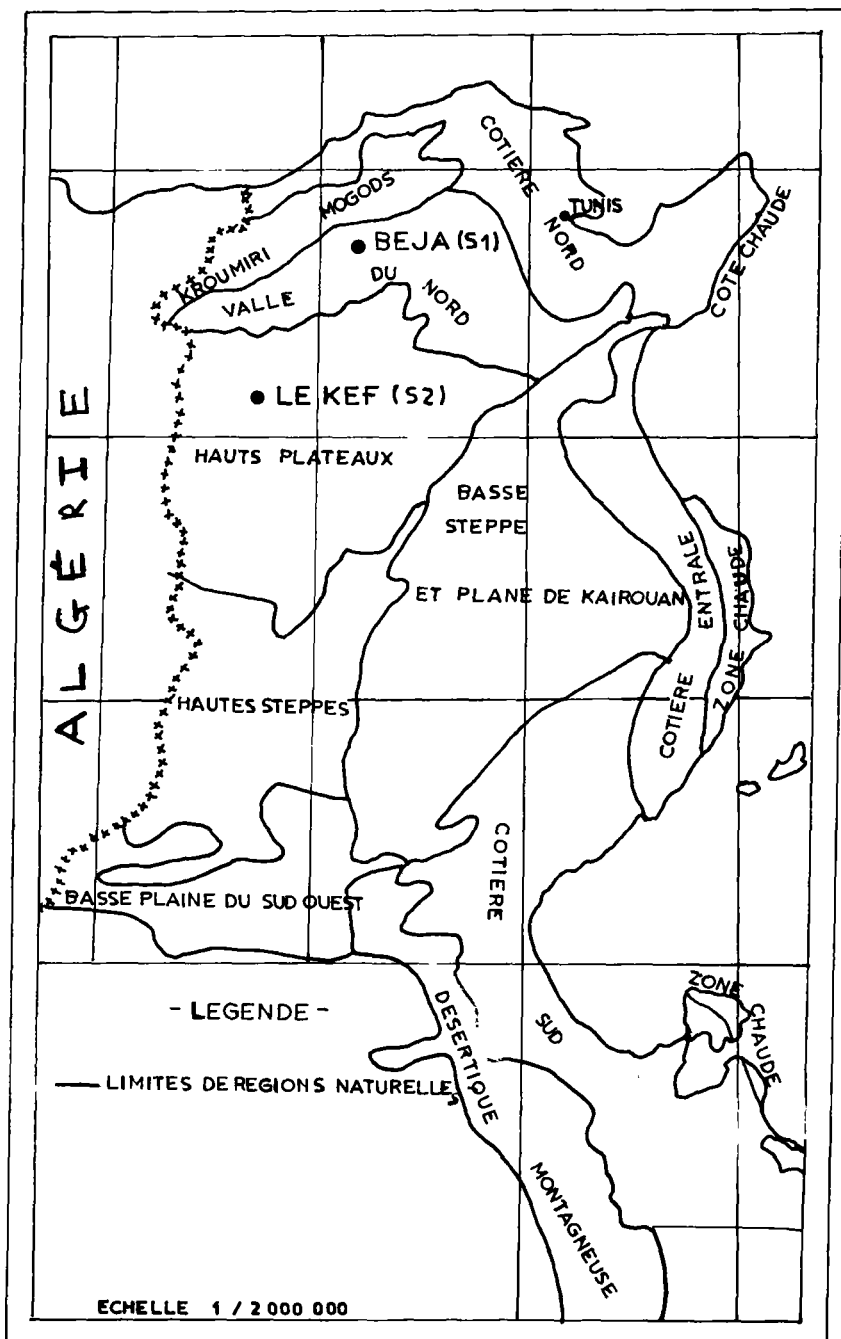


Figure 1. Carte des grandes régions naturelles.

La création de variétés adaptées demeure le souci majeur des sélectionneurs. Plusieurs méthodologies de sélection ont été adoptées dont la sélection pedigree, la sélection massale, la sélection en bulk et le bulk modifié.

En Tunisie, depuis 1930, on a inscrit plusieurs variétés de blé dur, de blé tendre et d'orge. Malheureusement jusqu'en 1980, l'orge, comparativement aux blés, a été la moins travaillée. En 1985 et 1987, on a inscrit quatre nouvelles « orges » dénommées Roho, Faïz, Tej et Rihane [5, 17]. Si jusqu'à présent les efforts de sélection ont été dirigés vers les zones favorables, aujourd'hui il faut se tourner vers les zones marginales. Le recours aux variétés locales se révèle donc nécessaire. Ces variétés locales sont le résultat de siècles sinon de millénaires de l'effet du milieu [10, 23]. Plusieurs auteurs ont mentionné l'existence d'une grande diversité génétique dans ces orges locales [8, 13, 14, 21].

## **Matériel et méthodes**

### **Matériel biologique**

Nous avons utilisé au cours de cette étude quatre variétés améliorées : Cérés, une variété d'orge à deux rangs inscrite en 1965, Martin, une variété d'orge à six rangs inscrite en 1936; et deux variétés nouvelles dont une variété à deux rangs inscrite en 1985, Faïz [5], et une variété à six rangs : Rihane [17]. A côté de ces variétés améliorées, on a choisi deux variétés populaires : CRG134 et CRG334 sélectionnées à partir de la prospection sur l'orge et les légumineuses fourragères dans les régions côtières du Centre et dans les îles de Djerba et de Kerkena. Le but de cette prospection était de collecter toutes les variétés de céréales communément cultivées en Tunisie. Cette prospection a couvert 75 sites et 99 échantillons ont été collectés. On prélève 10 épis pour chaque échantillon au hasard. La multiplication a été faite en 1983 à Mateur en épi-ligne de 1,5 m de longueur. L'évaluation a été réalisée à Béja et au Kef.

### **Milieu de culture**

#### ***Station de Béja***

Le sol est calcimorphe à caractère vertique [3]. Cette station est située dans l'étage subhumide, variante à hiver doux avec une moyenne de 600 mm de pluie par an [20]. Ce site est situé à une latitude de plus 37 degrés, et une longitude de 9 degrés, à une altitude de 165 mètres. En hiver on craint les vents dominants du nord-ouest, le sirrocco peut causer beaucoup de dégâts en fin de printemps [15].

#### ***Station du Kef***

La région du Kef repose sur une roche mère riche en calcaire avec des affleurements et des encroutements bien développés [3]. Cette station est située dans l'étage semi-aride variante à hiver frais [12]. La moyenne pluviométrique est de 350 mm par an. La gelée est fréquente au printemps. Ce site est situé à une latitude de

036 38'N, longitude de 008 50'E et une altitude de plus de 500 m. La pluviométrie des deux stations est donnée sur la figure 2.

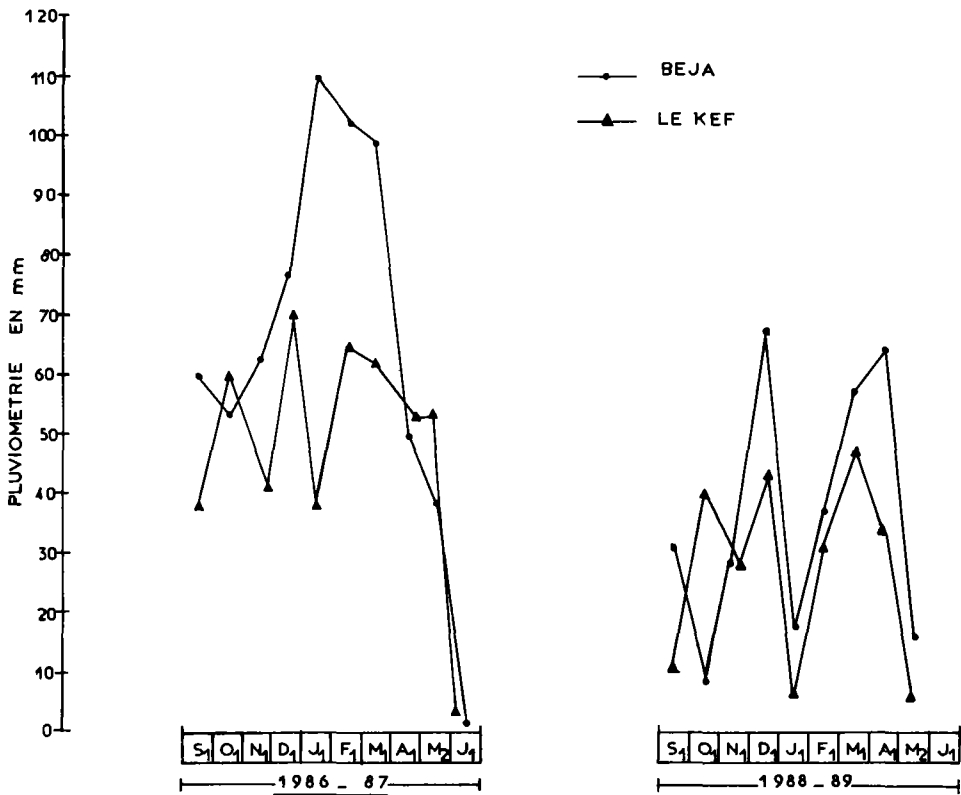
**Caractères observés**

**Le rendement en grains**

Ce caractère est la résultante de la productivité propre à chaque variété et des influences du milieu. Ce caractère a été mesuré en utilisant le dispositif en blocs randomisés. La parcelle utile est de 4,5 m<sup>2</sup>. Le nombre de blocs est quatre [4].

**Le poids de mille grains (P1000)**

Il varie avec la date de semis et la dose de fertilisation azotée [15]. Pour Rellier [18], il dépend du climat et de l'état sanitaire de la semence. D'autres ont trouvé une corrélation non significative entre ce paramètre et le rendement par plante [9].



**Figure 2.** Variations du rendement en grains suivant l'année chez l'orge dans deux stations : Béja (S1) et le Kef (S2).

### ***La précocité d'épiaison***

Elle est égale au nombre de jours à partir du 1<sup>er</sup> janvier jusqu'à 50 % de sortie des épis de la dernière feuille.

### ***La teneur en protéines totales (TPT)***

Elle a été déterminée par l'Infra-Alyser.

### ***Le nombre de grains par épis (NGPE)***

Ce facteur est fortement affecté par le manque d'eau [2]. Le nombre de grains potentiels est déterminé pendant la phase différenciation-floraison. La densité de semis affecte significativement ce paramètre [7].

### ***L'indice de récolte***

Il est égal au rapport du rendement final en grains à la matière sèche aérienne produite à maturité [22].

## **Résultats**

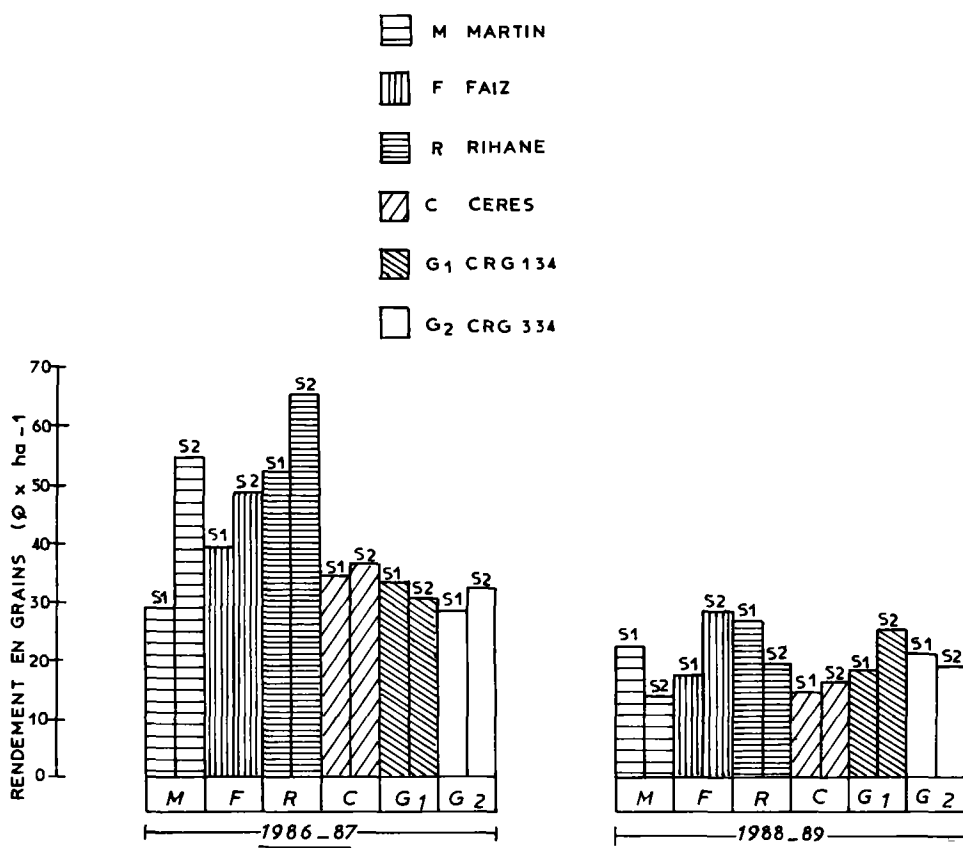
### **Le rendement en grains**

Les rendements en grains enregistrés au cours de la campagne céréalière 1986-1987 ont été, pour toutes les variétés, plus élevés que ceux de l'année 1988-1989 (fig. 3). Cela est dû essentiellement au déficit hydrique qui a prévalu au cours de la dernière campagne; surtout pendant le tallage et la période du remplissage des grains (avril et mai) (fig. 2). Les rendements de la variété Rihane ont été les plus élevés au cours de l'année 1986-1987 à Béja et au Kef (fig. 3). Les rendements des orges locales (CRG 134 et CRG 334) ont été similaires dans les deux stations au cours de l'année pluvieuse 1986-1987. Les variétés améliorées Rihane, Faïz et Martin ont donné des productions en grains élevées au Kef en 1986-1987 contrairement aux orges locales. La variété Faïz a été très productive dans les deux années au Kef. Les orges locales, bien qu'elles n'ont pas atteint le niveau de production réalisé par Rihane pendant la campagne 1986-1987, elles l'ont fait au cours de 1988-89 (fig. 3).

### **Le poids de mille grains**

Les poids de mille grains les plus élevés ont été obtenus à Béja, à l'exception de la variété Martin, en 1986-1987 (fig. 4). L'orge locale CRG 334 a le poids de mille grains le plus élevé pendant l'année sèche 1986-1987 et dans la station semi-aride du Kef pendant l'année 1988-1989.

*Analyse de l'adaptation à l'aridité de certaines variétés d'orges locales en Tunisie*



**Figure 3.** Le poids de mille grains, la précocité d'épiaison et la teneur en protéines totales des variétés d'orge Martin (M), Faiz (F), Rihane (R), Cérès (C), CRG 134 (G<sub>1</sub>) et CRG 334 (G<sub>2</sub>) au cours des campagnes céréalières 1986-1987 et 1988-1989.

**La précocité d'épiaison**

Les orges Rihane, Faiz et les orges locales épient en moyenne 10 jours avant les orges anciennes Cérès et Martin (fig. 4).

**La teneur en protéines totales**

Les variétés Martin et Cérès présentent de hautes teneurs en protéines pendant les deux années d'étude 1986-1987 et 1988-1989 au Kef (fig. 4). L'orge locale CRG 334 a donné les teneurs les plus élevées dans les deux stations en 1986-1987 (fig. 4).

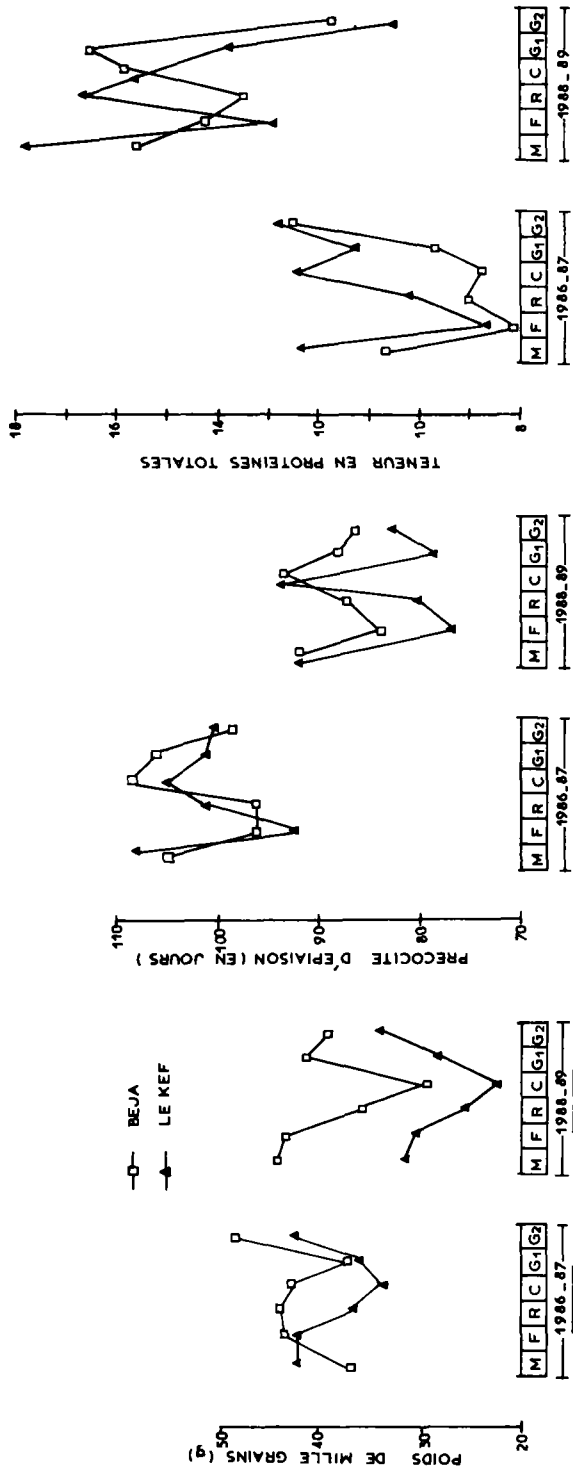


Figure 4. Le nombre de grains par épi, l'indice de récolte et le rapport tallage épi-tallage herbacé des variétés d'orge Martin (M), Faiz (F), Rihane (R), Cérès (C), CRG 134 (G1), CRG 334 (G2) au cours des campagnes céréalières 1986-1987 et 1988-1989.



### **Le nombre de grains par épi**

Il ne diffère pas significativement entre les variétés à six rangs Rihane, Martin et les orges locales en 1988-89. Durant l'année favorable 1988-89, les orges locales ont produit beaucoup plus de grains à Béja et au Kef (fig. 5).

### **L'indice de récolte**

Les orges locales CRG 134 et CRG 334 présentent les meilleurs indices de récolte au cours de l'année sèche 1988-1989 (fig. 5). Rihane et Martin ont donné des valeurs d'indice acceptables en 1986-1987. Ce qui montre l'adaptabilité des orges à six rangs aux conditions de sécheresse contrairement aux variétés à deux rangs Faïz et Cérès (fig. 5).

### **Rapport tallage épi/tallage herbacé**

Ce facteur a été plus important dans l'étage sub-humide de Béja en 1986-1987 à l'exception de Cérès (fig. 5). Les orges à six rangs Rihane, Martin et CRG 334 ont les rapports tallage les plus élevés au Kef.

## **Discussion générale**

Les résultats obtenus montrent que la variété Rihane a les meilleurs niveaux de production dans les deux étages sub-humide et semi-aride. Cette variété à six rangs, inscrite en 1987, répond beaucoup plus que les variétés à deux rangs anciennes Cérès (1965) et nouvelles Faïz (1985). Les orges locales ont donné de bons rendements en grains en années favorables en années exceptionnellement sèches. Cela montre leur spectre d'adaptation assez large [6, 11]. Les orges locales présentent les fluctuations les moins importantes du rendement en grains d'une station à une autre, contrairement aux orges améliorées Rihane, Martin et Faïz. Cela revient à la production d'un nombre de grains et d'épis suffisants surtout en conditions de manque d'eau [2].

## **Conclusion**

Les principales causes de la variation du rendement final entre variétés de la même espèce semble être associées principalement au déficit hydrique. Des orges locales remplissent mieux leurs grains en conditions favorables et en conditions de sécheresse. Les résultats trouvés montrent que le rendement est corrélé positivement avec le poids de mille grain à Béja,  $r = 0,23$  (1988-1989) et  $r = 0,25$  (1988-1989). Au Kef, on trouvait  $r = 0,29$  (1986-1987). Les valeurs trouvées pour les corrélations entre le rendement et le nombre de grains par épi sont négatives au Kef avec  $r = -0,36$  (1988-1989). Les autres valeurs  $r = -0,17$  sont rencon-

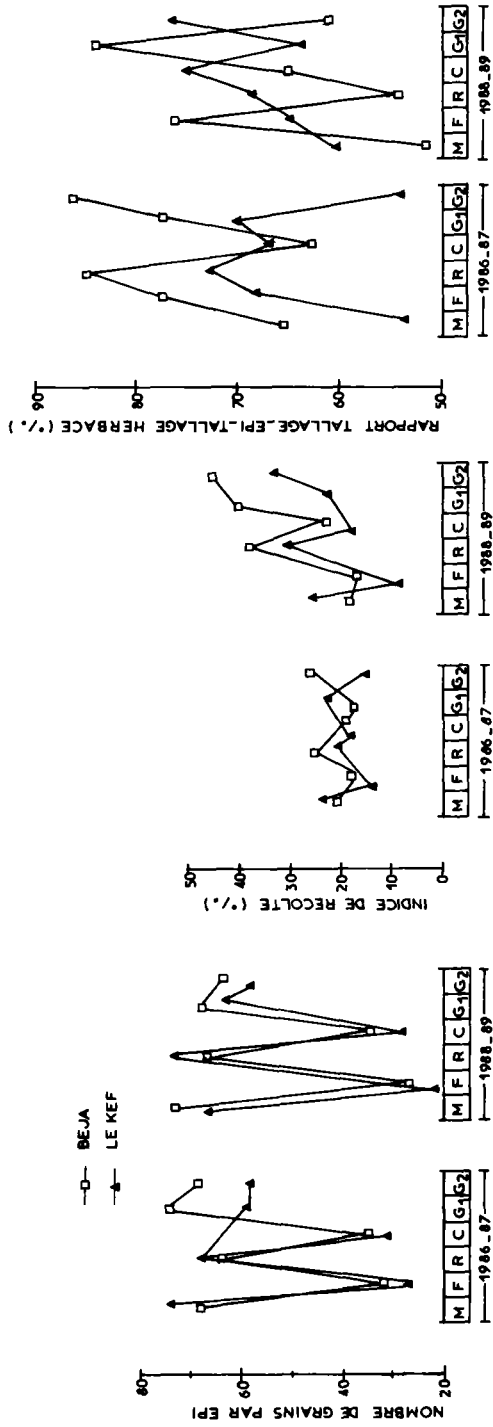
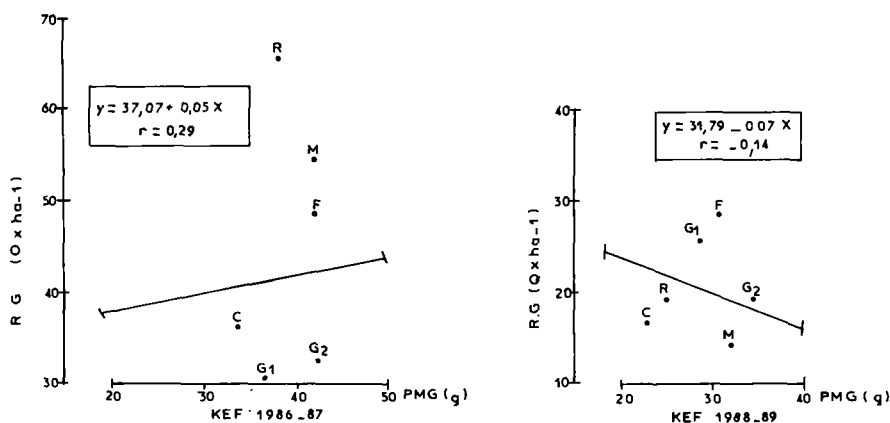


Figure 5. Le rendement en grains (RG) en relation avec le poids de mille grains (PMG).

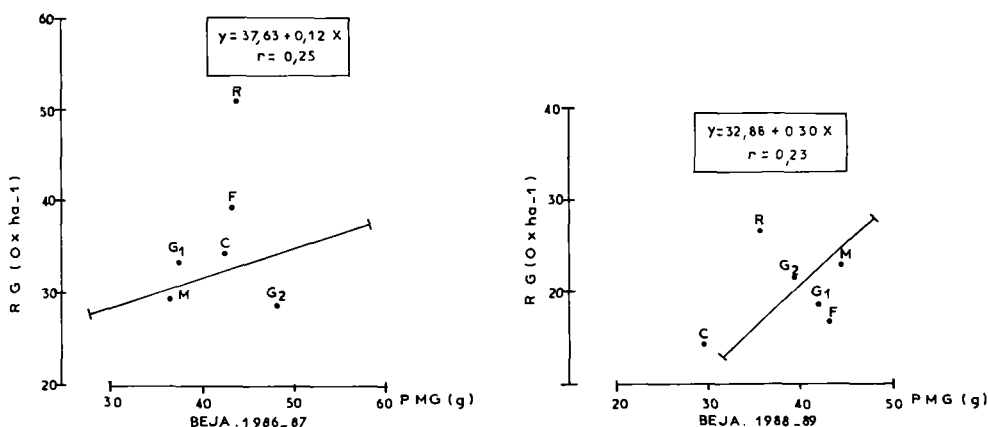
*Analyse de l'adaptation à l'aridité de certaines variétés d'orges locales en Tunisie*

trées à Béja en 1986-1987. Néanmoins, on trouvait des corrélations positives entre le rendement et le nombre de grains par épi au Kef  $r = 0,37$  (1986-1987) et à Béja  $r = 0,73$  (1988-1989). Ce qui montre la stratégie montée par les différents génotypes pour surmonter les différentes conditions difficiles qu'ils rencontrent d'un étage bioclimatique à un autre et d'une année à une autre (figures 6, 7, 8, 9). Les teneurs en protéines rencontrées chez les orges locales indiquent un gaspillage d'eau beaucoup moins important [2]. D'ailleurs, les indices de récolte beaucoup plus équilibrés chez les orges locales le confirment bien.

Cette étude nous a révélé l'existence d'un comportement diversifié entre variétés d'orge dans les climats subhumides et semi-arides de la Tunisie. Des différences de comportement ont été observées entre orges à six rangs et orges à deux rangs, entre orges améliorées et orges locales et entre orges améliorées anciennes et



**Figure 6.** Le rendement en grains (RG) en relation avec le poids de mille grains (PMG).



**Figure 7.** Le rendement en grains (RG) en relation avec le nombre de grains par épi (NGPE).

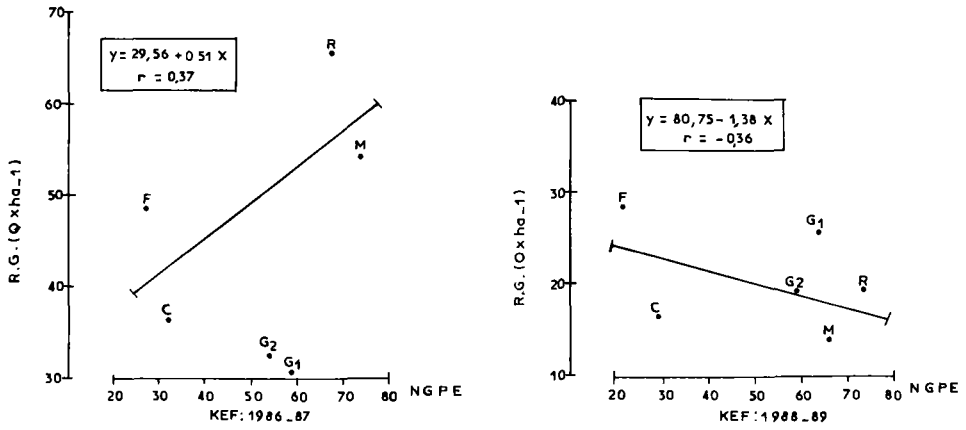


Figure 8. Le rendement en grains (RG) en relation avec le nombre de grains par épi (NGPE).

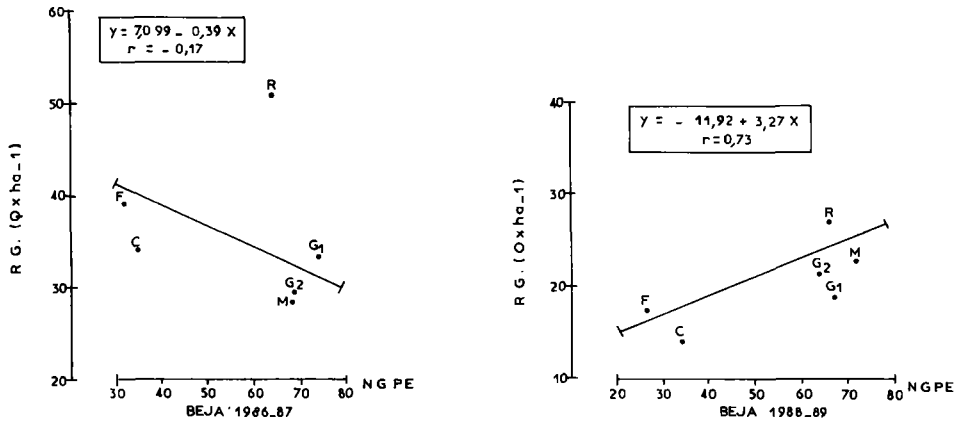


Figure 9. Le rendement en grains (RG) en relation avec le nombre de grains par épi (GPE).

nouvelles. Les orges améliorées répondent beaucoup plus à un système de culture plus intensif. En années difficiles, les orges locales semblent beaucoup plus adaptées que les orges améliorées. Cette propriété d'adaptation aux conditions de stress biotiques et abiotiques peut être utilisée dans un programme d'amélioration et de sélection; et par conséquent, cela nous permettra la préservation de nos ressources génétiques.

## Références

1. Anonymous (1988). Amélioration des céréales en Tunisie. Répondre au déficit. INRAT/ICARDA, 33 p.

*Analyse de l'adaptation à l'aridité de certaines variétés d'orges locales en Tunisie*

2. Ben Salem M. (1988). Etude comparative de la résistance à la sécheresse de quelques variétés de blé. Dr. d'Etat ès sciences. Univ. Paris 7. Centre de Jussieu, 379 p.
3. Dimanche P. (1971). Carte des roches mères des sols. Tunisie. Ministère de l'Agriculture.
4. El Felah M. (1985). Analyse comparée du comportement variétal chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.). Cas de 69 variétés. DEA de Génétique. Fac. Sc. Tunis, 80 p.
5. El Felah M, Maamouri A, Deghaes M, El Ahmed A. (1985). Three new barley cultivars for Tunisia. *Rachis* vol. 2, 64 p.
6. El Felah M, Ben Salem M. (1989). Adaptation de l'orge aux zones arides en comparaison à diverses espèces céréalières. Communication sc. présentée au Colloque : Agrométéorologie de l'orge. Tunis 6-10 mars, 1989.
7. El Haj B. (1984). Influence du contexte cultural sur le comportement écophysologique de quelques géotypes de maïs (*Zea mays* L.). Mémoire de fin d'études du cycle de spécialisation INAT, 129 pp.
8. Fekadu A, Hailu G. (1987). Barley breeding in Ethiopia. *Rachis* vol. 6, n° 2, 64 p.
9. Hsu P, Walton PD. (1970). The inheritance of morphological and agronomic characters in spring wheat. *Euphytica* 19 : 54-60.
10. Harlan JR. (1976). Genetic resources of wild relatives of crops. *Crop Sc*, 16 : 329-333.
11. Hadjichristodoulou A. (1987). Optimum values of agronomic traits in barley for dry areas. *Rachis* vol. 6, n° 2.
12. Jacquet JC. (1969). Carte bioclimatique de la Tunisie selon la classification d'Emberger. Ministère de l'agriculture de Tunisie.
13. Jana S. (1987). Conservation of barley genetic resources : Report of workshop. *Rachis* vol. 6, n° 1.
14. Jaradat AA, Jana S, Pitzak LN. (1987). Collection and evaluation of cereal genetic resources of Turkey and Jordan. *Rachis* vol. 6 n° 1.
15. Kouk M. (1983). Analyse de quelques facteurs de rendement de 5 variétés de blé dur *Triticum durum* Desf dans des conditions de culture différentes. Mémoire de 3<sup>e</sup> Cycle de l'INAT, 235 p.
16. Maamouri A, Deghaes M, El Felah M. (1983). Variétés de céréales recommandées en Tunisie. Doc. Tech. n° 87, INRAT.
17. Maamouri A, Deghaes M, El Felah M, Halila H. (1988). Les variétés de céréales recommandées en Tunisie. Doc. Tech. n° 103, INRAT.
18. Rellier JP. (1981). Analyse statistique des rendements et composantes de rendements du blé tendre d'hiver sur le dispositif avec rotation d'Auzeville; INRA France. Limites de production de blé dans différents systèmes de culture, Séminaire de Bari, Italie, 238 p.
19. Scharn LA, Schaller C, El Felah M, Srivastava J. (1986). Programme d'amélioration des céréales en Tunisie : Etude et recommandation.
20. Shoemberger A. (1971). Premiers enseignements des arboritums forestiers. Rapport technique FAO/PNUD.
21. Singh SS, Mahabalaram Singh DP. (1986). Agronomic traits contributing to drought tolerance in husk less barley. *Rachis*, vol. 5, n° 1.
22. Zarkouna MT. (1985). Etude de quelques critères de sélection pour le rendement chez le blé (*Triticum aestivum* L.) à l'aide d'un croisement dialléle entre 7 cultivars. Mémoire de 3<sup>e</sup> Cycle de l'INAT.
23. Vavilov NI. (1951). Phytogeographic bases of plant breeding : the origin, variation, immunity of breeding of cultivated plants. *Chronica botanica*, 13.



# 17

## **Vitro-variation chez des haplodiploïdes d'orge (*H. Vulgare*) issus de culture *in vitro***

M. SIBI, M. KANDIL

*ENSAIA, 2, avenue de la Forêt-de-Haye, 54500 Vandœuvre, France*

### **Résumé**

Les analyses biométriques et biochimiques des produits, de l'autofécondation d'haplodiploïdes d'orge, montrent la transmissibilité héréditaire des vitro-variations observées. Cette variation est davantage marquée par l'androgénèse que par la gynogénèse. Les dissymétries de transmission, exprimées après croisements réciproques, sont maintenues après autofécondation confirmant la malléabilité du génome déstabilisé par passage en culture *in vitro*.

L'androgénèse d'orge sera réitérée à des fins de régénération; des conditions stressantes adéquates permettront de créer une rediversification du matériel fixé de départ dans le sens de résistance à la sécheresse et à la salinité.

### **Introduction**

La vitro-variabilité exprimée au travers de la culture *in vitro* permet-elle d'envisager l'utilisation de cette technique comme moyen de création de matériel résistant aux stress de différents ordres ? Telle est la question que nous nous sommes posé dans l'élaboration, chez l'orge (*H. vulgare*), de travaux qui montrent la malléabilité du matériel végétal lorsqu'il est traité par culture *in vitro*.

Chez de nombreuses graminées la régénération de plantes entières paraît, encore actuellement, plus délicate à obtenir par culture de tissu somatique que gamétophytique. C'est donc ce dernier type de tissu qui sera essentiellement à la base des expérimentations suivantes, mais ceci à des fins plus larges que celles généralement prévues lors de la culture de gamétophytes.

L'haploïdisation chez l'orge est réalisée depuis nombre d'années, qu'il s'agisse des croisements interspécifiques *in situ* avec *H. bulbosum* [6], de l'androgenèse [2] ou de la gynogenèse *in vitro* [6].

Dans les travaux entrepris, deux phases expérimentales, se distinguent :

— la première concerne la mise en évidence de la variabilité, observée chez un matériel issu d'haplodiploïdisation *in vitro*, et l'analyse de son hérédité;

— la seconde a trait à l'établissement et à l'utilisation de techniques de culture *in vitro* permettant la création de vitro-variants résistants à la sécheresse et à la salinité.

### Mise en évidence d'une variabilité héréditaire

Les analyses biométriques d'orges haplodiploïdes menées en comparaison avec des témoins, ont été entreprises à Nancy, depuis 1984. Les études ont été poursuivies chez les croisements diallèles de l'ensemble de ces individus, puis chez les descendances issues de l'autofécondation des croisements les plus intéressants. Des travaux parallèles furent menés à Orsay, sur le même matériel. Dans le cadre de nos recherches lors du suivi des autofécondations des analyses biochimiques complètent les données morphologiques.

### Création de résistance à la sécheresse et à la salinité

La création de vitro-variants est signalée dans de multiples domaines, dont la résistance à des substances toxiques et la résistance à la sécheresse ainsi qu'à la salinité, ces deux caractéristiques étant, semble-t-il, liées.

Dans la mesure où l'ensemble des analyses antérieures biométriques ou biochimiques montrent que la culture *in vitro* de gamétophytes d'orge, et plus particulièrement l'androgenèse, amène à une déstabilisation du génome et à une plus grande malléabilité des potentialités génétiques des végétaux, on peut espérer l'obtention de vitro-variants présentant des résistances correspondant aux stress choisis.

L'introduction, dans les milieux de culture, de chlorure de sodium (NaCl), en quantités croissantes à mesure des repiquages, correspond à une intensification des conditions de stress. Les cellules qui peuvent survivre et se diviser dans de telles conditions, donneront ainsi naissance à des aires tissulaires puis à des bourgeons résistants.



## **Matériel et méthodes**

### **Mise en évidence de la variabilité**

#### *Matériel végétal*

Les autofécondations F<sub>1</sub> des haplodiploïdes et du témoin de départ nous ont été fournies par San Nørum en 1984. Le matériel est issu, soit de gynogenèse (G1, G2), soit d'androgenèse (A1, A2, A3), à partir de la variété fixée de printemps, Bérénice (T). Dans tous les essais comparatifs présentés ici, les plantes de bordure ne sont pas comptabilisées.

### **Critères observés et dispositifs expérimentaux**

#### *Autofécondations (Φ4)*

Les descendances par autofécondation (Φ4), des haplodiploïdes A1, A2, A3, G1, G2 et du témoin T de référence, sont tout d'abord comparées par analyses biométriques : longueur de la 2<sup>e</sup> feuille à 17 et 23 jours — LF2 (17), (23) — nombre de talles à 23, 38 et 54 jours — Nbt (23), (38), (54) — puis par analyses biochimiques du grain ou du malt — après détermination de la teneur en eau (TH) — : teneur en protéines totales (PT), activités α - et β - amylasiques (Act α ou β-Am).

Le dispositif expérimental est installé en plein champ (jardin botanique du Montet, printemps 1987). Il est constitué de 10 blocs contenant chacun un effectif de 5 individus par famille. L'ensemble de la parcelle comprend donc 300 individus.

Pour chaque série, la récolte en vrac des 5 × 10 blocs amène à une randomisation complète des grains. Lors des analyses biochimiques les échantillons seront prélevés dans ces lots.

Le matériel qui doit entrer dans les essais ultérieurs est récolté sous sachet par épi individuel.

#### *Croisements diallèles*

Les grains Φ5 (prélevés sur les individus de génération Φ4 des séries haplodiploïdes A1, A2, A3, G1, G2, et le témoin T, constituent les parents d'entrée du tableau diallèle.

Chaque individu qui en est issu, est désigné par les sigles de ses parents, maternel d'abord, puis paternel. Ainsi, A1 G2 est issu de la réception par le parent A1 castré, du pollen de G2.

Les analyses biométriques concernent la longueur de la 1<sup>re</sup> feuille à 15 jours après germination — LF1 (15) — de la 2<sup>e</sup> feuille à 24 jours — LF2 (24) —, de la 3<sup>e</sup> à 36 jours — LF3 (36) —, le nombre de talles à 58 et 70 jours — NbT (58) et (70) —, et la précocité d'épiaison — Pr — repérée par l'apparition des barbes de l'épi hors de la gaine.

L'essai comparatif des 6 familles d'autofécondation et des 30 séries issues des 15 couples de croisements réciproques, est constitué de 3 blocs, à raison de 2

individus par catégorie, soit un total de 216 plantes. L'ensemble est disposé en serre pendant une trentaine de jours, puis rempoté et transporté à l'extérieur (ENSAIA, essai printemps 1989).

#### ***Autofécondation des croisements***

Les couples de descendances notés « a », à « g », issues des croisements réciproques les plus marquants (notés « a\* », à « g\* »), sont analysés au travers des mesures de la longueur des 1<sup>re</sup> et 2<sup>e</sup> feuille à 15 et 24 jours, respectivement — LF1 (15), LF2 (24) —. Les familles concernées sont : T G1, T G parmi lesquels 2, G1 G2, G1 A1, G1 A3, G2 A3, A2 A3, ainsi que leur réciproque, et les descendances  $\Phi 6$  des parents.

Le dispositif comprend les descendances par autofécondation des 6 séries parentales ( $\Phi 6$ ) et de 7 couples de descendants réciproques. L'essai installé en serre est constitué de 5 blocs, avec un effectif de trois individus par famille, soit un ensemble de 300 plantes (ENSAIA, essai automne 1989).

#### ***Analyses biochimiques du grain***

Les analyses sont menées, pour chaque critère, sur 5 échantillons, prélevés dans chaque lot récolté sur l'essai « autofécondation  $\Phi 4$  » (donc sur les grains  $\Phi 5$ ). Elles sont effectuées après mouture, soit du grain, soit du malt.

Les teneurs en eau (TH), sont obtenues après transformation de chaque valeur (x %) par la fonction  $2\text{ArcSin}x/\%$ . Les teneurs en protéines totales sont déterminées par la méthode de Lowry [7], et exprimées en mg/g de matière sèche.

L'activité  $\beta$ -amylasique est évaluée soit sur la mouture du grain, soit sur celle du malt après réaction par Enzamyk<sup>R</sup> puis lecture, à 340 nm, de l'augmentation d'absorbance du au NADH libéré. L'expression de l'activité  $\alpha$ -amylasique nécessite la germination des semences, puis un micromaltage; la détermination est obtenue par utilisation du Phadebas<sup>R</sup> Amylase test. Ces activités sont exprimées en unité standard par mg de protéine (U/mg).

#### ***Traitements statistiques***

L'homogénéité des variances est vérifiée par le F max ratio.

Les analyses de la variance à un critère, ou à deux critères avec interaction, sont suivies de la comparaison multiple des moyennes par le test de Newman et Keuls, cité par Dagnélie [3].

Les valeurs issues du croisement diallèle sont traitées par la méthode de Griffing [5], modèle fixe, sans les autofécondations (modèle I, méthode 3).

#### **Vitro-variation et création de résistances**

##### ***Etablissement des conditions de stress***

Les essais préliminaires sont effectués par culture des tissus d'embryons matures provenant des cinq séries haplodiploïdes, du témoin Bérénice, et de la variété industrielle Triumph. Des quantités de NaCl de 0,5, 10, 20 g/l, sont ajoutées au milieu callogène de Cheng et Smith [1]. Les tests effectués par mise en culture de

### *Vitro-variation chez des haplodiploïdes d'orge*

1 030 embryons (toute origine confondue), puis le repiquage des 730 calcs qui en sont issus, amènent au choix d'une adjonction de 15 à 20 g/l de NaCl au milieu nutritif, en tant que conditions de début de stress. Ces valeurs augmentent progressivement à mesure des repiquages.

#### ***Matériel végétal et division in vitro des gamétophytes mâles***

La nouvelle phase d'androgenèse concerne, d'une part la variété témoin Bérénice et les haplodiploïdes analysés ci-dessus, d'autre part la variété Triumph, ainsi que des variétés locales ou régulièrement cultivées au Maroc : « Marrakech », Asni, Tamelalt et « Orge 905 ».

Après prétraitement au froid (4 °C) des épis, les anthères sont déposées stérilement, quand le pollen est au stade 1<sup>re</sup> division mitotique, sur le milieu Foroughi-Wehr [4]. Les boîtes de Pétri ensuite stockées à l'obscurité pendant 4 semaines à une température de 20 à 25 °C.

Les calcs et embryons obtenus seront alors placés en conditions de stress avant ou après doublement des chromosomes.

## **Résultats**

Les résultats présentés ici ont essentiellement trait à la mise en évidence de la variabilité.

### **Autofécondations $\Phi 4$**

#### ***Analyses biométriques***

Les résultats des analyses de la variance figurent sur le tableau I.

Les effets blocs sont fréquemment marqués, mais l'ordre respectif des séries est le même dans chaque bloc, ceci étant testé par l'interaction bloc  $\times$  famille.

Ici seuls les critères qui ne présentent pas d'effets d'interaction hautement significatifs sont considérés comme fiables, et ont donné lieu à une étude complète. En revanche, LF2 (17) et NbT (54) seront abandonnés.

Les critères LF2 (23), NbT (23) et NbT (38) ont un F famille significatif au seuil 1 %, avec les valeurs respectives de 4,97 — LF2 (23) — 6,27 — NbT (23) —, et 25,84 — NbT (38) —, qui semblent augmenter à mesure du développement des plantes.

Les comparaisons multiples de moyennes par le test de Newman et Keuls sont présentées sur la figure 1. Pour la coordonnée LF2 (23), malgré le chevauchement des groupes, A1 et G1 se distinguent du témoin T. Quant au nombre de talles NbT, qu'il s'agisse des stades 23 ou 70 jours, les familles androgénétiques A1 et A2 constituent un groupe à part, dont les valeurs sont les plus faibles. Ainsi, les familles issues tant d'androgenèse que de gynogenèse ont un comportement qui s'individualise relativement à celui du témoin.

**Tableau I.** Analyses de la variance des caractéristiques biométriques. Essai autofécondation 87.

Variable	F-Famille	F-Bloc	F-Interaction	CM res
LF2 (17)	12,60***	10,88***	2,45***	3,07
LF2 (23)	4,97***	1,44 NS	1,27 NS	1,46
NbT (23)	6,27***	3,40***	1,50*	0,51
NbT (38)	25,84***	19,87***	1,44	4,72
NbT (54)	36,14***	18,46***	2,31***	12
d.d.l.	5	9	45	240
F table 5 %	2,25	1,90	1,45	
% <sub>00</sub>	4,25	3,25	1,88	

LF2 (17) et (23) : longueur de la 2<sup>e</sup> feuille à 17, puis à 23 jours, en centimètre.

NbT (23), (38) et (54) : nombre de talles à 23, 38 et 54 jours.

CM res : carré moyen résiduel d.d.l. : degrés de liberté.

\*\*\* : très hautement significatif NS non significatif.

LF2 (23) F = 4,97\*\*\*

NbT (23) F = 6,27\*\*\*

NbT (38) F = 25,84\*\*\*

13,86	T
14,04	G2
14,27	A3
14,46	A2
14,78	A1
14,79	G1

1,66	A1
1,82	A2
2,18	G2
2,20	T
2,50	G1
2,54	A3

8,34	A2
8,62	A1
10,80	A3
11,32	G2
11,62	T
11,92	G1

**Figure 1.** Caractéristiques biométriques. Essai autofécondation 87.

Comparaison multiple des moyennes par le test de Newman et Keuls : chaque trait regroupe les éléments non significativement différents.

LF2 (23) : Longueur de la 2<sup>e</sup> feuille à 23 jours, en centimètre.

NbT (23) et (38) : nombre de talles à 23, puis à 38 jours.

\*\*\* : très hautement significatif.

### Analyses biochimiques

Les analyses de la variance (Tableaux II et III) expriment des F très hautement significatifs pour les activités enzymatiques, tant pour la mouture de grain que pour le malt. Le F relatif aux taux de protéines totales est davantage marqué pour le grain (très hautement significatif) que pour le malt (significatif à 5 %). Par ailleurs, si le grain ne montre pas de différences significatives quant à la teneur en eau, on constate que lors du maltage en cours de germination, les taux d'hydratation des diverses séries présentent un F très hautement significatif.

*Vitro-variation chez des haplodiploïdes d'orge*

**Tableau II.** Analyses de la variance des caractéristiques biochimiques de la mouture du grain. Essai autofécondation 87.

Variable	CM var (5 d.d.l.)	C.M. résiduel (24 d.d.l.)	F observé	F table	
TH	0,73	0,40	1,82 NS	5 %	1 %
TP	233,15	23,39	10,41***	2,62	5,98
Act $\beta$ -Am	8,09	0,91	8,82***		

TH : teneur en eau (x), après transformation par  $2\text{Arc sin } \sqrt{x} \%$ .

TP : taux de protéines, en mg/g de matière sèche.

Act  $\beta$ -Am : activité  $\beta$ -amylasique, en unités standard/mg de protéines.

C.M. : carré moyen de la variable d.d.l. : degrés de liberté.

\* : significatif à 5 %; \*\*\* : très hautement significatif; NS : non significatif.

**Tableau III.** Analyses de la variance des caractéristiques biochimiques de la mouture, après maltage en cours de germination essai autofécondation 87.

Variable	CM var (5 d.d.l.)	C.M. résiduel (24 d.d.l.)	F observé	F table	
TH	4,18	0,43	9,67	5 %	1 %
TP	14,16	3,84	3,69*		
Act $\alpha$ -Am	28,18	0,51	43,30***	2,62	5,98
Act $\beta$ -Am	2,08	0,04	38,06***		

TH : teneur en eau (x), après transformation par  $2\text{Arc sin } \sqrt{x} \%$ .

TP : taux de protéines, en mg/g de matière sèche.

Act  $\alpha$ -et- $\beta$ -Am : activités  $\alpha$ - et  $\beta$ -amylasiques, en unités standard/mg de protéines.

CM : carré moyen de la variable; d.d.l. : degrés de liberté.

\* : significatif à 5 %; \*\*\* : très hautement significatif; NS : non significatif.

La comparaison des moyennes confirme la similitude, chez les différentes séries, de la teneur en eau pour la mouture du grain (fig. 2). Après maltage (fig. 3), si T et G1 sont associés et reliés à G2, toutes les séries androgénétiques ainsi que la série gynogénétique G2 se distinguent de T, même si le groupe A1, A2, aux valeurs élevées, demeure lui aussi relié à G2. Au niveau du grain, les taux de protéines totales de T et de G1 sont les plus élevés, et ce groupe se distingue de l'ensemble des autres séries. Cependant, pour l'activité  $\beta$ -amylasique, si T et G1 demeurent encore associés dans les valeurs les plus basses, A3 se regroupe avec eux. Ici, la complexité des chevauchements relie A2 à T et A3, mais distingue les séries A1 et G2, qui présentent les activités les plus élevées.

La mouture après maltage exprime peu de différence relativement au taux de protéines. Seul A3 se distingue de T, en présentant la valeur la plus faible, tandis que le témoin possède la valeur la plus forte. Les autres séries ont des valeurs intermédiaires qui ne sont pas significativement différentes du témoin.

TH F=NS	PT F=10,41***	Act β-Am F= 8,92***
40,39 A1 ]	50,70 A1 ]	5,28 G1 ]
40,28 A3 ]	53,54 A2 ]	6,17 A3 ]
40,25 A2 ]	53,73 A3 ]	6,23 T ]
39,92 T ]	57,31 G2 ]	7,24 A2 ]
39,76 G1 ]	66,40 G1 ]	8,05 G2 ]
39,39 G2 ]	66,45 T ]	8,65 A1 ]

**Figure 2.** Analyses biochimiques de la mouture du grain. Essai autofécondation 87. Comparaison multiple des moyennes par le test de Newman et Keuls : chaque trait représente les éléments non significativement différents.  
 TH : teneur en eau.  
 PT : taux de protéines totales en mg/g de matière sèche.  
 Act β-Am : activité β-amylasique, en unités standard.  
 \*\*\* : très hautement significatif.

TH F=9,67***	PT F=3,69*	Act β-Am F=43,30***	Act α-Am F=38,06
40,16 T ]	75,10 T ]	7,56 G1 ]	0,99 G1 ]
40,80 G1 ]	75,74 A1 ]	8,39 A3 ]	1,28 A2 ]
41,27 G2 ]	75,78 G1 ]	9,44 T ]	1,81 A1 ]
41,93 A1 ]	77,01 G2 ]	10,83 A1 ]	1,90 T ]
42,13 A2 ]	78,56 A2 ]	11,39 A2 ]	2,13 A3 ]
42,57 A3 ]	79,25 A3 ]	13,29 G2 ]	2,82 G2 ]

**Figure 3.** Analyses biochimiques de la mouture après maltage. Essai autofécondation 87. Comparaison multiple des moyennes par le test de Newman et Keuls : chaque trait regroupe les éléments non significativement différents.  
 TH : teneur en eau (×), après transformation par 2 Arc sin × %.  
 TP : taux de protéines, en mg/g de matière sèche.  
 Act α- et β-Am : activité α- et β-amylasique, en unités standard/mg de protéines.  
 \* : significatif à 5 % ; \*\*\* : très hautement significatif.

*Vitro-variation chez des haplodiploïdes d'orge*

Les distinctions les plus nettes apparaissent ici, pour les activités  $\alpha$ - et  $\beta$ -amylasiques, avec un éclatement des valeurs, autour de celle du témoin, davantage marqué chez les familles gynogénétiques que chez les androgénétiques. Ainsi, pour l' $\alpha$ -amylase, les séries A1 et A3 s'associent au témoin, alors que G2 s'isole avec la valeur la plus élevée, et le groupe A2, G1 avec les valeurs les plus faibles. Pour l'activité  $\beta$ -amylasique, le témoin T s'isole avec une valeur intermédiaire, pendant que A3 et G1 constituent le groupe dont l'activité est la plus faible, et que A1, A2 d'une part, puis G2 présentent les valeurs les plus élevées.

**Croisements diallèles**

*Analyse diallèle par la méthode de Griffing*

Seul l'ensemble des cases de croisement du tableau diallèle sont ici traitées, étant donné le choix du modèle.

Le Tableau IV compile les résultats de l'analyse diallèle par la méthode de Griffing — tableau complet, sans les autofécondations ( $\Phi$ 5).

Les aptitudes générales à la combinaison sont très hautement significatives pour tous les critères sauf pour NbT (58), dont le F est significatif à 5 %. Donc, les caractéristiques parentales sont transmises héréditairement et une moyenne d'expression est prévisible chez les descendants. Les aptitudes spécifiques à la combinaison évaluent, spécifiquement au croisement de partenaires précis, les écarts vis-à-vis de la valeur moyenne prévue. Ici, pour tous les critères, les F-ASC sont hautement significatifs.

Les aptitudes réciproques générales et spécifiques font appel aux effets de dissymétrie de transmission exprimées selon le sens de croisement (effet maternel

**Tableau IV.** Analyse diallèle par la méthode de Griffing-essai printemps 89.

Variable	CM résiduel	F-A G C	F-A S C	F-A R G	F-A R S
LF1 (15)	0,21	27,90***	10,48***	8,81***	6,38***
LF2 (24)	0,30	29,47***	25,47***	17,07***	18,83***
LF3 (36)	0,33	11,71***	9,79***	5,73***	8,76***
NbT (58)	0,05	2,50*	7,50***	1,85NS	3,31**
NbT (70)	0,19	6,63***	5,16***	1,05NS	4,31***
Pr	0,42	76,23***	7,95***	6,21***	2,62***
d.d.l.	90	5	9	5	10
F table 5 %		2,32	1,98	2,29 0	1,94
F table 1 %		4,53	3,48	3,17 3	3,34

Cette analyse n'inclut pas la diagonale des autofécondations.

LF1 (15), LF2 (24), LF3 (36) : longueur des feuilles 1, 2, 3 à 15, 24 et 36 jours.

NbT (58) et (70) : nombre de talles à 58 puis 70 jours.

Pr : précocité d'épiaison, en jours.

CM : carré moyen; d.d.l. : degrés de liberté.

\* : significatif à 5 %; \*\*\* : très hautement significatif; NS : non significatif.

AGC et ASC : aptitudes générales et spécifiques à la combinaison.

ARG et ARS : aptitudes réciproques générales et spécifiques à la combinaison.

ou paternel), qu'il s'agisse de dissymétrie parentale moyenne (ARG, obtenue au travers de la différence entre la totalité des valeurs d'une ligne et d'une colonne symétrique, issues d'un parent), ou spécifique à certains croisements (ARS, exprimée par l'écart entre la différence des valeurs de chaque couple précis de réciproques issus d'un parent et la dissymétrie moyenne).

Si les deux caractéristiques relatives au nombre de talles ne présentent pas de F-ARG significatifs, ce F est hautement significatif pour toutes les autres caractéristiques. De plus, tous les F-ARS sont eux aussi hautement significatifs, conférant une diversité d'expression de la dissymétrie.

Remarquons que la coordonnée la plus marquée par les effets de dissymétrie de transmission est la longueur de feuille LF2 (24) avec un F-ARG de 17,07 et un F-ARS de 18,76; par ailleurs le F-AGC est de 29,47 et le F-ASC est de 25,47.

*Analyses effectuées sur l'ensemble des données du tableau diallèle*

Les analyses de la variance effectuées sur l'ensemble des coordonnées sont compilées dans le Tableau V. Seul le critère LF1 (15), pour lequel l'interaction bloc × famille est significatif, doit être abandonné. Les autres critères sont tous fiables et leur F-famille est hautement significatif, la plus forte valeur étant enregistrée, là encore, pour la longueur de la deuxième feuille — LF2 (24). Les critères les moins marqués concernent le nombre de talles — NbT (58) et NbT (70) — avec cependant des F déjà hautement significatifs.

La caractéristique LF2 (24) étant la plus démonstrative, notre analyse va se centrer sur celle-ci, pour comparer les valeurs moyennes des divers croisements et autofécondations, après classement et test de Newman et Keuls. Cette comparaison multiple des moyennes est présentée sur la figure 4.

Les valeurs moyennes de l'ensemble des familles s'étalent de 4,08 pour A2 T, jusqu'à 16,00 pour A3 G2. Les chevauchements sont multiples, mais, seules les séries A3 G2, A3 A3, G1 T, G2 T, G2 A1 et A2 A2 se regroupent avec le témoin.

**Tableau V.** Analyses de la variance sur les données du diallèle comprenant la diagonale des autofécondations. Essai printemps 89;

Variable	F-Famille	F-Bloc	F-Interaction	CM res
LF1 (15)	27,50***	5,84***	2,22***	0,76
LF2 (24)	31,19***	2,76*	1,31	1,89
LF3 (36)	21,50***	1,51	1,23	1,88
NbT (58)	3,28***	35,33***	1,10	0,37
NbT (70)	3,39***	39,83***	1,39	1,19
Pr	29,18***	13,94***	1,29	2,7
d.d.l.	35	2	70	108
F table 5 %	1,49	3,07	1,42	
F table 1 %	2,32	7,41	2,07	

LF1 (15), LF2 (24), LF3 (36) : longueur des feuilles 1, 2, 3 à 15, 24 et 36 jours, en centimètre.

NbT (58) et (70) : nombre de talles à 58 puis 70 jours.

Pr : précocité d'épiaison, en jours.

CM : carré moyen; d.d.l. : degrés de liberté.

\* : significatif à 5%; \*\*\* : très hautement significatif; NS : non significatif.



*Vitro-variation chez des haplodiploïdes d'orge*

LF2 (24) F = 31,19***	
S	D
	16,00 A3 G2
	15,83 A3 A3
	15,42 T T
	14,92 G1 T
1	14,50 G2 A1
	14,33 A2 A2
	13,17 G2 G2
	12,98 A1 T
1	12,93 A2 G2
1	12,65 A1 G2
	12,58 G2 G1
	12,52 A3 A2
	12,27 A1 A1
1	12,07 G1 A2
	11,15 G1 A3
	10,97 G1 A1
2	10,88 A1 A2
2	10,82 G2 A2
3	10,73 A2 G1
4	10,67 A3 T
3	10,67 A2 A1
3	10,63 A3 A1
	10,62 T G1
2	10,33 A1 A3
	10,05 G1 G1
	10,02 G2 A3
4	9,38 T A1
4	9,10 T A3
	8,50 A2 A3
	7,83 G1 G2
	7,63 A3 G1
4	6,47 G2 T
a*	5,75 A1 G1
	4,92 T G2
4	4,17 T A2
4	4,08 A2 T

**Figure 4.** Croisements diallèles. printemps 89.

Toutes les autres séries, parmi lesquelles G2 G2, A1 A1 et G1 G1, s'en dissocient.

La comparaison des croisements réciproques, entre eux, et vis-à-vis de leurs parents respectifs, amène à plusieurs catégories d'expressions que l'on peut coder de façon analogue à celle présentée par Sibi [11] : Similitude, ou Divergence de comportement des croisements réciproques (S, D).

Puis, l'on peut constater : soit le regroupement du croisement, avec chacun de ses deux parents (1); soit l'analogie à la mère seule (2, effet maternel); soit

l'analogie au père seul (3, effet paternel); soit encore, la divergence vis-à-vis de chacun des parents (4). Ce dernier cas peut correspondre, sur le graphe, à des valeurs placées soit à l'intérieur de la zone délimitée par celles des parents (4 i), soit à l'intérieur de cette zone (4 e), effet alors désigné par le terme de « transgression ».

Ainsi, on peut comptabiliser :

- 16 cas de similitude présentés à gauche du schéma parmi lesquels : la situation (1) est représentée 4 fois, (2) 3 fois, (3) 3 fois, et (4 e) 6 fois;
- 14 cas de divergence présentés à droite du schéma parmi lesquels : la situation (1) est représentée 2 fois, (2) 4 fois, (3) 3 fois, et (4 e) 5 fois.

On constate donc, parmi les 30 croisements réciproques, 6 cas d'effets maternels, 6 cas d'effets paternels, et 11 cas de transgression.

Les hérédités dissymétriques sont synonymes de l'expression d'un matériel héréditaire ne suivant pas les lois classiques de l'hérédité mendélienne. Quant aux effets de transgression, ils sont difficilement associables à de l'hétérozygotie résiduelle, étant donné l'homogénéité des variances. Nous sommes cependant amenés à vérifier ce point, en analysant les descendance par autofécondation, des croisements diallèles.

### Autofécondation du diallèle

Le suivi de la descendance des parents ( $\Phi 5$ ) ainsi que de six couples de croisements réciproques dissymétriques (notés « b » à « g ») et d'un couple symétrique (noté « a ») amène aux analyses de la variance présentées sur le Tableau VI.

Aucune interaction bloc  $\times$  famille n'est décelable, qu'il s'agisse du critère LF1 (15), ou LF2 (24). Le F-famille très hautement significatif est davantage marqué pour ce second critère; les comparaisons multiples de moyennes sont présentées sur la figure 5.

A cette génération et dans les conditions de croissance du matériel (automne), on constate un certain retard par rapport au semis du printemps 1989. Le témoin regroupe autour de lui A3 A3, A1 A1, A3 G2, G1 G1, T G2, et A3 G2.

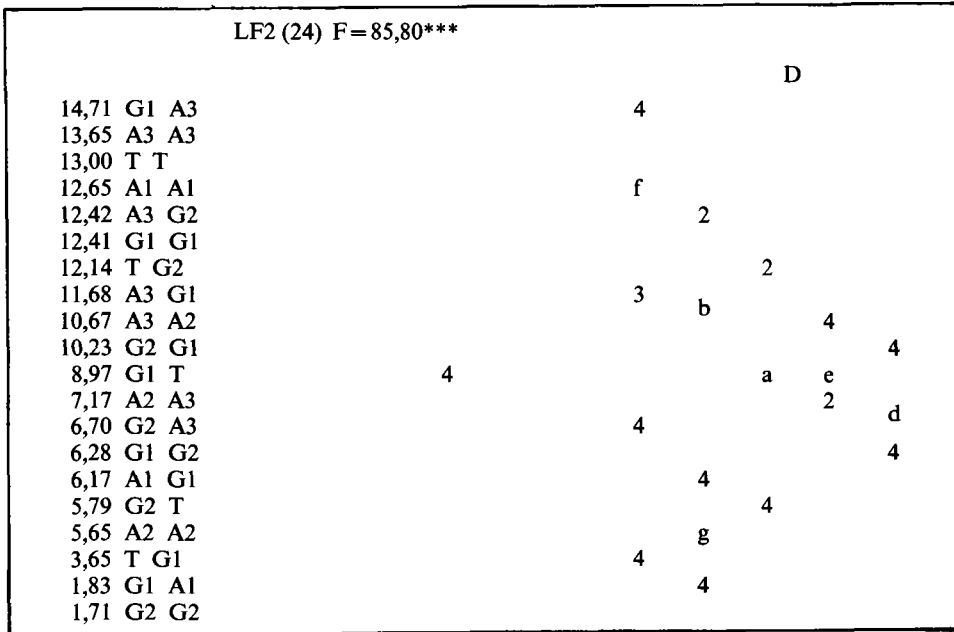
**Tableau VI.** Analyses de la variance des données issues de l'autofécondation des cases du diallèle — essai automne 89 —

Variable	F-Famille	F-Bloc	F-Interaction	CM res
LF1 (15)	45,72***	11,70***	1,19	0,85
LF2 (24)	85,80***	18,58***	1,01	2,82
d.d.l.	19	4	76	200
F table 5 %	1,62	2,42	1,32	
F table 1 %	2,42	4,81	1,68	

LF1 (15), LF2 (24) : longueur des feuilles 1 et 2, à 15 et 24 jours, en centimètre  
 CM : carré moyen; d.d.l. : degrés de liberté.

\* : significatif à 5 %; \*\*\* : très hautement significatif; NS : non significatif.

*Vitro-variation chez des haplodiploïdes d'orge*



**Figure 5.** Autofécondation du diallèle, automne 89.

Comparaison multiple des moyennes par le test de Newman et Keuls : chaque trait plein regroupe les éléments non-significativement différents. Le codage selon toutes les catégories d'expressions observables vis-à-vis des parents est repéré par le pointillé; ici le trait plein relie les couples de réciproques.

La notation « x\* » désigne les croisements analysés en autofécondation. A gauche sont regroupés les couples de réciproques « semblables » (S) et à droite, les couples qui « divergent » (D).

Codage : 1 = identité avec les deux parents; 2 = identification avec la mère; 3 = identité avec le père; 4 ou 4i = le croisement diffère de ses parents et se place entre leur valeur; 4 ou 4e = il se trouve hors de cet intervalle (transgression).

Dans tous les cas (même pour les descendance « a » du couple « a\* » symétrique) il y a dissymétrie de comportement et les couples de descendants réciproques se dissocient pour se placer chacun dans des groupes distincts. De plus, sur l'ensemble des familles choisies, à la génération de croisement, on peut comptabiliser : 2 situations (1), 3 cas de type (2), 3 de type (3), et 6 cas de type (4 e), alors que pour leurs descendance on observe : 3 cas de type (2), 1 cas de type (3), 5 de type (4 e), et 5 cas de transgression (4 i), pour lesquels la valeur se trouve comprise dans l'intervalle délimité par les parents.

Ainsi, les effets de transgression sont confirmés et les dissymétries semblent s'exprimer même dans le cas « a » issu du couple symétrique « a\* », soit que cet effet évolue selon le stade de développement, soit que l'autofécondation ait entraîné une exacerbation du phénomène.

## Discussion et conclusions

La vitro-variabilité s'exprime de façon marquante chez les familles ( $\Phi 4$ ) d'orge issues de l'autofécondation d'haplodiploïdes.

L'analyse des coordonnées biométriques montre, dès cette génération, l'autonomie de comportement de chaque variant. Ceci s'exprime par des classements qui peuvent différer selon les critères. Ainsi, pour les nombres de talles (NbT) les androgénétiques A1 et A2 se distinguent de toutes les autres séries, dont le témoin, tandis que pour la longueur de feuille LF2 (23), seuls G1 et A1 diffèrent du témoin.

Les caractéristiques biochimiques sont effectuées sur les grains, directement, ou après germination. Il s'agit donc là d'observations réalisées sur la descendance ( $\Phi 5$ ), qui concernent soit l'albumen, soit la jeune plante issue de l'embryon, après maltage, car l' $\alpha$ -amylase n'est biosynthétisée que dans ces conditions.

Si la teneur en protéines totales est un bon marqueur au niveau de l'albumen, mais peu discriminant après maltage, les activités  $\beta$ -amylasiques et  $\alpha$ -amylasiques se montrent d'excellents marqueurs sur le malte. Ici, on constate un éclatement des potentialités, les familles gynogénétiques G1 et G2 bornent les valeurs montrant l'éventail des situations possibles.

L'ensemble de ces résultats montre que, selon le critère d'analyse choisi, chaque variant présente un comportement qui lui est propre. Il ne semble pas y avoir de relations strictes entre le type de technique *in vitro* ayant amené à l'haploïdisation et la sensibilité de réaction vis-à-vis des diverses coordonnées analysées.

Ceci paraît être en contradiction avec les conclusions de San-Nœum et Ahmadi (1982) et [9, 11] utilisant un matériel équivalent, qui ont constaté un comportement des gynogénétiques parallèle à celui du témoin, tandis que les androgénétiques constituaient un groupe à part. En fait, les données enzymatiques apportent un complément d'information qui n'est peut-être pas antagoniste avec les analyses de ces auteurs.

L'étude des croisements diallèle met essentiellement en évidence les particularités suivantes :

— apparition de dissymétries de transmission impliquant la ressemblance soit avec la mère (effet maternel), soit, ce qui est plus original, avec le père (effet paternel),

— expression d'effets de transgression pour une partie des croisements, présentant donc des valeurs équivalentes à celles qui pourraient être obtenues dans le cas de vigueur hybride; cependant, les dissymétries de transmission, de même que l'homogénéité des variances chez les descendances des croisements, amènent à rejeter l'hypothèse d'une quelconque hétérozygotie.

L'autofécondation de couples réciproques du croisement diallèle montre le maintien des dissymétries et, chose plus inattendue, l'apparition de dissymétrie de comportement pour la descendance de croisements « symétriques ». Selon le critère analysé, chaque famille a une dynamique qui lui est propre.

Des résultats analogues avaient été obtenus chez des vitro-variants de laitue [10, 11], puis de tomate [12, 14, 15].

Le comportement particulier de ces vitro-variants, issus de la régénération de tissus somatiques [8, 11], avait amené à supposer une déstabilisation du génome

associée à des modifications dites « épigéniques » dont la spécificité est de ne suivre ni les lois de la ségrégation mendéliennes, ni celles de l'hérédité cytoplasmique *sensus stricts*.

Cependant dans le cas de l'orge, il semble que la fréquence des effets inhabituels, effets maternels ou paternels, et surtout effets de transgression, soit encore plus élevée qu'elle ne l'était chez la laitue ou la tomate, les tissus haploïdes avoir subi une perturbation plus forte encore que les tissus diploïdes.

La variabilité observée ici montre que la culture *in vitro* est vecteur de l'éclatement des potentialités contenues dans le génome végétal et qui généralement n'ont pas la possibilité de s'exprimer.

En fait, il semble que cette technique soit à même de redonner une « souplesse » d'expression au génome domestiqué puis sélectionné. La richesse des nouveaux comportements peut être comparée à un retour vers les formes non domestiquées.

La suite de ce programme de recherche comprend la création d'une nouvelle vague d'haploïdisation par culture de gamétophytes *in vitro* pour l'obtention de résistance à la salinité et à la sécheresse. Le développement des embryoides par culture d'anthers est rapide, et les conditions stressantes adéquates devraient permettre l'obtention de matériel modifié et résistant.

## Références

1. Cheng TY. (1975). Organogenesis from callus culture of *Hordeum vulgare*. *Planta* 123; 307: 310.
2. Clapham D. (1973). Haploïd *Hordeum* plants from anthers *in vitro*. *Z Pflanzenzüchtg*; 9: 142-155.
3. Dagnélie P. (1970). Théorie et méthodes statistiques. Vol 2, Applications agronomiques. Ed. J. Duculos. Gembloux, pp. 451.
4. Foroughi-Wehr B, Mix G, Gaul H, Wilson HM. (1976). Plant production from cultured anthers of *Hordeum vulgare* L. *Z Pflanzenzüchtg*; 77: 198-204.
5. Griffing B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Austr J Biol Sci*; 9: 463-493.
6. Kao KN, Kasha KJ. (1969). Haploïdy from interspecific crosses with tetraploïd barley. In : Ed. R.A. Nilav. *Barley Genetics II*. Wash State Univ Press : pp. 82-88.
7. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randal RJ (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol chem* ; 193 : 265-275.
8. San-Noem H. (1976). Haploïdes d'*Hordeum vulgare* L. par culture *in vitro* d'ovaires non fécondés. *Ann Amélior PL* ; 26 : 751-4.
9. San Noeum H, Ahmadi N. (1982). Variability of doubled from *in vitro* androgenesis and gynogenesis in *Hordeum vulgare* L. In : Ed. E.D. Earle Y. *Variability in Plants Regenerated From Tissue Culture*. Demarly Praeger, New York : pp. 273-283.
10. Sibi M. (1974). Création de variabilité par culture de tissus *in vitro* chez *Lactuca sativa* L. Thèse spéc. Amélior Pl, Univ Paris-Sud, Orsay, 142 p.
11. Sibi M. (1976). La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs. Obtention de variants par culture de tissus *in vitro* sur *Lactuca sativa* L, apparition de vigueur chez les croisements. *Ann Amélior Pl*; 26 (4): 523-547.

*M. Sibi, M. Kandil*

12. Sibi M. (1979). Expression of cryptic genetic factors *in vivo* and *in vitro*. In : Ed. A.C. Zeven, A.M. Van Harten. *Broadening Genetic Base Crops*. Pudoc Wageningen, pp. 339-340.
13. Sibi M. (1981). Hérité de variants épigéniques obtenus par culture de tissus *in vitro* chez les végétaux supérieurs. Thèse Doc es Sc Amélior Pl, Université Paris-Sud, Orsay, 280 p.
14. Sibi M. (1986). Non mendelian heredity. Genetic analysis of variant plants regenerated from *in vitro* culture : Epigenetics and Epigenics. In : Ed. J. Semal Gembloux. *Somaclonal Variation and Crop Improvement*, Belgique, pp. 53-83.
15. Yean-San LH. (1987). Gynogenèse *in vitro*. Variabilité des haploïdes doublés issus d'androgenèse, de gynogenèse *in vitro* et de croisement interspécifique chez *Hordeum vulgare* L. Thèse de doctorat ès sciences. *Amélior Pl*, Univ. Paris-Sud, Orsay, 153 p.



**Universités francophones** est la collection de l'Université des Réseaux d'Expression Française (UREF). Cette dernière, qui fonctionne au sein de l'AUPELF comme une Université sans murs, a été choisie par le Sommet des Chefs d'Etat et de Gouvernement des pays ayant en commun l'usage du français comme l'opérateur privilégié du Sommet en matière d'enseignement supérieur et de recherche.

Cette collection de manuels universitaires et d'ouvrages de référence s'adresse à tous les étudiants francophones. Elle est appelée à constituer une bibliothèque universitaire en langue française dont les ouvrages sont proposés à des prix modérés.

160,00 FF

80,00 FF — UREF / Prix préférentiel : Afrique, Asie, Amérique du Sud, Haïti

REF 59 4272 7



U R E F



AUPELF

