

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D'ÉCOLOGIE & BIOLOGIE VÉGÉTALE

N°...../SNV/2012

## THÈSE

Présentée par : **KADI Zahia**

Pour obtenir le diplôme de **Doctorat en Sciences**

*Option : Biologie végétale*

## THÈME

**SELECTION DE L'ORGE** (*Hordeum vulgare L.*)

**POUR LA TOLERANCE AUX STRESS ABIOTIQUES**

Soutenue publiquement le 12/03/2012

### DEVANT LE JURY

PRESIDENT	LAOUER Hocine	Pr. FAC SNV. UFA Sétif
RAPPORTEUR	BOUZERZOUR Hamenna	Pr. FAC SNV. UFA Sétif
EXAMINATEUR	BENMAHAMMED Amar	Pr. FAC SNV. UFA. Sétif
EXAMINATEUR	BENBELKACEM Abdelkader	Dir Rech INRAA Cne
EXAMINATEUR	BRINIS Louhichi	Pr. FSNV Univ. Annaba
EXAMINATEUR	BAHLOULI Fayçal	MCA Fac. Sci. Univ. M'Sila

*Année universitaire 2011/2012*

## Remerciements

Louanges à Dieu le tout puissant et le miséricordieux qui a guidé mes pas vers cette issue. Je remercie mon directeur de thèse le professeur **Bouzerzour Hamenna** qui a accepté avec toute modestie de m'encadrer, malgré ses multiples charges, tout le long de ces années d'études. Je le remercie pour son aide, sa patience, ses conseils précieux qui ont conduit à l'achèvement ce travail. Qu'il trouve ici l'expression mon plus profond respect et ma profonde gratitude.

Mes remerciements vont aussi au professeur **Laouer Hocine**, qui m'a fait l'honneur de présider le jury et aux professeurs **Benmahammed Amar**, **Brinis Louhichi**, **Benbelkacem Abdelkader** et **Bahlouli Fayçal** d'avoir pris sur le temps pour examiner et juger ce travail.

Ma gratitude va aussi au professeur **Yekhlef Nadia** et à messieurs **Belbekri Nadhir** et **Kellou Kamel** du laboratoire de Génétique et d'amélioration des plantes de l'université de Constantine pour leur aide et les moyens matériels qu'ils ont mis à ma disposition.

Je remercie mon étudiante de toujours Mademoiselle « **Tibata Souhila** » pour son soutien morale, son aide, pour les réflexions, les questions et les conseils qu'elle m'a prodigué.

Je remercie mon père pour sa confiance et son soutien quasi inconditionnel durant ces années de thèse. Il m'a en particulier aidé à comprendre qu'il est nécessaire de travailler pour atteindre ses objectifs. Je dois remercier chaque membre de ma famille pour leurs encouragements et plus particulièrement mes sœurs pour leurs intérêts envers mon travail.

Je souhaite également remercier mes amies : Amina, Farah, Hinda et Lilia pour leurs conseils avisés. Ma reconnaissance va aussi à mon époux Azzedine et en Particulier à mes enfants : Farah et Anouar pour leur patience et leur amour.

Je clos enfin ces remerciements en dédiant cette thèse de Doctorat à mes parents et particulièrement à ma défunte Mère que j'ai eu la chance d'avoir à mes côtés, qui m'a soutenu et qui a toujours cru en moi.

Zahia Kadi.

---

**LISTE DES ABREVIATIONS**


---

<b>ABA</b>	Acide abscissique
<b>Acs</b>	Acsad <sub>176</sub>
<b>AFP</b>	Anti Freeze Proteins
<b>AO</b>	Ajustement osmotique
<b>AMMI</b>	Additive Main effect and Multiplicative Interaction
<b>BA</b>	Benzyl Amino Purine
<b>Bar</b>	Barberousse
<b>Beg</b>	Bégonia
<b>BOT</b>	Indice bottom
<b>CCLS</b>	Coopérative des Céréales et des Légumes Secs
<b>COR</b>	Cold-Regulated genes
<b>CV</b>	Coefficient de variation
<b>DRE/CRT</b>	Drought Responsive Element / C-Repeat binding factor
<b>2,4-D</b>	Acide 2,4- Dichloro Phénoxy Acétique
<b>W</b>	Ecovalence
<b>Si</b>	Indice de sensibilité au déficit hydrique
<b>Exp</b>	Express
<b>ICARDA</b>	International Center for Agricultural Research in Dry Areas
<b>ITGC</b>	Institut Technique des Grandes Cultures
<b>Jai</b>	Jaïdor
<b>GxE</b>	Génotype × environnement
<b>LEA</b>	Late Embryogenis Abundant Proteins
<b>LC</b>	Longueur coléoptile
<b>LR</b>	Longueur racinaire
<b>MS</b>	Murashige et Skoog (1962)
<b>NR</b>	Nombre de racines
<b>Ns</b>	Effet non significatif
<b>PFA</b>	Poids frais partie aérienne
<b>PFR</b>	Poids frais racinaire
<b>Pla</b>	Plaisant
<b>PSA</b>	Poids sec partie aérienne
<b>PSR</b>	Poids sec racinaire.

## II

<b>QTL</b>	Quantitative traits loci
<b>Rah</b>	Rahma
<b>RDT</b>	Rendement grain
<b>Rih</b>	Rihane
<b>ROS</b>	Reactive Oxygen Species
<b>SAM</b>	Sélection assistée par marqueurs
<b>Sai</b>	Saida
<b>SCE</b>	Somme des carrés des écarts
<b>Sou</b>	Soufara
<b>STI</b>	Stress tolerance index
<b>Tic</b>	Tichedrett
<b>SR</b>	Sersour
<b>ST</b>	Sétif
<b>Tin</b>	Tina
<b>Tiss</b>	Tissa
<b>Pi</b>	indice de supériorité génotypique
<b>Y<sub>F</sub></b>	Rendement grain en conditions favorables
<b>Y<sub>S</sub></b>	Rendement grain sous stress

---

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tab I. 1.</b>	Production (t) mondiale de l'orge et des pays magrébins	07
<b>Tab II. 1.</b>	Analyse de la variance combinée, régression conjointe, et l'analyse AMMI de l'interaction génotype x environnements du rendement grain des 13 variétés testées sur deux sites au cours de cinq campagnes agricoles	35
<b>Tab II. 2.</b>	Moyennes de rendement grain (RDT, t ha <sup>-1</sup> ), coefficients de régression (b), carrés moyens de la déviation de la régression (S <sup>2</sup> <sub>di</sub> ), les scores des axes IPCA <sub>1</sub> , la variance environnementale (S <sup>2</sup> <sub>i</sub> ), la variance stabilité de Shukla (σ <sub>i</sub> <sup>2</sup> ) et l'indice de fiabilité (I, t ha <sup>-1</sup> ) des 13 génotypes d'orge évalués sur deux sites expérimentaux au cours de cinq campagnes	37
<b>Tab III. 1.</b>	Carrés moyens de l'analyse de la variance du rendement grain mesuré par environnement	54
<b>Tab III. 2.</b>	Moyennes génotypiques du rendement grain (t ha <sup>-1</sup> ) mesuré par site	55
<b>Tab III. 3.</b>	Valeurs des indices de la tolérance des stress des génotypes testés	56
<b>Tab III. 4.</b>	Coefficients de corrélation de rang de Sperman	58
<b>Tab III. 5.</b>	Valeurs moyennes des centres de gravités des différents groupes de génotypes issus de la classification hiérarchique	59
<b>Tab III. 6.</b>	Coefficients de corrélation des indices avec les trois premiers axes de l'analyse en composantes principales	62
<b>Tab III. 7.</b>	Coordonnées des génotypes sur les axes principaux de l'analyse en composantes principales	63
<b>Tab IV. 1.</b>	Préparation de milieu de culture	74
<b>Tab IV. 2.</b>	Dosage de la proline	78
<b>Tab IV. 3.</b>	Détermination de la teneur en chlorophylle	79
<b>Tab IV. 4.</b>	Détermination des ions potassium (K <sup>+</sup> ) et sodium (Na <sup>+</sup> )	81
<b>Tab IV. 5.</b>	Carrés moyens de l'analyse de la variance des caractères morphologiques mesurés	83
<b>Tab IV. 6.</b>	Valeurs moyennes des caractères morphologiques mesurés chez les trois génotypes soumis à trois intensités de stress salin	84
<b>Tab IV. 7.</b>	Carrés moyens de l'analyse de la variance des paramètres physiologiques mesurés	86

## IV

<b>Tab IV. 8.</b>	Valeurs moyennes des paramètres physiologiques mesurés chez les trois génotypes soumis à trois intensités de stress salin	86
<b>Tab IV. 9.</b>	Ecart des effets du stress salin sur les caractères mesurés	89

## LISTE DES FIGURES

<b>Fig I. 1.</b>	Le croissant fertile	4
<b>Fig I. 2.</b>	Architecture d'une plantule d'orge au stade juvénile	5
<b>Fig I. 3.</b>	Architecture d'un plant d'orge au stade adulte	6
<b>Fig II. 1.</b>	Cumuls pluviométriques enregistrés par cycle au cours des différentes campagnes sur les deux sites expérimentaux, Sétif (ST) et Sersour (SR)	34
<b>Fig II. 2.</b>	Relations entre la pente de la régression et l'effet moyen du rendement des 13 géotypes d'orge évalués dans 10 environnements	38
<b>Fig II. 3.</b>	Biplot AMMI <sub>1</sub> des effets moyens du rendement grain des géotypes et des environnements et les scores de l'interaction sur l'axe IPCA <sub>1</sub>	40
<b>Fig II. 4.</b>	Biplot AMMI <sub>2</sub> des scores des géotypes et des environnements sur les deux premiers axes IPCA	41
<b>Fig II. 5.</b>	Rendements attendus des cultivars Soufara and Acsad <sub>176</sub> qui montrent des formes contrastées d'interaction G x E	43
<b>Fig III. 1.</b>	Classification hiérarchique des différents géotypes sur la base des valeurs prises par les indices de la tolérance des stresses et les moyennes de rendements sur l'ensemble des environnements et des environnements extrêmes	60
<b>Fig III. 2.</b>	Valeurs moyennes, en pourcent de la valeur maximale, des indices et paramètres mesurés des différents groupes de géotypes issus de la classification hiérarchique	61
<b>Fig III. 3.</b>	Bi-plot des composantes PC <sub>1</sub> et PC <sub>2</sub> représentant les géotypes et les indices de tolérance des stress	64
<b>Fig III. 4.</b>	Bi-plot des deux composantes, PC <sub>1</sub> et PC <sub>3</sub> , représentant les géotypes et les indices de tolérance des stress	66
<b>Fig IV. 1.</b>	Résultats après 15 jours de l'application du stress (variété Saida)	85
<b>Fig IV. 2.</b>	Résultats après 15 jours de l'application du stress (variété Tichedrett)	85
<b>Fig IV. 3.</b>	Effet moyen géotypes des caractères morphologiques mesurés sur les plantules d'orge	87
<b>Fig IV. 4.</b>	Effet moyen des géotypes sur les caractères physiologiques mesurés sur les plantules d'orge	88
<b>Fig IV. 5.</b>	Effet moyen des géotypes sur la proline mesurée sur les plantules d'orge	88
<b>Fig IV. 6.</b>	Effet relatif du stress salin sur les caractères mesurés	89
<b>Fig IV. 7.</b>	Effet moyen du stress salin sur la proline sur les plantules d'orge	90
<b>Fig IV. 8.</b>	Effet moyen du stress salin sur le sodium et le rapport (K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup> ) sur les	

## VI

plantules d'orge	91
<b>Fig IV. 9.</b> Effet interaction G x S sur les paramètres mesurés sur les plantules d'orge	91
<b>Fig IV. 10.</b> Cercle de corrélations entre les variables et les axes 1 et 2 de l'analyse en composantes principales	93
<b>Fig IV. 11.</b> Cercle de corrélations entre les individus et les axes 1 et 2 de l'analyse en composantes Principales	94

---

## Introduction

La sélection consciente, des génotypes plus performants que les variétés mises en culture, a commencé dès la fin du XIX<sup>ième</sup> siècle (Harlan, 1975). La progression des rendements n'est devenue perceptible et régulière que depuis le début de la deuxième moitié du 20<sup>ième</sup> siècle (Austin *et al.*, 1980). La moyenne des rendements en milieux favorables a atteint les 7 t/ha et augmente de 1% par an. Le progrès génétique participe à hauteur de 50% à cette amélioration (Austin *et al.*, 1980 ; Ceccarelli *et al.*, 1998).

La mise en culture des milieux plus favorables à l'expression du potentiel de production des nouvelles obtentions, ainsi que l'amélioration de l'itinéraire technique, devenue possible, ont grandement aidé à l'augmentation de la productivité par unité de surface de sol (Ortiz-Monasterio *et al.*, 1997 ; Guardia *et al.*, 2004). En milieux variables, l'apport des nouvelles obtentions a été, par contre, peu perceptible, irrégulier avec parfois des effets négatifs, suite à la sensibilité des nouvelles obtentions aux stress abiotiques (Witcombe *et al.*, 2009).

La production céréalière des zones pluviales sèches restait faible et très irrégulière dans l'espace et le temps (Ceccarelli, 2010 ; Menad *et al.*, 2011). La recherche d'une meilleure adaptation à la variation environnementale est devenue une nécessité pour stabiliser les rendements de ces régions (Kadi *et al.*, 2010 ; Meziani *et al.*, 2011). La variation des rendements est engendrée par la sensibilité des nouveaux cultivars aux divers stress qui caractérisent le milieu de production (Mekhlouf *et al.*, 2006 ; Chennafi *et al.*, 2006). Richard *et al.*, (2007) suggèrent, dans ce contexte, que les approches physiologiques sont recommandées lorsque la sélection cible de tels environnements.

Les difficultés liées à la recherche sur les mécanismes qui contrôlent l'adaptation et la tolérance viennent du grand nombre de facteurs qui semblent conditionner ces caractéristiques. Ces facteurs agissent à plusieurs niveaux organisationnels, de la cellule à la plante entière (Wang *et al.*, 2003). D'où il est difficile d'identifier le caractère le plus efficace, permettant de faire le meilleur progrès possible vis-à-vis d'un stress abiotique donné (Van Ginkel *et al.*, 2001 ; Edmeades *et al.*, 2004).

Des approches physiologiques sont suggérées comme méthodes utiles, mais elles restent peu fiables et difficilement applicables à de larges populations sous sélection (Reynolds *et al.*, 2005). De ce fait, les sélectionneurs restent convaincus que les approches physiologiques n'arrivent pas à donner de meilleurs résultats comparativement aux méthodes empiriques qu'ils utilisent jusqu'ici. Ces méthodes classiques se montrent, en effet, plus efficaces, dans la mesure où des gains appréciables de rendement sont obtenus dans les environnements aussi bien favorables que contraignants (Frey, 1964 ; Salam *et al.*, 1999 ; Edmeades *et al.*, 2004).

Les stress abiotiques qui caractérisent les régions arides et semi- arides sont représentés essentiellement par la sécheresse, les hautes températures de fin de cycle et la salinité. L'adaptation variétale recherchée l'est vis-à-vis de ces stress. La recherche de variétés résistantes, par des méthodes classiques, est longue et onéreuse (Baenziger *et al.*, 2006). Au delà de la sélection classique, les développements faits en matière de biotechnologies augmentent les alternatives de recherche en matière de résistance aux stress abiotiques (Lutts *et al.*, 1996).

La maîtrise de la culture *in vitro* rend aisé le screening sous des conditions plus contrôlées, que vu plusieurs études montrent que l'application d'agents abiotiques à des cellules végétales cultivées *in vitro* apporte des informations intéressante en ce qui concerne la tolérance à divers stress aussi bien biotiques qu'abiotiques (Bertin *et al.*, 1995 ; Baraket et Abdelattif, 1996 ; Jain, 1997 ; Zalc *et al.*, 2004). De plus la maîtrise de la culture *in vitro* offre des possibilités d'utilisation d'autres techniques relevant du domaine des biotechnologies, telle que la transformation génétique (Zalc *et al.*, 2004).

La présente étude se fixe pour objectif de sélectionner des génotypes d'orge (*Hordeum vulgare L.*) pour la tolérance aux stress abiotiques qui caractérisent la région semi-arides des hautes plaines orientales. Cet objectif global est subdivisé en trois sous objectif qui sont :

- ✓ Sélection sur la base des performances du rendement grain,
- ✓ Sélection sur la base des indices de la tolérance des stress,
- ✓ Analyse de la réponse à la salinité, de trois variétés d'orge régénérées *in vitro* à partir d'embryons matures.

## Chapitre I. Revue bibliographique

### 1. Généralités sur l'orge (*Hordeum vulgare L.*)

L'orge cultivée (*Hordeum vulgare L.*), de constitution génomique diploïde ( $2n=14$ ), est une espèce dont les origines remontent à celles de l'agriculture elle-même. L'orge à 2 rangs, datant du néolithique, 10000 ans BC, a été découverte dans le croissant fertile, au Moyen Orient (Figure 1). Elle est considérée comme étant les restes les plus anciens de l'orge cultivée. L'orge est issue des formes sauvages de l'espèce *Hordeum spontaneum* que l'on trouve encore aujourd'hui au Moyen Orient.



**Figure 1.** Le croissant fertile (<http://archaeology.about.com/od/domestications/qt/wheat.htm>)

L'orge est une monocotylédone, appartenant à la famille des *Poaceae*. Sa classification est basée sur la fertilité des épillets latéraux, la densité de l'épi et la présence ou l'absence des barbes (Rasmusson 1992). Au stade herbacé, elle se distingue principalement des autres céréales par un feuillage vert clair, la présence d'une ligule très développée, des oreillettes glabres et un fort

tallage herbacé (Figure 2). L'inflorescence est un épi, le plus souvent barbu (Figure 3). Le rachis porte sur chaque article trois épillets mono-flore, un médian et deux latéraux. Le grain est vêtu par des glumelles qui ne s'en séparent pas lors du battage, ce qui améliore la teneur en cellulose brute.

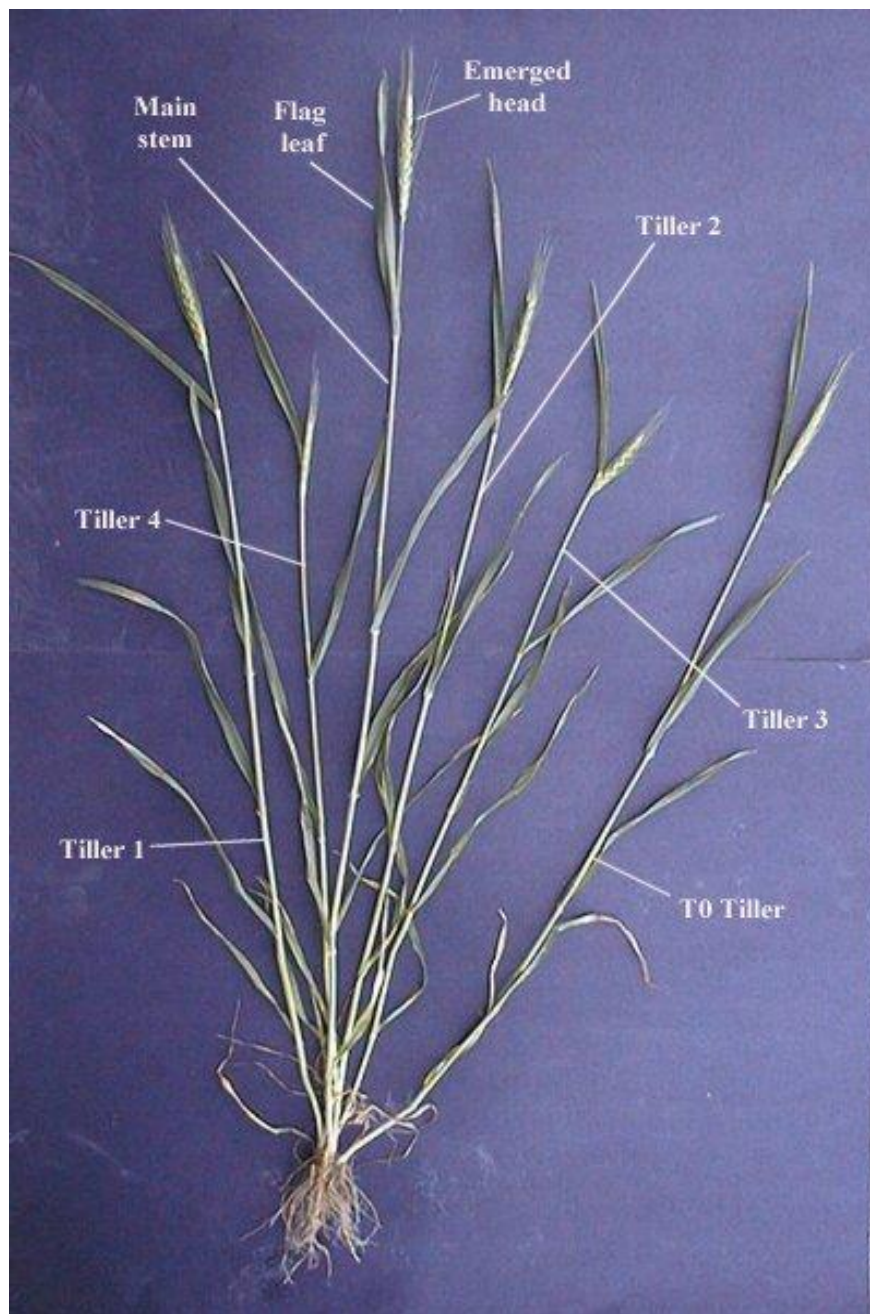


**Figure 2.** Architecture d'une plantule d'orge au stade juvénile (<http://oregonstate.edu/instruct/css/330/five/BarleyOverview.htm>)

L'orge est une espèce très adaptée aux systèmes de cultures pratiqués en zones sèches. Cette adaptation est liée à un cycle de développement plus court et à une meilleure vitesse de croissance en début du cycle. La culture de l'orge s'insère bien dans les milieux caractérisés par une grande variabilité climatique où elle constitue avec l'élevage ovin l'essentiel de l'activité agricole (Bouzerzour *et al.*, 1998 ; Abbas et Abdelguerfi, 2008).

La culture de l'orge est pratiquée essentiellement sur les hautes plaines, en Algérie. Les superficies qui lui sont consacrées varient d'une année à l'autre avec une moyenne, sur plus d'un siècle (1901-2005), de 1 million d'hectares, une production moyenne variant de 3 à 16 millions quintaux et une moyenne de rendement grain de  $7q\ ha^{-1}$ . Parmi les pays du Maghreb, l'Algérie se classe en seconde position après le Maroc, qui produit plus de 16 millions de quintaux, en

moyenne. La production mondiale de l'orge varie de 120 à 178 millions de tonnes (Tableau 1, Faostat, 2008).



**Figure 3.** Architecture d'un plant d'orge au stade adulte (<http://oregonstate.edu/instruct/css/330/five/BarleyOverview.htm>)

**Tableau 1.** Production (t) mondiale de l'orge et des pays magrébins (Faostat, 2008)

<b>Pays</b>	<b>1970</b>	<b>1980</b>	<b>1990</b>	<b>2000</b>	<b>2008</b>
Algeria	571 438	794 190	833 400	163 287	1 200 000
Egypt	84 000	106 961	142 000	99 392	149 238
Libya	52 807	71 000	141 476	85 000	100 000
Morocco	1 955 200	2 209 670	2 137 640	466 810	1 353 240
Tunisia	151 000	295 800	477 500	241 000	254 000
Monde	119 378 695	156 702 822	177 768 543	133 135 825	157 644 721

## **2. Les effets des stress abiotiques sur la plante**

### **2.1. Le stress hydrique**

Le déficit hydrique est une contrainte permanente de la production agricole dans de nombreux pays au climat de type méditerranéen. Elle est à l'origine des pertes de production agricole dans de nombreuses régions. Les risques du manque d'eau sont et deviendront de plus en plus fréquents et persistants, à l'avenir, par suite des changements climatiques causés par l'effet de serre (Witcombe *et al.*, 2009). Passioura (2004) définit le déficit hydrique comme étant les circonstances dans lesquelles les plantes accusent une réduction de croissance et de production suite à une alimentation hydrique insuffisante.

Tardieu (2005) mentionne que le statut hydrique de la plante passe progressivement par trois principales phases, selon le développement du stress hydrique. Au cours de la phase initiale, la transpiration et l'assimilation se déroulent comme si la plante dispose de l'eau à volonté. Cette phase se poursuit jusqu'au moment où le niveau d'absorption racinaire ne peut plus satisfaire la demande climatique que subit le feuillage. La réserve utile du sol est alors épuisée à 50 %. Après ce seuil, la plante entre dans la seconde phase, au cours de laquelle la transpiration et l'assimilation sont réduites relativement au potentiel.

La plante réagit de façon dynamique au cours de cette phase, pour rétablir l'équilibre entre la demande climatique et l'offre du sol, faisant intervenir des mécanismes qui lui sont propres dont le développement du système racinaire, la régulation stomatique et/ou l'ajustement osmotique. Quand le déficit hydrique devient plus intense, alors la plante entre dans la troisième

et dernière phase au cours de laquelle les stomates se ferment complètement, annulant toutes activités photosynthétiques. Toutes les pertes hydriques de la plante se font alors à travers les voies non stomatiques (cuticule). Il n'y a plus de gain de matière sèche, la respiration consomme les hydrates de carbone stockés et la plante passe au stade de survie. La période de survie dépend du rythme de la transpiration résiduelle et de la tolérance à la dessiccation des tissus vivants restants. Selon Kameli et Losel (1996) la croissance s'arrête avant qu'aucun abaissement notable ne soit perceptible dans le contenu relatif en eau. Le premier effet du déficit hydrique est de réduire la vitesse de croissance des cellules de la tige.

Le déficit hydrique induit le dépôt de cire sur le limbe et la gaine de certaines variétés de céréales. Ce dépôt est d'autant plus marqué que l'environnement est plus sec. L'inflorescence des céréales est relativement protégée de l'évaporation par des surfaces protectrices comme une cuticule épaisse qui fait que le statut hydrique des inflorescences est meilleur que celui des feuilles (Shepherd et Griffiths, 2006). Le déficit hydrique provoque la réduction du nombre de grain par épi, du nombre d'épis par plant, du poids moyen du grain, de l'indice de récolte et du rendement grain (Chenafi *et al.*, 2006).

Sous stress hydrique, la matière sèche augmente progressivement, mais elle reste sous le seuil de 50%, comparativement à l'évolution de la matière sèche du témoin non stressé. Cette réduction est assez conséquente pour affecter significativement le rendement grain (Bouzerzour et Benmahammed, 2009). Le déficit hydrique affecte significativement les composantes du rendement. Le rapport poids des racines/ poids des tiges augmente chez les plantes exposées au déficit hydrique, à cause de la croissance racinaire au détriment de la partie aérienne (Benmahammed *et al.*, 2008). Parmi les solutés, accumulés sous stress hydrique, on note une augmentation des sucres solubles, des acides aminés comme la proline et à un degré moindre la glycine- bêtaïne, dont le rôle est la protection des membranes (Hussain, 2006).

## **2.2. Le stress thermique**

Le seuil mis en cause dans le cas du stress des hautes températures est variable en fonction du stade végétatif de la plante et de l'interaction avec le stress hydrique. Rawson *et al.*, (1993) montre que l'effet pénalisant de l'élévation de la température est surtout dû au fait que la plante

n'arrive pas à absorber les éléments nutritifs et l'eau, et les utiliser, au rythme imposé par le stress thermique. On note une réduction du nombre de plantes levées par unité de surface, suite aux effets des hautes températures lors de la période du semis. L'effet des hautes températures au semis se matérialise par une réduction de la longueur de la coléoptile. La plante ne peut, alors, s'ancrer en profondeur et devient sensible aux effets du stress thermique.

Hauchinal *et al.* (1993) observent une réduction du rendement grain des semis tardifs, liée à une diminution du nombre d'épis et du poids moyen du grain, causée par les effets des hautes températures en fin de cycle. Ils notent aussi que l'effet pénalisant du stress thermique se matérialise par une accélération du développement et une réduction des dimensions des organes constitutifs de la plante. La résultante est un effet négatif sur la productivité globale de la plante.

L'élévation de la température, tard au cours du cycle de développement de la plante et particulièrement après l'anthèse, est une contrainte à l'augmentation des rendements en zone semi-aride. L'effet se manifeste par une accélération de la sénescence foliaire et l'arrêt de la croissance du grain (Haddad, 2010). La température optimale pour le développement et le remplissage du grain des céréales d'hiver varie de 12 à 15°C (Wardlaw et Willimbrink, 1994). Une diminution de 3 à 5% du poids du grain pour chaque degré centigrade d'augmentation de la température à partir de la base des 15°C, est notée.

L'abaissement brutal de la température, en dessous de 0°C, provoque de nombreuses perturbations au sein du végétal. Lorsque la température chute fortement, des cristaux de glace se forment dans les espaces intercellulaires déshydratant les cellules dont l'eau migre vers ces espaces. La membrane plasmique perd sa spécificité et il y a arrêt du fonctionnement cellulaire. La réversibilité du phénomène n'a lieu que si la structure cellulaire n'est pas fortement endommagée. Lors du dégel, les cellules intactes se réhydratent et redeviennent fonctionnelles.

Abbassenne *et al.*, (1997) observent une chute de la fertilité des épis des semis précoces qui est liée aux effets des basses températures au cours du stade gonflement. Gate (1995) mentionne que les températures minimales inférieures à -4°C, de la période stade épi-1cm stade 2 nœuds, affectent le nombre de grains/épi. Mekhlouf *et al.*, (2006) mentionnent qu'en régions méditerranéennes semi-arides, les gelées printanières touchent surtout les variétés précoces au

stade début monté, détruisant l'épi du brin maître. Les dégâts sur racines se manifestent particulièrement sur la croissance du rhizome.

## **2.2. Le stress salin**

Munns *et al.*, (2006) mentionnent que le feuillage de l'orge soumise au stress salin est affecté dès l'imposition du stress par l'effet du manque d'eau et non par l'effet ionique du sel. Les effets ioniques ne sont visibles qu'une semaine à 10 jours après imposition du stress salin. Dans le cas où le niveau de stress est intense et que la plante possède une faible capacité d'exclusion des ions mis en cause (Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>) les effets apparaissent sur les feuilles âgées où les ions Na<sup>+</sup> et/ou Cl<sup>-</sup> s'accumulent dans le cytoplasme et induisent l'inhibition enzymatique.

Ils affectent aussi la structure de la membrane, déshydratent la cellule après que la vacuole soit fortement concentrée. Les mécanismes contrôlant la tolérance sont de deux types: ceux minimisant l'entrée des ions toxiques et ceux minimisant l'accumulation des ions toxiques dans le cytoplasme. Les espèces halophytes possèdent les deux mécanismes. Elles excluent les ions toxiques et les compartimentent aussi dans la vacuole où ils font le moins de dégâts.

La salinité devient de plus en plus un important facteur limitant la production des végétaux dans les zones arides et semi arides. La tolérance à ce type de stress est considérée comme une caractéristique quantitative sous contrôle génétique de gènes mineurs (Cuin *et al.*, 2008). L'amélioration de la résistance à ce type de stress selon le processus de sélection classique est peu efficace (Houshmand *et al.*, 2005). Des stratégies alternatives sont recherchées dont entre autre la production des plantes transgéniques (Moose et Mumm, 2008.) ; la régénération de plantes acquérant la tolérance à la salinité après sélection *in vitro* (Bouharmont, 1989).

L'utilisation d'un matériel végétal obtenu par sélection *in vitro* demeure cependant une alternative controversée. En effet s'il est facile de sélectionner des lignées cellulaires tolérantes à la salinité *in vitro*, la tolérance acquise se perd une fois ce matériel végétal est utilisé en milieu peu ou non salin (Santos *et al.*, 2000). Une des raisons du peu de succès de la sélection *in vitro* réside dans l'absence de distinction entre les cellules adaptées des vrais mutants (Bajji *et al.*, 2002).

Il semble en effet que la soumission graduelle des cellules végétales à la salinité est inefficace dans la sélection des mutants tolérants au stress salin (Lutts *et al.*, 1996). Ceci parce que les cellules non tolérantes peuvent entreprendre une adaptation par épigénie au gradient de salinité imposé (Lutts *et al.*, 1996). Par conséquent cette adaptation voile la sélection des vrais mutants porteurs de la tolérance d'origine génétique (Lutts *et al.*, 1996).

### **2.3. Similitude entre les stressés abiotiques**

L'ensemble des stress, qu'ils soient de nature thermique, hydrique ou saline, provoquent des modifications de l'état physique des membranes cellulaires. L'intégrité des canaux membranaires est rompue ce qui entraîne la dé-compartmentation et la fuite de solutés. L'assemblage des protéines des systèmes respiratoires, des photosystèmes et des systèmes métaboliques est déstructuré (Cattivelli *et al.*, 2008).

Sous l'effet de ce stress, la perte d'eau entraîne une augmentation de la concentration en soluté du cytoplasme provoquant ainsi un abaissement de son point de fusion de 1 à 2 °C (Burke *et al.*, 1976). La synthèse de nouvelles protéines constitue une réponse connue à ces stress. En effet l'induction de nouvelles protéines n'est pas limitée au choc thermique (Heat shock proteins), d'autres stress, y compris ceux provoqués par des températures basses, le déficit hydrique, la salinité et l'anoxie, induis artificiellement par du PEG, provoquent aussi la synthèse de nouvelles familles de protéines (Cattivelli *et al.*, 2008).

Les solutés qui contribuent à l'ajustement osmotique chez les halophytes sont les même solutés dont la proline, la bétaine et le sorbitol qui s'accumulent en réponse au stress hydrique (Yeo et Flowers, 1983). Il est souvent difficile de séparer les effets de la salinité de ceux engendrés par un faible potentiel hydrique ou par des interactions complexes avec d'autres ions.

## **3. Mécanismes d'adaptation des plantes aux stressés abiotiques**

L'adaptation se définit comme la capacité d'une plante à croître et à donner des rendements satisfaisants dans des zones sujettes à des stress de périodicités connues. La notion d'adaptation est liée à celles de résistance et de tolérance aux stress. Pour Levitt (1980), l'adaptation prend trois formes distinctes. L'esquive, qui est la situation où la plante grâce à un rythme de

développement spécifique, réussit à s'harmoniser à l'environnement de production, en échappant partiellement ou complètement au stress.

L'évitement prend forme grâce au maintien, par divers mécanismes, d'un état interne satisfaisant. Cet état permet à la plante de continuer ses activités métaboliques sans être fortement perturbée par le milieu extérieur qui peut être très stressant. La tolérance du stress qui s'installe dans les tissus de la plante est la capacité de maintenir une activité métabolique. Cette activité assure l'intégrité fonctionnelle aux structures cellulaires et autorise la reprise des activités de la plante dès que les conditions de croissance redeviennent plus normales.

Les termes résistance, tolérance et adaptation sont indifféremment utilisés dans la littérature. Reprenant les formes d'adaptation aux stress abiotiques définies par Levitt (1980), Belhassen *et al.*, (1996) les classifient en trois grands types d'adaptation aux stress et qui sont (1) l'échappement ou esquive qui consiste à réaliser le cycle pendant la période favorable, (2) l'évitement de la déshydratation (ou résistance) qui permet le maintien d'un potentiel hydrique élevé dans la plante et (3) la tolérance à la déshydratation qui consiste en un ensemble d'aptitudes à résister aux effets d'un faible potentiel hydrique.

### ***3.1. L'esquive ou échappement***

L'exploitation de l'esquive comme stratégie d'adaptation aux stress s'est faite dans le contexte agricole en cherchant à faire coïncider le développement de la culture ou du moins les phases les plus sensibles avec les périodes où le stress est moins intense. Ceci s'est fait par des études de l'influence de la variabilité de la durée des phases de développement sur la productivité de la plante, dans le but de déduire la durée la plus optimale pour que les stades sensibles puissent se réaliser à des périodes où les risques de stress sont moins pénalisants (Witcombe *et al.*, 2009).

Parmi les changements qualitatifs que subit la céréale pendant sa vie, les plus importants sont certainement le début de la montaison et l'épiaison. Blum (1996) souligne qu'une longue durée de croissance est associée avec une biomasse élevée et que les génotypes tardifs ont une productivité potentielle supérieure. Cependant, comme la sécheresse et les hautes températures de fin de cycle sont des caractéristiques dominantes des zones semi-arides, il est souvent plus

judicieux de privilégier la sélection de la précocité (esquive), suite à la liaison positive entre degré de précocité au stade épiaison et rendement grain sous de telles conditions de culture (Richards *et al.*, 2002 ; Araus *et al.*, 2003).

Abbassenne *et al.* (1997) montrent, en conditions semi-arides d'altitude, que les génotypes précoces à l'épiaison se caractérisent par des vitesses de remplissage par m<sup>2</sup> élevées, alors que les génotypes tardifs font plus appel aux assimilats stockés dans la tige. Une grande précocité n'est, cependant, d'aucune utilité pratique en sélection dans les régions où la présence du gel tardif affecte les génotypes trop précoces (Ceccarelli *et al.* 1998 ; Mekhlouf *et al.*, 2006).

Abbassenne *et al.* (1997) préconisent, pour les régions semi-arides, des génotypes tardifs à l'épiaison et précoces à maturité. Ces variétés minimisent le risque vis-à-vis de la contrainte des basses températures printanières. Les génotypes tardifs valorisent peu, sous forme de grains produits par unité de surface, la matière sèche totale accumulée au stade épiaison. Ces variétés investissent peu d'hydrates de carbone dans les épis et à cause des effets des stress thermique et hydrique, beaucoup de leurs talles avortent (Abbassenne *et al.*, 1997 ; Brancourt-Humel *et al.* 2003).

La stabilité de la précocité au stade épiaison est importante pour limiter les risques liés à la variabilité climatique (Hadjichristodoulou, 1987; Abbassenne *et al.*, 1997 ; Mekhlouf *et al.*, 2006). Les génotypes précoces ont tendance à épier plus tôt ou plus tard, selon que l'hiver est plus doux ou plus rigoureux (Bahlouli *et al.*, 2005). Par contre les variétés tardives sont caractérisées par des dates d'épiaison plus régulières.

Bahlouli *et al.*, (2005) ont noté que les génotypes tardifs épient à une date plus ou moins fixe quelque soit l'année. Ceci s'explique par le fait que les génotypes précoces répondent plus aux sommes des degrés jours accumulées, alors que les génotypes tardifs répondent en plus aux températures vernales et à la photopériode (Worland *et al.* 1994).

### **3.2. L'évitement de la déshydratation des tissus**

L'évitement représente la capacité du génotype à maintenir un statut hydrique ou thermique foliaires élevé quand il est soumis aux stress. Dans le cas du stress, l'évitement est lié

à la réduction des pertes en eau par fermeture partielle ou totale des stomates ou au maintien de l'absorption de l'eau, grâce à un système racinaire mieux adapté (Richards *et al.* 1997). Dans le cas du stress thermique, il est lié à la réduction de la température de la canopée (Reynolds *et al.*, 2005). La sénescence foliaire est un mécanisme qui intervient au niveau de la plante entière pour réduire des effets de stress. Bensemane *et al.*, (2011) trouvent des différences dans le rythme de sénescence de la feuille étendard.

La capacité de modifier la composition en chlorophylle des feuilles, mesurée par le rapport des chlorophylles de type a et b, a un effet sur la proportion de la lumière incidente. Un rapport faible est associée à une couleur verte foncée (+ de chlorophylle a) notée en début printemps, en présence de stress moins intense. Dès que les conditions de croissance deviennent moins favorables, avec l'installation des stress, la plante reconvertie une partie de la chlorophylle a en chlorophylle b. Elle prend de ce fait une couleur moins foncée, (vert clair) permettant de réfléchir la luminosité reçue et par conséquent de réduire la température foliaire et la transpiration (Reynolds *et al.*, 2005).

Le dépôt de la cire épicuticulaire diminue la perméabilité de la cuticule et augmente l'albédo de la culture. Les lignées glauques ont une transpiration nocturne réduite, une transpiration diurne plus faible, pour un taux de photosynthèse donné, et une température du feuillage plus réduite. Les feuilles glauques réfléchissent une grande partie de la lumière reçue et restent en activité plus longue (Clarke *et al.*, 1992).

La mesure de la température de la canopée a bénéficié d'un certain intérêt comme technique de criblage pour la résistance au stress, particulièrement avec l'avènement du thermomètre infra rouge portable. Reynolds *et al.*, (2005) trouvent que durant les premiers stades de développement, jusqu'au stade épiaison, quand la température de l'air est relativement basse, la température de la canopée est corrélée positivement avec le rendement grain. A partir du stade épiaison et durant la période de remplissage du grain, la température foliaire est corrélée négativement avec le rendement grain. Des températures basses du couvert végétal sont indicatives d'un potentiel hydrique foliaire élevé (Reynolds *et al.*, 2005).

### 3.3. La résistance à la déshydratation des tissus

Le facteur clé de la plante, lié à l'efficacité de la transpiration, est le rapport de la pression partielle du CO<sub>2</sub> dans la chambre sous stomatique et à celle de l'atmosphère. L'activité photosynthétique est la seule cause de la variation du CO<sub>2</sub> interne, son augmentation réduit le ratio [CO<sub>2</sub>interne]/[CO<sub>2</sub>air], et par conséquent la quantité de carbone fixée par unité d'eau utilisée, ou efficacité d'utilisation de l'eau augmente (Ehdaie *et al.*, 1991). La variation du rapport [CO<sub>2</sub>interne]/[CO<sub>2</sub>air] est liée à la variation de la composition d'isotopes de carbone constituant la matière sèche dite discrimination isotopique.

Cette dernière représente le rapport molaire des isotopes de carbone <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/<sup>12</sup>CO<sub>2</sub> appelé  $\Delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ . La discrimination des isotopes du carbone se fait à différents niveaux de la plante. Le CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère comprend typiquement 98,9% de <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> et 1,1 % de <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>. Les plantes absorbent le <sup>12</sup>CO<sub>2</sub>, plus léger, à un rythme plus rapide que le <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>, plus lourd. Ceci s'explique, en partie, par la diffusion plus lente de <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> à travers les pores stomatiques et aussi à cause de la discrimination contre le <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> par l'enzyme de la carboxylation primaire, la ribulose bi phosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco).

La Rubisco utilise le <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> plus rapidement (>1000 fois) qu'elle n'utilise le <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>. La mesure de  $\Delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  offre des avantages sur les mesures des échanges gazeux. Elle reflète une mesure intégrative du rapport [CO<sub>2</sub>interne]/[CO<sub>2</sub>air] tout le long de la période de croissance. Plusieurs études sur une large gamme d'espèces ont confirmé que l'efficacité d'utilisation de l'eau est négativement corrélée à  $\Delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  (Araus *et al.*, 2003 ; Condon *et al.*, 2004). Adjabi *et al.*, (2007) rapportent l'absence d'association entre le rendement grain et la discrimination isotopique du carbone chez le blé dur

Classiquement considéré comme une hormone de stress, l'ABA joue un rôle majeur dans l'évitement du stress par son action sur la fermeture stomatique, sur la réduction de l'élongation des feuilles et sa promotion de l'extension des racines (Tardieu, 1996). La déshydratation ou le traitement à l'ABA des tissus mènent à une synthèse massive de nouvelles transcriptions protéiques. Ces transcriptions codent pour la synthèse de polypeptides de protéines dites LEA (Late Embryogenesis Abundant proteins) protéines, qui s'expriment dans le grain en cours de

maturation (Blum, 1996). Alors que d'une manière générale, la synthèse des protéines diminue lors du stress, le fait qu'une certaine priorité soit donnée à la synthèse des protéines de stress, dont les LEA protéines, suggère que ces protéines confèrent un avantage métabolique à la cellule (Cattivelli *et al.*, 2008).

L'ajustement osmotique (AO) maintient l'ouverture stomatique et l'assimilation du CO<sub>2</sub> (Kameli et Losel, 1996). Elle améliore l'EUE, retarde la sénescence, et maintient le transfert des assimilés vers le grain, augmentant par conséquent l'indice de récolte (Araus *et al.* 1999). Selon Condon *et al.*, (2004), l'AO et le rendement grain, chez les céréales, sont corrélés sous une large gamme de stress. La capacité d'ajustement osmotique élevée améliore le rendement grain à des niveaux allant de 11 et 17 % par rapport au rendement des génotypes présentant une faible capacité d'AO.

Parmi les composés organiques et minéraux qui interviennent dans l'ajustement osmotique, on évoque fréquemment les nitrates, le potassium, les acides organiques, les sucres solubles et la proline (Monneveux 1991). Les ions inorganiques, comme le potassium, expliquent une grande part de la variation du potentiel osmotique foliaire des plantes non stressées où la quantité de solutés organiques est relativement faible.

Ces ions n'interviennent pas significativement dans le changement du potentiel osmotique induit par le stress (Kameli et Losel, 1996). Sous stress hydrique, ce sont les sucres solubles, et plus particulièrement le glucose, qui contribuent le plus à l'ajustement osmotique (Kameli et Losel, 1996). La photosynthèse qui est vraisemblablement la source principale de solutés organiques qui s'accumulent sous stress hydrique (Kameli et Losel, 1996).

#### **4. La sélection de l'orge pour la tolérance aux stress abiotiques**

L'objectif de la sélection est l'identification de nouvelles lignées qui portent un ensemble de caractéristiques désirables leur permettant d'être adoptées comme variétés agricoles, sans de grands risques pour les producteurs. Elles doivent produire plus pour réduire les coûts de production au niveau de l'exploitation et surtout doivent se distinguer par une meilleure régularité des rendements en grains et une nette amélioration de la qualité du produit récolté (Bonjean et

Picard, 1990). La diminution des coûts de production, en zones sèches et variables, passe par l'adoption de variétés relativement plus plastiques et plus adaptées qui valorisent des itinéraires techniques moins intensifs, et tolèrent un climat de nature variable (Bouzerzour *et al.*, 1998).

#### **4.1. La sélection pour améliorer le rendement grain**

La productivité est définie comme la capacité de produire plus. C'est une notion relative. En sélection, elle désigne souvent le rendement grain. Une variété productive ne l'est, en fait que par rapport à une autre variété qu'elle remplace et à laquelle elle est comparée. Cette dernière est alors utilisée comme témoin de référence. L'amélioration du rendement grain est généralement abordée de manière directe ou indirecte. La sélection directe utilise le rendement lui-même qui est mesuré après la mort de la plante. La sélection indirecte utilise les composantes du rendement (Laala *et al.*, 2010) La sélection du rendement grain n'est efficace que si les conditions de milieu qui ont permis la réalisation d'un rendement grain donné, se répètent de façon régulière (Ceccarelli *et al.*, 1998 ; Kadi *et al.*, 2010).

#### **4.2. La sélection pour améliorer l'adaptation**

L'adaptation fait suite à l'action modificatrice des facteurs extérieurs qui influencent le comportement et la structure de la plante. L'adaptation est définie aussi comme la capacité d'une plante à croître et à donner des rendements satisfaisants dans des zones sujettes à des stress de périodicités connues (Monneveux, 1991). La notion d'adaptation se confond parfois avec celles de résistance et de tolérance au stress. En fait l'adaptation n'est que la résultante de la tolérance aux contraintes. Une plante adaptée est donc celle qui tolère ou résiste à un stress donné et réussit à produire à un niveau satisfaisant par rapport à une autre plante qui sera dite non adaptée (Ceccarelli, 1987).

La sélection pour l'adaptation ou pour la tolérance aux stress abiotiques; de nature ionique, hydrique, thermique et lumineuse; suit plusieurs voies dont entre l'utilisation de la phénologie (Acevedo *et al.*, 1991), la morphologique (Hanson *et al.*, 1985; Sharma et Smith, 1986) et la physiologique ( Farquhar *et al.*, 1994, Richards *et al.* 1997, Araus *et al.* 1998), ainsi

que le comportement global de la plante vis à vis de la variation environnementale, telle que mesurée par les indices (Benmahammed *et al.* 2005 ; Benmahammed *et al.*, 2010a).

### **4.3. La sélection assistée par des marqueurs**

La découverte des marqueurs moléculaires de l'ADN nucléaire ouvra une nouvelle aire pour la sélection classique. Elle rendit possible l'identification et l'étiquetage de certains gènes, plus efficace la gestion et la manipulation de la variabilité génétique pour construire des génotypes cumulant des gènes favorables. Grâce aux marqueurs nucléaires, il devient, en effet possible, d'une part, de mieux lire le génotype à travers le phénotype et, d'autre part, de contrôler les recombinaisons entre locus en cause. Ceci est d'autant plus intéressant que les marqueurs moléculaires sont relativement peu influencés par la fluctuation environnementale. Ils sont aussi indépendant de l'organe mesuré ou analysé et du stade de développement du sujet concerné (Gallais, 1994; Eagle *et al.*, 2002; Najimi *et al.* 2003).

La sélection assistée par des marqueurs (SAM) devient de plus en plus un complément nécessaire aux schémas de sélection classique d'amélioration des céréales (Hospital, 2001). Cette technique a été utilisée de manière avantageuse dans l'amélioration de la résistance aux maladies et aux insectes (Langridge *et al.*, 2001). Les marqueurs sont, en effet, considérés comme des caractères liés au caractère principal à sélectionner. Paterson *et al.*, (1990) montrent l'existence de QTL (quantitative traits loci) spécifiques pour l'adaptation à certains milieux. Pour obtenir donc, des variétés stables, il faut accumuler dans un même fond génétique, le maximum de QTL d'adaptation. La SAM devrait permettre d'identifier plus rapidement et avec plus de sécurité de tels génotypes.

Les études génétiques classiques ont montré que l'acclimatation aux stress chez les plantes est un caractère quantitatif impliquant l'action de plusieurs gènes ayant des effets additifs (Thomashow, 1990). Au cours des dernières années, trois approches importantes ont été utilisées pour déterminer la nature de gènes qui ont un rôle dans l'acclimatation au froid: l'isolement et la caractérisation de gènes régulés pendant l'acclimatation; l'isolement et la caractérisation de mutants associées à la tolérance au froid, et la détermination des QTL ayant un rôle dans la tolérance (Thomashow, 1990).

Selon plusieurs chercheurs, le mécanisme par lequel la plante commencerait à s'acclimater, serait le suivant: 1- le froid est détecté par la membrane plasmique ou le chloroplaste, 2- un signal est ensuite envoyé grâce à une cascade de kinases et de phosphatases, 3- cette cascade induit l'activation de facteurs de transcription spécifiques qui, à leur tour, activent la transcription de nombreux gènes COR « cold-regulated » en se liant au motif de liaison DRE/CRT présent dans leur promoteur. L'expression de ces gènes serait alors responsable du développement de la tolérance au froid (Breton *et al.*, 2000).

Des études ont permis de classer les protéines identifiées en différentes catégories selon leur fonction (Breton *et al.*, 2000). Le premier groupe de protéines intègre une grande famille de protéines qui sont les LEA. Ces polypeptides sont synthétisés à la fin de l'embryogenèse, ce qui leur confère leur nom, leur nature est hydrophile (Thomashow, 1990). Ils sont aussi souvent associés à un stress hydrique, ce qui a permis d'émettre l'hypothèse selon laquelle ces gènes auraient un rôle dans la tolérance au froid en protégeant les membranes de la cellule contre les dommages causés par la déshydratation. Par exemple, la protéine *WCS120* chez le blé (Houde *et al.*, 1992) et *HVA 1* chez l'orge (Hong *et al.*, 1992) font partie des groupes II et III de la famille des LEA.

Sarhan *et al.*, (1997) ont étudié l'expression du gène *WCS120* au cours de l'acclimatation au froid chez différents cultivars de blé. Les résultats ont montré que le niveau d'induction du gène *A4Oc* chez les cultivars de printemps était inférieur à celui observé chez les cultivars d'hiver. De plus, le niveau d'expression du gène *WCS120* est corrélé avec le développement de la tolérance au froid. D'autres protéines homologues aux protéines LEA comme la protéine *COR15a* chez *Arabidopsis* (Lin et Thomashow, 1992) et *Cas15* chez la luzerne (Monroy *et al.*, 1993) sont aussi associées à la tolérance au froid.

Les gènes COR (Cold-Regulated) comptent dans leur région promotrice plusieurs copies d'éléments *cis* nommés DRE/CRT (Dehydration Response Element / C-Repeat binding factor) (Thomashow, 1990). Ces éléments sont liés par des facteurs de transcription lors d'une exposition à basse température. Ces facteurs ont été clonés chez *Arabidopsis*, le blé, le seigle, l'orge et la tomate (Jaglo *et al.*, 2001; Choi *et al.*, 2000). Il y a aussi les protéines antigels ou AFP (antifreeze proteins) qui s'accumulent dans l'apoplaste, où les premiers cristaux de glace se forment lors de

l'acclimatation. Ces protéines auraient un rôle dans l'inhibition de la formation des cristaux de glace entre les cellules de la plante. Le deuxième groupe de protéines inclut des enzymes qui ont un rôle dans la réponse anti oxydative, la biosynthèse de différents osmo protecteurs et dans la dé-saturation de lipides.

Les espèces réactives d'oxygène (ROS), dont la formation est accélérée dans les conditions de stress, doivent être rapidement neutralisés pour éviter des dommages oxydatifs. La durée de vie des ROS ou des radicaux libres dans l'environnement cellulaire est déterminée par le système anti oxydatif, qui fournit la protection cruciale contre le dommage oxydatif. Une protection contre les dommages oxydatifs est aussi assurée par des métabolites et par de nombreuses enzymes. Une étude réalisée pour comparer les enzymes des tissus acclimatés au froid par rapport à celles des tissus non acclimatés a montré que l'activité de la peroxydase augmentait dans les tiges acclimatées (Guy, 1990).

La superoxyde dismutase (O<sub>2</sub>-2) est une enzyme qui catalyse la transformation de l'anion superoxyde en O<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et réduit ainsi le niveau des espèces réactives d'oxygène dans la cellule (McKersie *et al.*, 1993). Des niveaux élevés de molécules enzymatiques comme l'ascorbate peroxydase, la glutathion réductase, la mono dehydro ascorbate réductase et la déhydro ascorbate réductase s'accumulent chez le pin pendant l'acclimatation au froid (McKersie *et al.*, 1993).

Le troisième groupe de protéines inclut de nombreuses protéines qui ont un grand rôle dans la régulation de l'expression des gènes et dans la transduction des signaux. Par exemple, la protéine *TaVRT-1* qui fait partie de la famille des MADS chez le blé) a un rôle important dans la vernalisation et la protéine kinase OsCPK2 chez le riz est détectée dans les membranes lors de l'acclimatation (Danyluk *et al.*, 2003). L'expression des protéines de la sous famille DREB est aussi observée chez les blés lors de l'acclimatation, ce qui suppose un rôle au niveau de l'acquisition de la tolérance au froid.

Le clonage des facteurs de transcription CBF 1/DREB 1A par Thomashow (1990) a été un point tournant important dans le domaine de la génétique moléculaire sur l'acclimatation au froid. L'expression de *CBF1* chez des plantes transgéniques *d'Arabidopsis* a été associée à une régulation positive de l'expression des gènes *COR*. Au cours de cette expérience, il a été

démontré que ces plantes avaient acquis une augmentation importante de leur tolérance au froid. Les facteurs de transcription végétaux sont donc des protéines de régulation qui activent ou inactivent les mécanismes pluri génétiques, qui ont pour effet de changer de nombreuses propriétés chez la plante.

Les membres de la famille de facteurs de transcription AP2/ EREBP ont différents rôles dans le cycle de vie de la plante, comme le développement des organes ou l'identité cellulaire. L'expression de ces gènes est influencée par de nombreux stress et leurs rôles sont cruciaux pour la survie de la plante. L'importance de leur rôle fait de ces gènes des sujets de recherche importants pour la compréhension de la tolérance aux stress abiotiques comme la tolérance au gel. Shinozaki et Yamaguchi-shinozaki (2000) ont identifié 145 protéines DREB/ERF chez *Arabidopsis*, qui sont groupées en 5 sous-familles: AP2 (APETALA2), RAV, DREB, ERF et autres. Cette classification a été basée sur des similitudes des acides aminés des domaines de liaison AP2.

#### **4.4. Le génie génétique**

L'introduction directe d'un petit nombre de gènes par génie génétique offre une alternative attrayante et une approche rapide pour l'amélioration de la tolérance aux stress abiotiques. La stratégie basée sur le génie génétique repose sur le transfert d'un ou plusieurs gènes qui codent soit pour un processus biochimique soit comme terminateurs de la voie des signaux de transcriptions (Thomashow, 1990).

Les produits résultants de l'action des gènes introduits apportent une certaine protection, directe ou indirecte, vis à vis des stress abiotiques (Thomashow, 1990). Dans ce contexte les gènes codant pour les LEA, qui s'accumulent au cours de la dessiccation du grain dans les tissus végétaux, lorsque la plante expérience le déficit hydrique, émergent récemment comme des candidats attractifs pour le génie génétique de la tolérance au manque d'eau (Thomashow, 1990).

L'approche transgénique a été utilisée avec succès. La plus part des stress induisent la production des oxydants. La surproduction des enzymes détoxifiants tels que les superoxydases dismutases a été une des première approches d'évaluation de la tolérance globale des plantes aux

stress (Alscher *et al.*, 2002). Il en est de même de la surproduction des osmotocums compatibles comme le trehalose (Jang *et al.*, 2003) et la glycine betaine (Chen et Murata, 2002) qui ont un effet protecteur vis-à-vis des stress, effet qui fait suite à la capacité antioxydants de ces osmotocums.

La recherche actuelle se concentre sur la compréhension des signaux induits par le stress. Plusieurs facteurs de transcription et de transduction ont été identifiés (Zhu *et al.*, 2004; Shou *et al.*, 2004). La tolérance au stress semble liée à la surproduction de ces facteurs (Datta, 2002). Une autre approche dans le domaine de la recherche de la tolérance est de bloquer la mort cellulaire induite par le stress. Ainsi une surproduction des suppresseurs de la mort des cellules conduit à l'identification de plantes qui se caractérisent par une nette amélioration de la tolérance aux divers stressés comme les UV, les basses températures, le déficit hydrique et les oxydants (Awada *et al.*, 1995 ; Moon *et al.*, 2005).

L'aspect énergétique de la plante soumise au stress est peu étudié. Les stressés induisent pourtant une forte consommation d'énergie et augmentent la respiration, source de production d'oxydants. Lorsque les stressés sont intenses ou persistants, un niveau élevé de consommation d'énergie est atteint, correspondant à un seuil de dommage non réparable pour la cellule qui meurt ainsi que l'organe voire la plante entière.

Ceci conduit à faire l'hypothèse que si on arrive à minimiser le coût énergétique lié à l'imposition du stress, en améliorant l'efficacité d'utilisation de l'énergie sous stress, la plante ou la cellule peut supporter des stress intenses ou bien elle arrive à s'acclimater à de tels événements. Le processus conduisant à une forte déplétion de l'énergie sous stress est l'activation des polymérase (PARP). Cette activité est induite lorsque les radicaux oxydatifs causent des dommages à l'ADN. Les PARP synthétisent des polymères d'ADP - Ribose, actifs sur un grand nombre d'enzymes nucléaires, en utilisant le NAD comme substrat (Bakondi *et al.*, 2002).

Des expériences sur *Arabidopsis thaliana* montrent que l'altération de l'ADN causée par le stress oxydatif induit une accumulation massive des transcrits PARP dans tous les tissus de la plante. Ainsi Amor *et al.*, (2005) montrent que, dans une culture cellulaire de soja exprimant l'anti-sens PARP<sub>2</sub> mARN, la production cellulaire de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est inhibée. Deblock *et al.*, (2005)

montrent que sous stress sévère, la plante produit des PARP dont l'activité consomme le  $\text{NAD}^+$  et induit une intense respiration mitochondriale. En réduisant l'activation des PARP, la consommation des  $\text{NAD}^+$  est inhibée prévenant une forte consommation énergétique sous forme d'ATP pour leur régénération. Dans de telles situations la plante garde un équilibre énergétique, tolérant ainsi mieux le stress auquel elle est soumise.

#### **4.5. La sélection *in vitro***

##### **4.5.1- Généralités sur la culture *in vitro***

Les plantes à l'instar des animaux possèdent la capacité d'altérer leur métabolisme, leur croissance et développement pour s'adapter à leur environnement. Cette plasticité d'adaptation concerne la capacité d'initier la division cellulaire à partir de presque n'importe quel tissu d'un organe quelconque et à partir duquel elle régénère les organes manquants voire la plante entière en réponse aux divers stimuli environnementaux (Gonzalez *et al.*, 2001).

Lorsque les cellules d'une plante sont cultivées *in vitro*, elles expriment généralement un niveau élevé de plasticité qui permet au sujet entier d'être régénéré d'une seule cellule. Cette régénération de l'organisme entier repose sur le fait que la cellule peut, pourvu qu'elle soit mise dans de bonnes conditions de stimuli, exprimer le potentiel génétique de la plante mère. Le maintien de ce potentiel génétique est dit totipotence (Gonzalez *et al.*, 2001). Dans la pratique, identifier les conditions de culture et de stimuli requises pour la manifestation de la totipotence peut s'avérer parfois extrêmement difficile, de ce fait cette recherche est actuellement largement empirique.

Mis en culture *in vitro*, tous les besoins en éléments chimiques et physiques de la cellule végétale doivent être satisfaits par le milieu de culture et l'environnement immédiat. En effet le milieu de culture doit fournir tous les minéraux essentiels requis pour la croissance et souvent il est nécessaire d'apporter des éléments organiques supplémentaires tels que les acides aminés et les vitamines (Mzouri et Amssa, 2002). Certaines cellules végétales, incapables de photosynthétiser doivent trouver une source de carbone dans leur milieu de croissance sous forme de sucre, en plus de l'eau et les facteurs physiques comme le pH, la température et la lumière (Mzouri et Amssa, 2002).

Le milieu de culture est généralement composé de trois parties essentielles, (1) les éléments minéraux fournis sous forme de mélange complexe de sels (2) un supplément organique constitué par des vitamines et de acides aminés et (3) une source carbonée généralement fournie par le saccharose. Pour des raisons pratiques les minéraux essentiels sont subdivisés en macro éléments, micro éléments et une source ferrique. Le milieu de culture est ainsi constitué par un mélange judicieux de ces différentes composantes.

#### **4.5.2. Sélection *in vitro***

La culture *in vitro* de tissus des céréales s'accompagne le plus souvent de la formation de cals, qui peuvent devenir embryogènes, régénérant des poussées feuillées. Le rendement en cals et en embryons somatiques est dépendant de plusieurs facteurs, dont la nature de l'explant utilisé, du génotype donneur et du milieu de culture employé (Zalc *et al.*, 2004). Les explants peuvent être des inflorescences jeunes, des embryons immatures ou des bases de tige. Plusieurs variétés sont souvent testées dans un même travail pour choisir celles qui répondent le mieux aux facteurs étudiés (Ozgen *et al.*, 1998). Des ensemencements sur milieu additionné de 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique) permettent la croissance et le développement de cals pendant de longues périodes allant jusqu'à trois ans (Castillo *et al.*, 1998).

Le nombre de cycles de culture *in vitro* peut induire une variation. Une cytokinine permet d'augmenter la quantité de cals et d'embryons somatiques (Castillo *et al.*, 1998). On utilise souvent la BA (benzylaminopurine) ou la kinétine. Les cals scutellaires se développent bien en présence de 6-furfurylaminopurine (Castillo *et al.*, 1998). L'ajout, au milieu de culture de substances pouvant influencer la callogenèse et l'embryogenèse somatique est rapporté par quelques auteurs (Zalc *et al.*, 2004). L'ajout du polyéthylène glycol (PEG), qui réduit le potentiel hydrique externe, au milieu de culture, permet d'évaluer la tolérance à la sécheresse (Al Bahrany, 2002).

Le chlorure de sodium est utilisé pour tester la tolérance vis-à-vis de la salinité (Lutts *et al.*, 1996 ; Jiang *et al.*, 1998). L'addition de l'azide de sodium et de l'éthyléthanesulfonate mutagène (ESM) se sont avérés efficaces pour produire une grande quantité de vitro-variants (Ganeshan *et al.*, 2003). Certains facteurs physiques, comme la température, jouent encore un rôle important

dans la régénération des plantules à partir d'embryons somatiques (Ganeshan *et al.*, 2003). L'addition d'extraits fongiques au milieu de culture *in vitro* est une technique utilisée pour évaluer la résistance aux agents pathogènes.

## **CHAPITRE II**

**EVALUATION DE LA TOLERANCE DE L'ORGE (*Hordeum vulgare* L.)**

**AUX STRESS ABIOTIQUES :**

**ANALYSE DE L'INTERACTION GENOTYPE - MILIEUX**

---

**Résumé.** Des expérimentations d'orge (*Hordeum vulgare* L.) ont été conduites, avec 13 génotypes et lignées avancées dans deux environnements et au cours de cinq années consécutives sous conditions semi arides, pour étudier l'interaction génotype x environnement et la stabilité du rendement grain. Les modèles de la régression conjointe et l'AMMI ont été utilisés pour l'interprétation de l'interaction, la stabilité a été approchée par l'analyse des scores des deux premiers axes principaux, le coefficient de régression, la déviation de la régression, la variance de Shukla et l'indice de réliabilité. Les résultats indiquent une interaction GxE significative, dont 26.8% sont expliqués par la régression, alors que le modèle AMMI en explique 84.7%. Soufara et Rahma sont classés comme instables selon la variance de Shukla. Ces deux génotypes ont un indice de réliabilité moyen et présentent une adaptation spécifique aux environnements favorables. Tichedrett, Saida et Acsad<sub>176</sub>, sont classées comme stables de par les valeurs prises par la variance de Shukla. Ces variétés présentent un indice de réliabilité élevé et montrent une adaptation spécifique aux environnements à faible potentiel de rendement. Le pattern de l'interaction GxE révélé par l'analyse AMMI indique que les génotypes testés montrent une adaptation plutôt spécifique puisque aucun d'eux ne présente des performances de rendement élevées dans tous les environnements tests.

**Mots clés.** *Hordeum vulgare* L., rendement, analyse AMMI, variance de stabilité, réliabilité.

**Abstract.** Barley (*Hordeum vulgare* L.) trials were conducted with 13 cultivars and breeding lines at two locations over 5 growing seasons under semi arid conditions to assess the magnitude of the genotype  $\times$  environment (G $\times$ E) for grain yield and to determine yield stability. Joint regression and AMMI models were used to interpret G $\times$ E pattern, and stability was approached through the scores on the first two principal component axes, the slope, the deviation from regression, the Shukla variance and the reliability index. Results indicated significant G $\times$ E interaction, 26.8% of which was explained by the joint regression while the AMMI model accounted for 84.7%. Soufara and Rahma were classified as unstable according to Shukla's stability variance, had intermediate reliability index; and showed specific adaptation to high yielding environments. Tichedrett, Saida and Acsad<sub>176</sub>, were classified as stable according to Shukla's stability variance, were highly reliable and showed specific adaptation to low yielding environments. The G $\times$ E pattern revealed by the AMMI analysis indicated that the set of barley genotypes had narrow adaptability as no genotype was found to have high performances in all environments.

**Keywords:** *Hordeum vulgare* L., yield, AMMI analysis, stability variance, reliability.

---

## Introduction

L'orge est une culture pluviale, pratiquée principalement sur les hautes plaines semi-arides. Dans cette région le régime pluviométrique est hivernal induisant le développement des stress abiotiques, sécheresse, et hautes températures, en fin de cycle de la culture qui coïncide avec le début de l'été. Sous ces conditions, la performance des cultivars est généralement très variable (Bouzerzour et Dekhili, 1995). La recherche de variétés tolérantes des stress et adaptées à la variabilité climatique qui caractérise le milieu devient un important objectif pour les sélectionneurs de cette région (Benmahammed *et al.*, 2003).

En effet la sensibilité des nouvelles obtentions aux divers stress présents est l'origine de l'interaction génotype x environnements (G x E). Cette interaction, qui induit des performances variables selon les milieux, est attribuée aux différences de phénologie, de rythme de croissance, de besoins en vernalisation et en photopériode et de sensibilité vis-à-vis des facteurs limitants qui caractérise l'environnement de production dont, entre autres, le gel, la fertilité et la salinité des sols, le déficit hydrique, les hautes températures, et la compétitive vis-à-vis des adventices (Lecomte, 2003).

A ces contraintes climatiques, s'ajoutent les contraintes d'ordre techniques qui relèvent de l'utilisation de variétés peu productives et des conduites souvent peu ambitieuses (Nouar *et al.*, 2009). Ainsi le faible niveau de technicité des agriculteurs associé au risque d'obtention de faibles rendements expliquent la mauvaise préparation du sol, la protection insuffisante des cultures contre les prédateurs, les maladies et les mauvaises herbes et le faible niveau d'utilisation des intrants (Feliachi, 2002). Le manque d'eau est toutefois le facteur le plus limitant auquel fait et doit faire face la céréaliculture algérienne. Tout progrès sensible des agro- systèmes, basés sur la culture de l'orge, dans l'étage bioclimatique semi-aride, semble conditionné par une meilleur gestion des eaux pluviales (Chennafi *et al.*, 2006). L'amélioration des performances des cultures, conduites sous stress hydrique, peut être réalisée par des changements agronomiques et/ou par la création de variétés résistantes à ces contraintes (Richards *et al.*, 2002 ; Araus *et al.*, 2003).

Une issue plus prometteuse repose sur l'amélioration génétique des plantes pour une meilleure adaptation aux contraintes environnementales. Jusqu'à présent, la sélection du blé dur

s'est faite en puisant fortement dans les introductions des centres internationaux de la recherche agronomique. Les variétés sélectionnées se comportent bien dans les plaines intérieures et sur le littoral, mais le rendement grain reste très variable sur les hauts plateaux (Safi, 2009). Le progrès génétique réalisé jusqu'à maintenant est assez conséquent, jusqu'à 16.6%, mais il n'est pas valorisé suite au faible taux d'adoption des nouvelles variétés (Nouar *et al.*, 2009). Les variétés nouvelles sont le plus souvent sélectionnées sur la base de leur niveau de rendement sans tenir compte des caractères adaptatifs qui sont des régulateurs de la production en milieux variables. Dans les milieux semi-arides, la présence d'interaction génotype x milieu très forte rend le rendement moins intéressant comme seul critère de sélection (Bahlouli *et al.*, 2005, Benmahammed *et al.* 2010b).

Les sélectionneurs se tournent vers d'autres caractères moins fluctuants qui peuvent être utilisés, en parallèle avec le rendement grain, dans une approche multi caractères, pour combiner potentiel de rendement et adaptation au milieu (Annchiarico et Iannucci, 2008). L'adaptabilité au milieu est un phénomène essentiel chez les plantes qui ne peuvent se déplacer vers un environnement plus favorable (Brancourt-Hulmel *et al.*, 1997). Lin and Binns (1988) définissent l'adaptation comme étant la capacité de montrer des performances régulières dans l'espace (d'un lieu à l'autre) alors que la stabilité est la capacité de montrer des performances régulières dans le temps (d'une année à l'autre pour un même lieu). L'adaptation d'un génotype au milieu peut avoir deux origines: la présence de gènes d'adaptation, ou plus exactement de gènes qui contrôlent les caractères jouant un rôle dans l'adaptation, et le pouvoir tampon lié à la structure génétique de certains génotypes (Romagosa et Fox, 1993).

Il est couramment établi que l'interaction génotype x année x lieu est plus importante que l'interaction génotype x année. Cette dernière est plus importante que l'interaction génotype x lieu. Toutefois, pour raccourcir la durée du processus de sélection, le sélectionneur préfère augmenter de façon importante le nombre de milieux pour compenser l'effet année. En milieu semi-aride, la stabilité du rendement est bien plus importante que le rendement potentiel, car les conditions climatiques et la technologie mise en œuvre pour la production sont très rarement favorables à la culture. On doit donc attacher plus d'importance à la régularité du rendement. La stratégie de sélection fondée sur des rendements moyens à travers des conditions

environnementales différentes est efficace (Finlay et Wilkinson, 1963 ; Eberhart et Russell, 1966 ; Rosielle et Hamblin, 1981).

Plusieurs méthodes sont proposées pour déterminer la stabilité d'une variété. Ces méthodes ont été revues et discutées par Lin *et al.*, (1986) qui classent les méthodes utilisées pour déterminer la stabilité en trois concepts, dits type 1, 2 et 3. La stabilité de type 1 mesure les écarts de l'effet moyen du génotype. Selon ce concept, un génotype est dit stable si sa variance, mesurée sur l'ensemble des environnements où il a été évalué, est nulle (stabilité statique). Un tel génotype performe de manière régulière quelque soit l'environnement. Il est insensible à la variation des milieux.

La stabilité de type 2 est basée sur l'interaction génotype x environnement (dynamique). Un génotype est stable dans ce cas, si sa réponse à la variation environnementale est parallèle à la réponse moyenne de l'ensemble des génotypes avec lesquels il est évalué. Un génotype qui a un coefficient de régression égale à l'unité est dit stable. La stabilité de type 3 est estimée à partir de la résiduelle de la régression ( $S^2_{di}$ ), et dans ce sens, un génotype est stable si sa résiduelle de la régression est nulle.

La première méthode proposée pour estimer la stabilité a été la régression conjointe (Finlay et Wilkinson, 1963 ; Eberhart et Russell ; 1966). Finlay et Wilkinson (1963) groupent les variétés en stables et instables, en fonction des valeurs prises par le coefficient de régression ( $b < 1$ ,  $b = 1$  et  $b > 1$ ). Eberhart et Russell (1966) proposent la résiduelle de la régression comme moyen de mesurer la stabilité. Plus faible est la résiduelle, plus stable est le génotype en question. Wricke (1962) propose l'éco valence comme mesure de la stabilité phénotypique. L'éco valence mesure la contribution du génotype à l'interaction  $G \times E$ . Plus cette contribution est élevée, moins stable est le génotype considéré.

L'utilisation de ces méthodes se heurte au fait que la notion de potentiel de performance n'est pas souvent intégrée dans la mesure de la stabilité. C'est-à-dire que la mesure de la stabilité n'est pas pondérée par la performance potentielle du génotype. En effet, le sélectionneur cherche toujours à éviter les génotypes aux faibles performances, pour faire un progrès génétique quelconque. En plus, il doit développer des génotypes qui sont moins risqués pour une agriculture

de subsistance, donc il doit développer des génotypes aux performances stables, autant que possible. Le plus souvent, la performance est négativement liée à la stabilité.

Le modèle AMMI présente l'avantage de pouvoir prédire le comportement futur des génotypes sur de nouveaux environnements (Zobel et Gauch, 1988). L'analyse AMMI utilise l'analyse de la variance classique pour les effets moyens, suivie d'une analyse en composantes principales de l'interaction. Cette méthode permet de séparer les effets génotypiques du bruit de fond, due à l'erreur. En effet cette analyse subdivise les degrés de liberté des traitements en deux parties, l'une relevant du modèle et l'autre relevant de la résiduelle. Le modèle recouvre le comportement des génotypes (pattern), alors que la résiduelle absorbe le bruit ou erreur (Zobel et al., 1988). Ceci permet d'ajuster les moyennes génotypiques et d'avoir des estimations plus précises.

La présente étude se fixe pour objectifs d'évaluer l'interaction génotype x environnement et d'analyser la stabilité des performances de rendement des variétés d'orge conduites sous conditions semi-arides.

## **Matériels et méthodes**

### *Matériel végétal et dispositif expérimental*

Des essais de comportement d'orge ont été réalisés dans le cadre du programme de sélection de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC), mené par la Station ITGC de Sétif, localisée sur les hautes plaines orientales. Les essais ont été mis en place dans deux environnements représentés par la station de Sétif (36°12'N, 5°24'E, 1023 m asl) et le site de la Ferme Pilote Salah Sersour (35°56' N, 5°32' E, 920 m asl), et ont duré cinq campagnes agricoles (1996, 1998, 1999, 2000, et 2002).

Les deux sites sont localisés dans un milieu semi- aride, à hiver froid et été chaud et sec (Baldy, 1974, Bouzerzour et Dekhili, 1995). Les 13 génotypes testés sont Saïda et Tichedrett, deux variétés Algériennes à 6 rangs; Rihane<sub>03</sub>, un cultivar à 6 rangs, Soufara, Rahma et Tissa, des variétés à 2 rangs, sélectionnées du programme d'amélioration de l'Icarda; Acsad<sub>176</sub>, un génotype à 6 rangs d'origine Syrienne obtenu par Acsad; Barberousse, Jaïdor, Express, et Plaisant, sont des génotypes à 6 rangs, d'origine Française et Tina et Begonia, sont des orges à 6 rangs d'origine Espagnole.

Le matériel végétal a été semé dans un dispositif en blocs complètement randomisés avec quatre répétitions, avec des parcelles élémentaires 12 m<sup>2</sup> (6 rangs, 10 m de long et 0.20 m écartement entre rangs). Les essais sont semés à la mi novembre à une densité de 250 graines m<sup>2</sup>. Les essais dont le précédent cultural est une jachère, sont fertilisés au moment du semis avec 100 kg ha<sup>-1</sup> du triple super phosphate (46% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). 100 kg ha<sup>-1</sup> d'urée (35% N) sont épandus au stade tallage (GS 31, Zadoks *et al.*, 1974). Les adventices sont contrôlés chimiquement, avec du GranStar [*Methyl Tribenuron*], à raison de 12 g ha<sup>-1</sup>, mélangés à 250 litres d'eau.

#### *Variable mesurée et analyse statistique des données*

Les essais sont mécaniquement récoltés pour déterminer le rendement grain qui est analysé par environnement pour tester l'effet génotype. Chaque combinaison site x année est utilisée comme un environnement (E), dans l'analyse combinée, et les données sont analysées selon le modèle suivant:

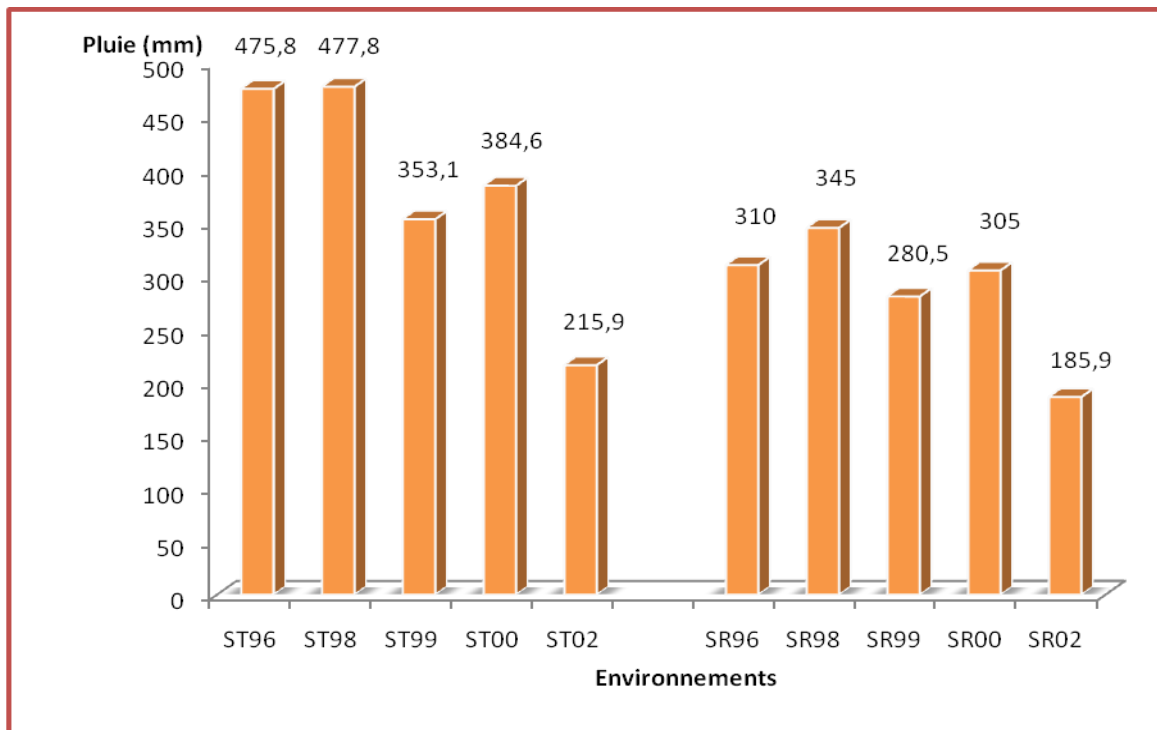
$$Y_{ijk} = m + G_i + E_j + R(E)_{jk} + (G \times E)_{ij} + e_{ijk},$$

où  $Y_{ijk}$  est le rendement mesuré du génotype  $G_i$ , dans l'environnement  $E_j$  et la répétition  $R_k$  hiérarchisée dans l'environnement  $E$ ;  $m$  est la moyenne générale,  $e_{ijk}$  est la résiduelle du modèle associée au génotype  $G_i$ , de la répétition  $R_k$ , de l'environnement  $E_j$ , et  $(G \times E)_{ij}$  est l'interaction associée au génotype  $G_i$  dans l'environnement  $E_j$  (Shukla, 1972 ; Annichiarico *et al.*, 2005). L'interaction  $G \times E$  a été analysée par le modèle de la régression conjointe (Finlay et Wilkinson, 1963 ; Eberhart et Russell, 1966) et le modèle AMMI (Gauch et Zobel, 1992). Le coefficient de régression ( $b$ ), la déviation de la régression ( $S_{di}$ ), le score des premiers axes principaux de l'interaction (IPCA), et la variance de la stabilité de Shukla (1972) ont été utilisés comme mesures de la stabilité. L'indice de la reliabilité ( $I$ ) a été déterminé pour estimer le plus faible rendement escompté par génotype, sur la base de la distribution des rendements observés dans les différents environnements. Cet indice  $I$  a été calculé selon la procédure décrite par Annichiarico (2002). Les différentes analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel CropStat 7.2 (2009).

## Résultats et discussion

### *Variation inter environnements du rendement grain*

Le total des précipitations accumulées du mois de septembre à la fin du mois de juin, varie de 185.9 à 477.8 mm. Le site de Sétif reçoit, en moyenne, plus de pluie que celui de la Ferme pilote Salah Sersour, au cours de l'expérience (Figure 1).



**Figure 1.** Cumuls pluviométriques enregistrés par cycle au cours des différentes campagnes sur les deux sites expérimentaux, Sétif (ST) et Sersour (SR).

Les résultats de l'analyse de la variance des essais, par environnement, montrent un effet génotype significatif. Ceci suggère la présence de la variabilité génétique utilisable en sélection. L'ensemble des environnements montre une grande amplitude de rendement grain, avec une valeur moyenne minimale de 0.97 et un maximum de 5.50 t ha<sup>-1</sup>. La moyenne générale des rendements grains est de 3.04 t ha<sup>-1</sup>. Cette variation assez large du rendement grain est suggestive de celle des conditions de croissance qui induisent des réponses très variées des différents

génotypes évalués. L'analyse de la variance combinée indique des effets principaux environnements et génotypes significatifs ainsi que leurs interactions (Tableau 1).

**Tableau 1.** Analyse de la variance combinée, régression conjointe, et l'analyse AMMI de l'interaction génotype x environnements du rendement grain des 13 variétés testées sur deux sites au cours de cinq campagnes agricoles

Source de variation	ddl	SCE	CME	F-obs	F-test	%SCE
Traitements	129	1131.68	8.77	125.2	**	--
Environnement (E)	9	1040.38	115.60	1926	**	91.93
Blocs/E	30	1.66	0.06	0.81	ns	--
Génotype (G)	12	22.45	1.87	2.94	**	1.98
G x E	108	68.85	0.64	9.30	**	6.08
Hétérogénéité des régressions	12	18.45	1.54	2.96	**	26.80
Déviations de la régression	96	50.40	0.52	7.43	**	73.20
IPCA <sub>1</sub>	20	31.65	1.58	7.52	**	45.97
IPCA <sub>2</sub>	18	16.61	0.92	4.38	**	24.12
IPCA <sub>3</sub>	16	8.86	0.55	2.62	**	12.87
IPCA <sub>4</sub>	14	1.21	0.08	2.00	*	1.76
Résiduelle	40	1.72	0.04	0.57	ns	--
Erreur pondérée	360	24.66	0.07	--	--	--
Totale	519	1158.02	2.23	--	--	--

ns, \*\*, \*\* = effet non significatif et significatif aux seuils de 5 et 1% respectivement

Les combinaisons sites x années, qui représentent l'environnement (E), sont la source de variation la plus importante, absorbant jusqu'à 91.93% de la somme des carrés des écarts (SCE) des traitements, alors que l'effet génotype (G) et l'interaction génotype x environnements (GxE) expliquent, respectivement, 1.98% et 6.08%, de la SCE des traitements (Tableau 1).

Samonte *et al.*, (2005) rapportent que E, G et GxE absorbent, respectivement, 55.4, 17.8 et 26.7% de la somme des carrés des écarts des traitements. Farshadfar et Sutka (2006) mentionnent 86.0, 2.0 et 12.0% pour les mêmes sources de variation. La dimension de la somme des carrés des écarts de l'interaction GxE, exprimée dans la présente étude, est trois fois plus élevée que la somme des carrés des écarts du génotype. Ceci suggère que des différences substantielles existent dans les réponses des génotypes évalués à la variation des milieux, d'où la nécessité de conduire des essais de comportement multi sites et multi années pour identifier les génotypes performants pour le milieu ciblé.

### *Régression conjointe et analyse AMMI de l'interaction du rendement grain*

L'analyse de la régression conjointe explique seulement 26.80% de la somme des carrés de l'interaction G x E, en termes de réponse linéaire à la variation des environnements, avec une déviation de la régression significatif (Table 1). Ces résultats indiquent que l'analyse de la régression est peu apte à expliquer entièrement les types d'interactions G x E exprimés par les données analysées. Ces résultats rejoignent ceux de Farshadfar et Sutka (2006) qui trouvent, eux aussi, que l'analyse de la régression n'explique qu'une faible part de la somme des carrés des écarts de l'interaction.

Selon Powell *et al.*, (1986), les valeurs de la pente de la régression sont indicatrices du degré de stabilité ou du degré de sensibilité de la réponse aux changements des conditions de croissance des différents environnements d'évaluation. Par contre, les valeurs de la pente associées à celles des performances de rendement grain sont indicatrices de l'adaptabilité, selon Annichiarico *et al.*, (2006).

Le test des pentes de la régression indiquent qu'Acsad<sub>176</sub>, Tichedrett et Saïda présentent des valeurs b significativement inférieures à l'unité (Tableau 2). Ces cultivars se caractérisent par des performances de rendement grain inférieures à la moyenne générale de l'expérience, une stabilité au dessus de la moyenne de l'ensemble des génotypes évalués et une adaptation spécifique aux environnements aux faibles potentiels de rendement grain (Tableau 2, Figure 2). Kang (1993) mentionne qu'un coefficient de régression significativement inférieur à l'unité indique une plus grande résistance à la variation environnementale, ce qui induit une stabilité au dessus de la stabilité moyenne de l'ensemble des génotypes testés.

Le coefficient de régression qui caractérise la variété Rahma est significativement supérieur à l'unité, suggérant une plus grande sensibilité à la variation des conditions de croissance des environnements tests, sensibilité associée à une stabilité au dessous de la moyenne. Cette variété présente un rendement grain supérieur à la moyenne générale et une adaptation spécifique aux environnements à potentiel de production élevé, dits environnements favorables (Figure 2).

**Tableau 2.** Moyennes de rendement grain (RDT, t ha<sup>-1</sup>), coefficients de régression (b), carrés moyens de la déviation de la régression (S<sup>2</sup><sub>di</sub>), les scores des axes IPCA<sub>1</sub>, la variance environnementale (S<sup>2</sup><sub>i</sub>), la variance stabilité de Shukla (σ<sub>i</sub><sup>2</sup>) et l'indice de fiabilité (I, t ha<sup>-1</sup>) des 13 génotypes d'orge évalués sur deux sites expérimentaux au cours de cinq campagnes

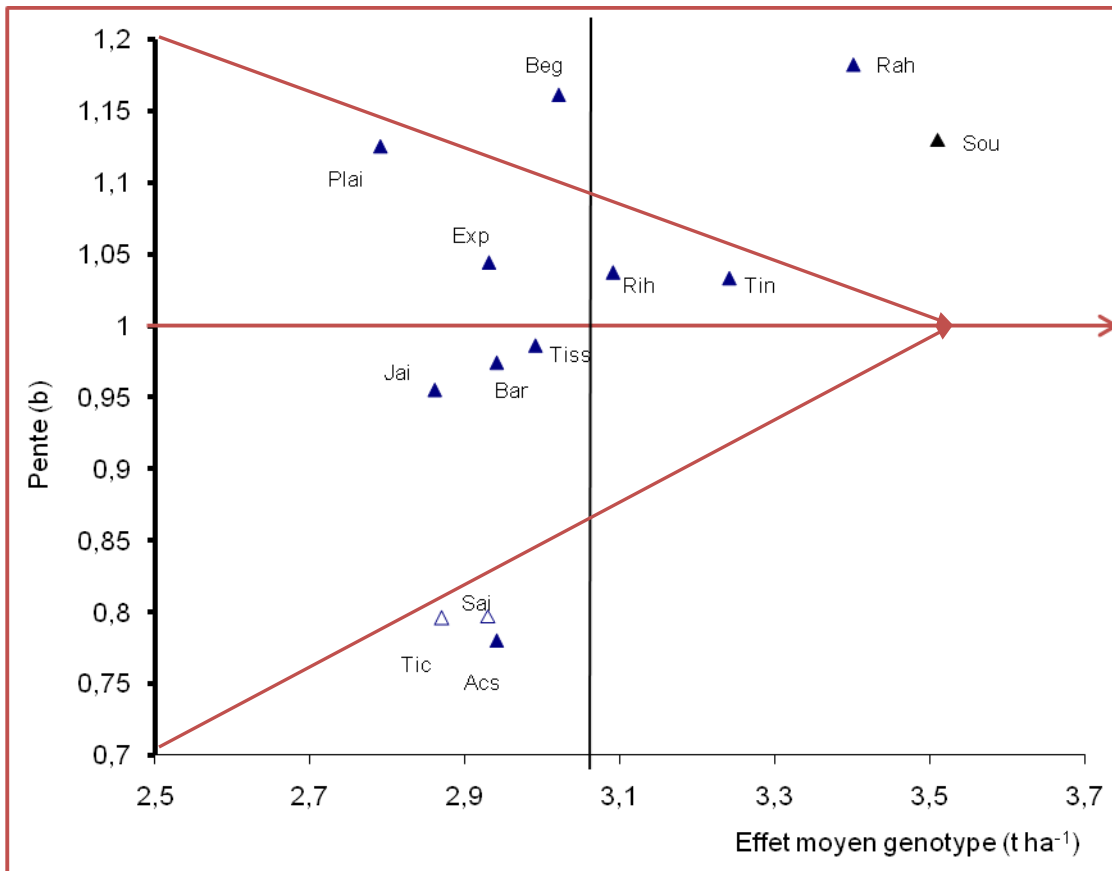
Génotype	RDT	b	S <sup>2</sup> <sub>di</sub>	IPCA <sub>1</sub>	S <sup>2</sup> <sub>i</sub>	σ <sub>i</sub> <sup>2</sup>	I
Acsad <sub>176</sub>	2.94 <sup>b</sup>	0.780 <sup>-</sup>	0.160**	-0.850	1.489	0.175**	0.93
Barberousse	2.94 <sup>b</sup>	0.974	0.0500*	-0.098	2.153	0.072 <sup>ns</sup>	0.53
Begonia	3.02 <sup>b</sup>	1.161	0.180**	0.610	3.156	0.209**	0.10
Express	2.93 <sup>b</sup>	1.044	0.130**	0.249	2.535	0.234**	0.31
Jaidor	2.86 <sup>b</sup>	0.955	0.0500*	-0.048	2.070	-0.007 <sup>ns</sup>	0.49
Plaisant	2.79 <sup>b</sup>	1.125	0.140**	0.496	2.940	0.008 <sup>ns</sup>	-0.03
Rahma	3.40 <sup>a</sup>	1.182 <sup>+</sup>	0.130**	0.484	3.221	0.161**	0.45
Rihane	3.09 <sup>b</sup>	1.037	0.0600*	-0.126	2.441	0.198**	0.52
Saida	2.93 <sup>b</sup>	0.797 <sup>-</sup>	0.130**	-0.737	1.522	0.130*	0.90
Soufara	3.51 <sup>a</sup>	1.130	0.210**	0.465	3.027	-0.003 <sup>ns</sup>	0.65
Tichedrett	2.87 <sup>b</sup>	0.796 <sup>-</sup>	0.120**	-0.572	1.513	0.078 <sup>ns</sup>	0.85
Tina	3.24 <sup>a</sup>	1.033	0.120**	0.228	2.482	0.066 <sup>ns</sup>	0.65
Tissa	2.99 <sup>b</sup>	0.986	0.120**	-0.103	2.264	0.184**	0.52

Moyennes du RDT suivies par la même lettre ne sont pas différentes significativement; selon le test de la pps à 0.05 probabilité; -, + : pente significativement inférieure à 1.0, et significativement supérieure à 1.0, respectivement, les autres coefficients de la régression en sont pas différents significativement de l'unité; ns, \*, \*\* = S<sup>2</sup><sub>di</sub> et σ<sub>i</sub><sup>2</sup> significatives à 0.05 et 0.01 probabilité, respectivement.

Les autres génotypes présentent des coefficients de la régression qui ne sont significativement différents de l'unité, suggérant une stabilité moyenne. Parmi ces génotypes, Soufara et Tina ont des rendements grains supérieurs à la moyenne générale, et de ce fait ces deux génotypes présentent une adaptation générale à l'ensemble des environnements (Tableau 2, Figure 2). Le test des carrés moyens de la déviation de la régression relativement à la résiduelle pondérée indique, par contre, que tous les génotypes sont instables, d'après la définition de Eberhart et Russell (1966). En effet tous les génotypes évalués ont une S<sup>2</sup><sub>di</sub> significativement différente de zéro. Ces résultats suggèrent l'absence de génotypes à large adaptation, parmi ceux testés dans la présente étude, d'absence de l'adaptation générale au profit de l'adaptation spécifique.

Les quatre premières composantes de l'analyse AMMI sont significatifs, expliquant 84.72% de la SCE de l'interaction (45.97%, 24.12%, 12.87%, et 1.76%, pour le 1<sup>er</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> axe, respectivement), avec uniquement 62% des degrés de liberté de l'interaction, laissant

une résiduelle non significative (Tableau 1). Comparé avec les 26.8% de la SCE de l'interaction expliqués par la régression conjointe, le modèle AMMI est plus efficace, expliquant une plus grande proportion de la SCE de l'interaction.



**Figure 2.** Relations entre la pente de la régression et l'effet moyen du rendement des 13 génotypes d'orge évalués dans 10 environnements (Acs= Acsad<sub>176</sub>, Bar= Barberousse, Beg= Begonia, Exp= express, Jai= Jaidor, Pla=Plaisant, Rah= Rahma, Rih= Rihane, Sai= Saida, Sou= Soufara, Tic= Tichedrett, Tin = Tina, Tiss= Tissa).

Le biplot AMMI<sub>1</sub> montre de grandes différences des effets moyens additifs des génotypes et des environnements et une meilleure visualisation de la structuration (pattern) de l'interaction GxE. Les environnements aux faibles rendements sont SR<sub>98</sub> et SR<sub>99</sub>, ceux présentant les rendements les plus élevés, sont ST<sub>96</sub> et ST<sub>99</sub>. Les génotypes enregistrant de hauts rendements

sont Soufara and Rahma, les plus faibles rendements sont enregistrés par Plaisant et Jaïdor (Figure 3).

Les valeurs élevées, positives ou négatives, des scores sur l'axe  $IPCA_1$  sont indicatrices d'interaction significative, alors que les faibles valeurs des scores, négatives ou positives, indiquent l'absence ou une faible interaction. Tina, Express, Jaïdor, Tissa, Barberousse et Rihane présentent des scores sur l'axe  $IPCA_1$  proches de zéro (origine). Ces génotypes contribuent peu à l'interaction (Figure 3).

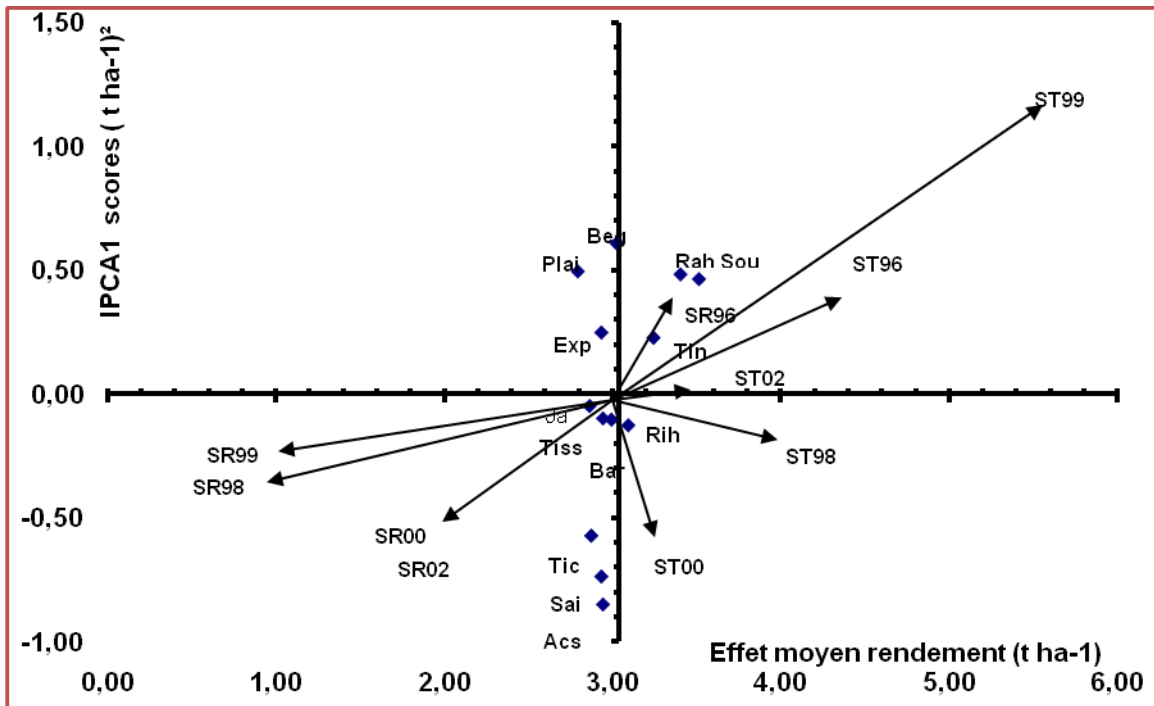
Soufara, Rahma, Begonia, Plaisant, Tichedrett, Saïda et Acsad<sub>176</sub>, se caractérisent par des scores élevés sur l'axe  $IPCA_1$ . Ces variétés contribuent fortement à l'interaction. Soufara et Rahma diffèrent de Begonia et Plaisant du point de vue effet moyen du rendement grain; et elles diffèrent de Tichedrett, Saïda et Acsad<sub>176</sub> du point de vue effet moyen du rendement et interaction avec les environnements.

Les environnements ST<sub>99</sub>, SR<sub>99</sub> et SR<sub>98</sub> discriminent plus entre les génotypes évalués, comme l'indiquent les valeurs élevées prises par leurs vecteurs respectifs. L'environnement ST<sub>02</sub> est le moins discriminant et la classification des génotypes dans cet environnement est similaire à leur classement de par l'effet moyen génotype. Soufara et Rahma sont plus adaptées aux environnements favorables à haut potentiel de production de tel que l'environnement ST<sub>99</sub>. Par contre Tichedrett, Saïda et Acsad<sub>176</sub> montrent une adaptation spécifique aux environnements à faible potentiel de production tels que les environnements SR<sub>99</sub> et SR<sub>98</sub>) (Figure 3).

La structuration de l'interaction indiquée par le biplot AMMI<sub>1</sub> présente une grande variation entre les campagnes par site expérimental. La variation présente au niveau du site Sersour est relativement moins importante comparativement à celle du site Sétif. Ceci suggère que l'adaptation au site Sersour est plus probable que l'adaptation au site Sétif, qui reste sujette à la variation inter années.

Le biplot AMMI<sub>2</sub> oppose, le long de l'axe  $IPCA_1$ , les environnements à haut rendement, ST<sub>99</sub>, SR<sub>96</sub> et ST<sub>96</sub>, avec leur scores positifs aux environnements au faible rendement, SR<sub>00</sub>, SR<sub>02</sub>, ST<sub>00</sub>, et SR<sub>98</sub>, qui se caractérisent par des scores négatifs (Figure 4). Une dispersion similaire est

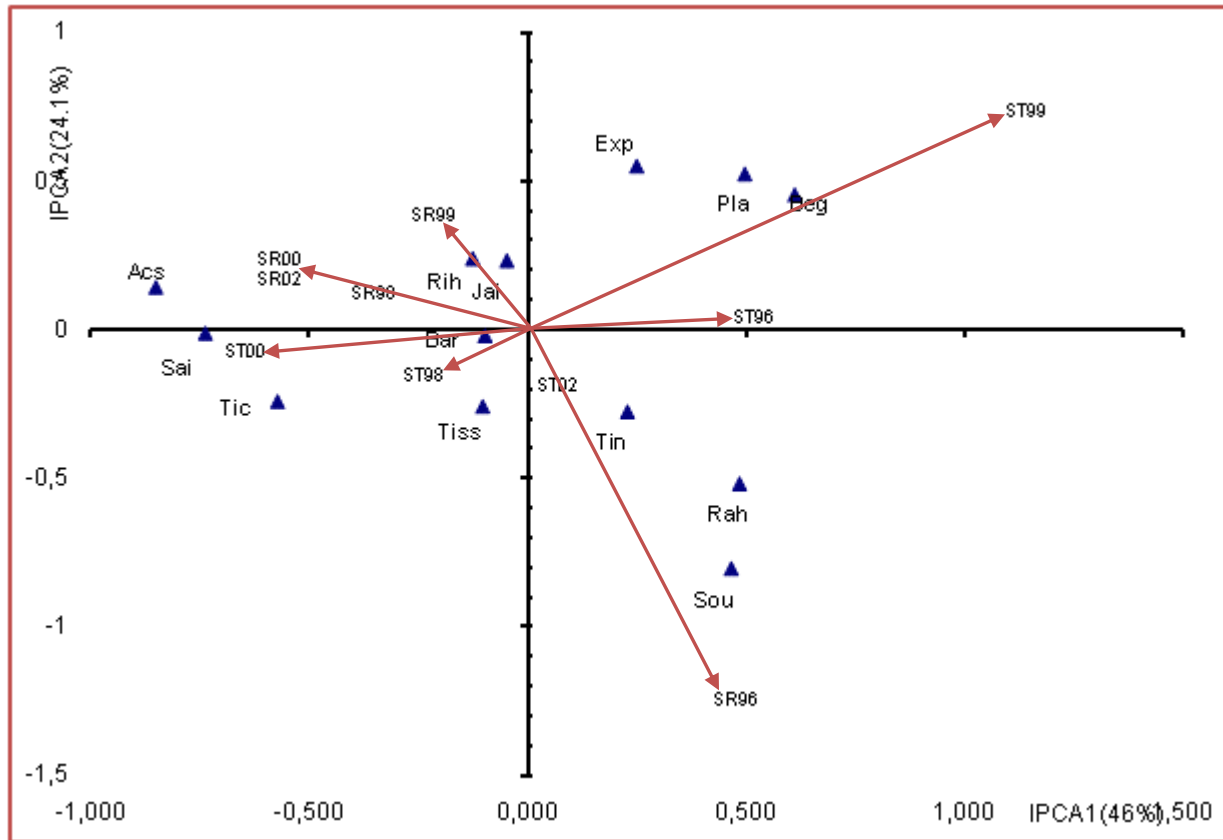
notée pour les génotypes le long de l'axe  $IPCA_1$ . Le groupe de génotypes adaptés aux environnements favorables est subdivisé par l'axe  $IPCA_2$  en deux sous groupes: Express, Plaisant, et Bégonia, présentant des scores positifs sur l'axe  $IPCA_2$  et sont spécifiquement adaptées à l'environnement  $ST_{99}$ , et Rahma et Soufara, avec des scores négatifs sur l'axe  $IPCA_2$  sont spécifiquement adaptées à l'environnement  $SR_{96}$  (Figure 4).



**Figure 3.** Biplot  $AMMI_1$  des effets moyens du rendement grain des génotypes et des environnements et scores de l'interaction sur l'axe  $IPCA_1$  (SR et ST sont les sites Sersour et Sétif ;  $SR_{96}$  et  $ST_{96}$  représentent ces sites au cours de la campagne 1996. Acs= Acsad<sub>176</sub>, Bar= Barberousse, Beg= Begonia, Exp= express, Jai= Jaïdor, Pla=Plaisant, Rah= Rahma, Rih= Rihane, Sai= Saïda, Sou= Soufara, Tic= Tichedrett, Tin = Tina, Tiss= Tissa)

Tichedrett, Acsad<sub>176</sub> et Saïda montrent une adaptation spécifique aux environnements  $SR_{00}$ ,  $SR_{02}$  et  $ST_{00}$ . Tissa, Rihane, Barberousse, Jaïdor et à un degré moindre Tina ont de faibles scores sur les axes  $IPCA_1$  et  $IPCA_2$ , exhibent une faible interaction et de ce fait une adaptation générale aux environnements testés (Figure 4). La structuration de l'interaction indiquée par les

bi-plots AMMI suggère que les génotypes évalués présentent une adaptation restreinte, vu qu'aucun d'eux ne présente un haut rendement dans tous les environnements.

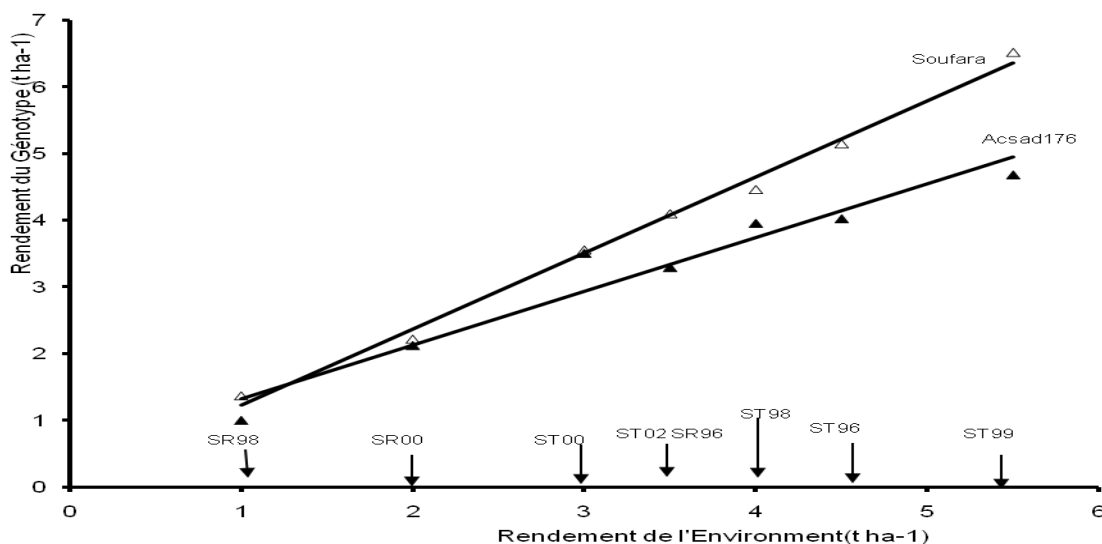


**Figure 4.** Biplot AMMI<sub>2</sub> des scores des génotypes et des environnements sur les deux premiers axes IPCA (SR et ST représentent les sites Sersour et Sétif, SR96 et ST96 représentent la campagne 1996 à Sersour et à Sétif, respectivement. Acs= Acsad<sub>176</sub>, Bar= Barberousse, Beg= Begonia, Exp= express, Jai= Jaidor, Pla= Plaisant, Rah= Rahma, Rih= Rihane, Sai= Saïda, Sou= Soufara, Tic= Tichedrett, Tin = Tina, Tiss= Tissa)

#### *La variance de la stabilité, la variance environnementale et l'indice de fiabilité*

En présence des stress abiotiques variables en intensité et durée, le génotype désirable est celui qui donne une production régulière et une bonne performance de rendement dans la région pour laquelle il est destiné. Selon la variance de la stabilité de Shukla, les génotypes Barberousse, Jaidor, Plaisant, Soufara, Tichedrett et Tina sont stables, alors que Acsad<sub>176</sub>, Bégonia, Express, Rahma, Rihane, Saïda, et Tissa sont classés comme hautement instables (Table 2). Parmi les génotypes stables, Soufara et Tina, présentent une faible variance associée à un rendement grain au dessus de la moyenne générale (Tableau 2). La variance de la stabilité n'est pas

significativement corrélée avec l'effet moyen génotype au seuil de 0.05. L'utilisation de l'indice de fiabilité simplifie la recommandation des différents génotypes vu que cet indice donne, selon Eskridge K.M. (1990) une mesure conjointe de la stabilité et de la performance de rendement grain. Cet indice classe les génotypes selon leur capacité à donner un faible rendement sous les conditions variables. Les génotypes les moins risqués, c'est à dire ceux qui donnent un rendement élevé sous conditions difficiles sont Acsad<sub>176</sub>, Tichedrett et Saïda, (Tableau 2). Ces génotypes se caractérisent par un effet moyen au dessous de la moyenne générale, et sont plus adaptés aux environnements défavorables (Figures 3 et 4). Soufara et Tina ont un indice de fiabilité moyen, et un effet moyen au dessus de la moyenne, une faible variance de la stabilité et montrent de l'adaptation aux environnements à haut potentiel de rendement grain (Tableau 2, Figures 3 et 4). Begonia, Express and Plaisant sont moins résilients suite à leur indice peu élevé. (Tableau 2). Ces résultats suggèrent de recommander Soufara pour les environnements à hauts potentiels comme le site de Sétif et Acsad<sub>176</sub> aux environnements à faibles potentiels comme le site de Sersour. Sur la base du modèle AMMI<sub>2</sub>, les rendements grains attendus de Soufara et d'Acsad<sub>176</sub> sont déterminés pour les environnements dont le rendement varie dans la marge indiquée par les sites x années étudiés, selon la méthode décrite par Zobel *et al.*, (1988). Les résultats de cette projection confirment l'adaptation spécifique de ces deux cultivars (Figure 5).



**Fig. 5:** Rendements attendus des cultivars Soufara and Acsad<sub>176</sub> qui montrent des formes contrastées d'interaction G x E.

## Conclusion

La présence de l'interaction génotype x milieu est indiquée par le changement de classement des génotypes selon les environnements. L'analyse de la régression explique 26.8% de la somme des carrés des écarts de cette interaction. Par contre le modèle AMMI explique 84.72%. L'analyse de la régression indique qu'Acsad<sub>176</sub>, Tichedrett et Saida présentent de faibles rendements, une stabilité au dessus de la moyenne et une adaptation spécifique aux environnements à faible potentiels de rendement. Rahma se caractérise par une sensibilité à la variation de l'environnement, cette sensibilité est associée à une stabilité au dessous de la moyenne et une adaptabilité aux environnements à hauts potentiels de rendements grains. Tous les génotypes évalués sont classés comme étant instables selon la variance de la déviation de la régression.

Le bi-plot AMMI<sub>1</sub> montre des différences assez importantes entre les effets moyens additifs des génotypes et des environnements ainsi que de la typologie (pattern) de leurs interactions. Tina, Express, Jaidor, Tissa, Barberousse et Rihane contribuent faiblement à l'interaction. Par contre Soufara, Rahma, Bégonia, Plaisant, Tichedrett, Saida et Acsad<sub>176</sub> sont sources d'interactions complexes. Les environnements ST<sub>99</sub>, SR<sub>99</sub> et SR<sub>98</sub> sont les plus discriminants. Soufara et Rahma, classés comme instables selon la variance de stabilité de Shukla, sont plus adaptés aux environnements à fort potentiel de rendement. Tichedrett, Saida et Acsad<sub>176</sub>, sont classés comme stables par la variance de stabilité de Shukla, ils montrent une adaptation spécifique aux environnements à faible potentiel. La typologie des interactions suggère que les génotypes testés présentent plutôt une adaptation spécifique et aucun d'eux n'a montre une adaptation générale à tous les environnements étudiés.

### **CHAPITRE III.**

**EVALUATION DE LA TOLERANCE DE L'ORGE (*Hordeum vulgare* L.)**

**AUX STRESS ABIOTIQUES :**

**UTILISATION DES INDICES DE TOLERANCE**

## Résumé

La variation du rendement grain de 13 génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) évalués dans deux environnements et au cours de cinq années consécutives, sous conditions semi arides, est analysé en utilisant les indices de tolérance au stress abiotiques. Les différents indices utilisés classent différemment les différents génotypes évalués. L'indice P confirme la stabilité et la performance de Soufara et Rahma, il classe Tichedrett et Acsad<sub>176</sub> comme les moins performants, et Plaisant et Jaïdor comme les moins stables. L'écovalence classe Barberousse, Jaïdor et Rihane comme les plus stables, alors qu'Acsad<sub>176</sub> et Soufara sont classées comme étant les plus instables sur la base de cet indice. Les indices Pi et STI sont corrélés, ils indiquent que les génotypes, les plus performants en moyenne, sont ceux qui présentent une faible valeur de l'indice Pi à une valeur élevée de l'indice STI. L'indice STI classe la réponse des génotypes à la variation des milieux en quatre groupes : Soufara, Rahma et Tina sont performants et tolérants ; Bégonia, Express et Plaisant sont sensibles aux stress mais aptes à valoriser les environnements favorables ; Acsad<sub>176</sub> et Saïda sont tolérant et valorisent les environnements contraignants mais ne répondent pas à la fertilité des milieux. Tichedrett, Barberousse, Tissa, Rihane et Jaïdor se caractérisent par un faible potentiel de rendement sur l'ensemble des environnements testés, ils sont peu intéressants du point de vue sélection.

**Most clés :** *Hordeum vulgare* , Indice , tolérance, stabilité, performance, interaction GxE

## **Abstract**

Variation in grain yield of 13 genotypes of barley (*Hordeum vulgare* L.) evaluated in two environments, during five consecutive cropping seasons, under semi-arid conditions, was analyzed using abiotic stress tolerance indices. The various indices, used, ranked differently the evaluated genotypes. The P index confirms the stability and performance of Soufara and Rahma, it ranks Acsad<sub>176</sub> and Tichedrett as less performing and pleasant and Jaïdor as less stable. Ecovalence indicated that Barberousse, Rihane and Jaïdor are the most stable, while Acsad<sub>176</sub> Soufara are classified as the most unstable. Pi and STI indices are correlated; they indicate that the genotypes, the most performing, on average, are those with a low index Pi value and a high value of the STI index. The STI index ranked the response of the genotypes to changes in the environment into four groups: Soufara, Rahma and Tina are efficient and tolerant, Begonia, Plaisant and Express are sensitive to stress, but able to respond positively to environmental changes; Acsad<sub>176</sub> and Saïda are tolerant and adapted to harsh environments but do not respond to environment changes. Tichedrett, Barberousse, Tissa, Rihane Jaïdor are characterized by a low yield potential in all environments tested, they are not interesting in terms of selection.

**Key words** : *Hordeum vulgare*, Index, tolerance, stability, performance, interaction GxE

## Introduction

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est une culture pluviale, emblavée principalement dans la région aride et semi- aride des hauts plateaux. Cette région se caractérise par de larges fluctuations spatiotemporelles des quantités de pluies, de la fréquence de leurs avènements et celle des hautes températures extrêmes. Les contraintes climatiques les plus marquantes de cette culture apparaissent principalement au cours du remplissage du grain, moment où la température de l'air s'élève rapidement et le déficit hydrique devient très prononcé (Bouzerzour et Dekhili, 1995 ; Chenaffi *et al.*, 2006) .

La recherche, sous et pour ces conditions climatique de variétés cumulant la performance et la stabilité est l'objectif de la recherche agronomique de cette région. Cette recherche est cependant compliquée par la faible héritabilité du rendement grain utilisé comme critère de sélection, par l'interaction génotype x environnement (G x E) auxquelles elle est soumise sous ces conditions climatiques sévères (Bouzerzour et Dekhili, 1995 ; Kadi *et al.*, 2010) et par l'absence de stratégie de sélection pour la tolérance aux stress abiotiques (Benmahammed *et al.*, 2010<sub>a</sub> ; 2010<sub>b</sub>). En présence d'interaction G x E, la sélection basée sur le rendement grain et les caractères qui sont liés à ce dernier caractère s'est montrée peu efficace pour identifier des génotypes tolérants les stress et aux performances élevées et stables (Foster et Ellis, 2004 ; Coventry *et al.*, 2006).

Les sélectionneurs de l'orge s'intéressent à la tolérance qui maintient les capacités de performances et non pas à la tolérance qui assure la survie de la plante sélectionnée (Witcombe *et al.*, 2009) . Dans ce contexte la résistance au stress est définie comme étant le rendement relatif d'un génotype donné, comparé aux rendements d'autres génotypes auxquels il est comparé, sous les mêmes conditions de stress (Roseille et Hambling, 1981). De ce fait l'évaluation du matériel végétal sous ses conditions de stress est vue comme une stratégie pour exploiter la variabilité génétique pour la performance et la tolérance des stress (Ceccarelli *et al.*, 1992).

Sous stress, le meilleur indicateur de la tolérance est, donc, le rendement grain lui-même. La stabilité du rendement est plus liée à l'adaptation et à la tolérance des stress qu'au potentiel de la performance (Epinat-Le Signor *et al.*, 2001; Panthuan *et al.*, 2002; Annicchiarico *et al.*, 2005). De ce fait, la recherche du potentiel génétique de rendement est faite au détriment de la

stabilité des performances et de la tolérance des stress, suite à la présence de l'interaction G x E (Annichiarico *et al.*, 2006 ; Reynolds *et al.*, 2005 ; Menad *et al.*, 2011 ; Meziani *et al.*, 2011).

Sur la base des analyses des QTL, Via *et al.*, (1995) mentionnent que la stabilité s'explique par deux mécanismes génétiques faisant intervenir des modèles intégrant la sensibilité allélique et la régulation génique. Le modèle de la sensibilité allélique suggère que le gène constitutif est lui-même directement régulé par la réponse à l'environnement, suite à l'activation de différentes formes alléliques, en fonction des types d'environnements. Dans le cas du modèle de la régulation génique, un ou plusieurs loci régulateurs, sous l'influence directe de l'environnement, autorise ou non (switching on and off) l'extériorisation du gène constitutif.

Dans le cas où des tentative sont faites pour concilier la performance de rendement et la stabilité, il faut travailler sur du matériel végétal adapté, en utilisant les caractères qui fortement corrélés avec ces deux caractéristiques (Richards *et al.*, 2002 ; Condon *et al.*, 2004 ; Witcombe *et al.*, 2009). La sélection multi sites et multi années est plus efficace pour identifier les génotypes performants et stables, qui montrent une large adaptation à la variation environnementale (Kirigwi *et al.*, 2004). Les hypothèses restrictives associées aux modèles (modèles additifs) utilisés pour analyser les données issues de telles expérimentations, ne sont pas toujours honorées ; ce qui rend onéreux l'interprétation des résultats.

En présence d'interaction, le sélectionneur doit concilier adaptabilité et le potentiel de rendement (Fellah *et al.*, 2002 ; Adjabi *et al.*, 2007 ). L'adaptabilité est définie comme étant la capacité d'un génotype à donner un haut rendement sous diverses conditions, aussi bien favorables que contraignantes (Fordyce, 2006). Cette notion est liée à la tolérance des stress. Tardieu (2005) définit la tolérance comme étant la capacité du génotype à minimiser la réduction de rendement sous stress.

Dans de tels cas, l'utilisation des indices de stress, qui sont libres de toutes hypothèses restrictives, s'avère plus avantageuse (Lin et Binns, 1988). Plusieurs indices des stress sont proposes pour décrire le comportement génotypique, en présence et en absence du stress. L'objectif de la présente étude est d'utiliser les indices S, décrit par Fisher et Maurer (1978) ; P, décrit par Lin *et al.*, (1986) ; b qui est le coefficient de régression décrit par Finlay et Wilkinson, (1963) ; S<sub>rang</sub>, la somme des classements, décrite par Kang (1993) ; W<sub>i</sub>, l'écovalence de Wricke

(1962) et les indices de stabilité de Fox *et al.*, (1990), pour identifier des géotypes d'orge (*Hordeum vulgare L.*) tolérant les stress, performants et stables, en utilisant les données du rendement grain de la précédente étude.

## **Matériel et méthodes**

### ***Matériel végétal et dispositif expérimental***

Les données concernant le rendement grain des essais de comportement de l'orge analysées dans le précédent chapitre sont ré-analysées dans le présent chapitre en mettant l'accent sur la stabilité et l'adaptation à la variation du milieu. Cette base de données est constituée des résultats des deux sites (Station ITGC de Sétif, et la ferme Sersour) localisés en milieu semi- aride où ont été évalués les 13 géotypes suivants : Saïda et Tichedrett, Rihane<sub>03</sub>, Soufara, Rahma, Tissa, Acsad<sub>176</sub>, Barberousse, Jaïdor, Express, Plaisant, Tina et Begonia. Les deux essais, un par site, ont été réalisés au cours de 5 campagnes successives, dans un dispositif en blocs complètement randomisés.

### ***Notations et analyse des données***

L'analyse de la variance du rendement grain est réalisée par essai ou environnement (site x année) pour identifier les meilleurs géotypes par environnement. Cette analyse est complétée par l'utilisation des indices qui informent sur la capacité de tolérance du géotype concerné vis-à-vis des différents stress exhibés par l'environnement. L'analyse de la stabilité est approchée par le calcul de l'écovalence de Wricke (1962), l'indice de la supériorité génotypique de Lin *et al.*, (1986), la somme des classements ( $\sum \text{rang}$ ) des rendements de Kang *et al.*, (1991) et les statistiques non paramétriques de stabilité de Fox *et al.*, (1990).

La tolérance au stress est approchée par le calcul l'indice de sensibilité à la contrainte hydrique de Fischer et Maurer (1978). Cet indice est calculé par :

$$Si = \frac{1 - \frac{Y_S}{Y_F}}{1 - \frac{Y_{.S}}{Y_{.F}}}$$

où  $Y_s$  = rendement du génotype considéré dans le milieu stressant,  $Y_F$  = rendement du même génotype réalisé dans le milieu non stressant,  $Y_{.s}$  = moyenne des rendements de l'ensemble des génotypes testés dans le milieu stressant et  $Y_{.F}$  = moyenne des rendements de l'ensemble des génotypes testés dans le milieu favorable.

L'écovalence est calculée par :

$$Wi = \sum (Y_{ij} - Y_{i.} - Y_{.j} + Y_{..})^2$$

où  $Wi$  = écovalence du génotype  $i$ ,  $Y_{ij}$  = valeur du génotype  $i$  de l'année  $j$ ,  $Y_{i.}$  = effet moyen du génotype  $i$ ,  $Y_{.j}$  = effet moyen de l'année  $j$  et  $Y_{..}$  = moyenne générale de l'ensemble des génotypes et des années.

L'indice  $P$  de Lin *et al.*, (1986) est calculé comme suit :

$$Pi = \frac{\sum (Y_{ij} - M_j)^2}{2n}$$

où  $Y_{ij}$  = rendement du génotype  $i$  de l'année  $j$ ,  $M_j$  = rendement du génotype le plus performant de l'environnement  $j$ ,  $n$  = nombre d'environnements testés.

La stabilité ou tolérance au stress est aussi approchée par la méthode de la somme des classements ( $\sum_{\text{rank}}$ ) des rendements (Kang *et al.*, 1991). Dans cette méthode, les rendements de l'environnement  $j$  sont classés par ordre décroissant, le génotype dont le rendement est maximal prend le classement 1. Les valeurs de la variance de Shukla (1972) sont classées par ordre croissant. Le rang 1 est donné au génotype ayant la plus faible variance.  $\sum_{\text{rank}}$  est égale à la somme des rangs des rendements et de la variance (Kang *et al.*, 1991 ; Rose *et al.*, 2008).

La variance ( $\sigma^2_i$ ) de Shukla (1972) a été calculée par :

$$\sigma^2 = \left[ \frac{P}{(P-2)(q-1)} \sum_{j=1}^q (Y_{ij} - Y_{i.} - Y_{.j} - Y_{..})^2 \right] - \left[ \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^q (Y_{ij} - Y_{i.} - Y_{.j} + Y_{..})^2 \times \frac{1}{(p-1)(p-2)(q-1)} \right]$$

Les statistiques non paramétriques de Fox *et al.*, (1990) sont déduites du classement des performances génotypiques par année et sur l'ensemble des années. Les géotypes dont le classement est situé dans le premier tiers (classement de 1 à 4) sont les meilleurs (H), ceux dont le classement est situé dans le tiers /médian (classement de 5 à 8) sont moyens (M) et ceux formant le dernier tiers (classement de 9 à 13) sont médiocres (L).

L'indice de la tolérance au stress ( $S_{TI}$ ) décrit par Fernandez (1992) est calculé par :

$$STI = \frac{(Y_{Fx}Y_S)}{Y^2_{.F}}$$

où  $Y_F$  = rendement obtenu en l'absence du stress, et  $Y_S$  = rendement obtenu sous stress,  $Y^2_{.F}$  = moyenne des rendements de l'ensemble des géotypes dans le milieu favorable au carré.

Francis et Kannenberg (1978) proposent l'utilisation du coefficient de variation (CV) pour mesurer la stabilité génotypique. Dans cette procédure un géotype stable (stabilité statique) est celui qui présente un faible CV. Les logiciels CropStat 7.2 (2008) et OpenStat (Miller, 2007) ont été utilisés pour les différentes analyses statistiques. Les coefficients de rang de Sperman ( $r_s$ ) et l'arbre hiérarchique de la classification (clustering) sont déterminés avec le programme Past (Hammer *et al.*, 2001).

L'objet de la classification (*cluster analysis*) est de grouper ensemble les individus qui se ressemblent le plus, et classer les individus dissimilaires dans différents groupes. Cette méthode utilise le principe de l'analyse de la variance, c'est à dire que la distance qui sépare deux clusters est basée sur la somme des carrés des écarts (Delacy *et al.*, 1996). Une analyse en composantes principales est tentée sur la base de la matrice des coefficients de corrélation pour mieux visualiser les relations liants les différents paramètres mesurant la tolérance et ainsi typer les différents géotypes évalués.

## Résultats et discussion

### *1-Variabilité intra et inter environnements du rendement grain*

L'analyse de la variance du rendement grain des différents environnements montre un effet génotype significatif (Tableau 1). Ce résultat suggère l'existence de la variabilité génotypique parmi les génotypes évalués, ce qui autorise la sélection pour mettre en faveur cette variabilité. En effet l'étude des moyennes montre Soufara figure comme meilleur génotype dans 9 environnements sur les 10 testés.

**Tableau 1.** Carrés moyens de l'analyse de la variance du rendement grain mesuré par environnement

Sites	Carrés moyens des écarts		
	Génotype	Répétition	Résiduelle
ST96	0.800**	0.227ns	0.068
SR96	2.199**	0.035ns	0.047
ST98	0.548**	0.070ns	0.057
SR98	0.103**	0.011ns	0.017
ST99	1.904**	0.156ns	0.149
SR99	0.525**	0.045ns	0.012
ST00	0.494**	0.047ns	0.059
SR00	0.254**	0.063ns	0.016
ST02	0.818**	0.105ns	0.123
SR02	0.439**	0.036ns	0.025

Il est suivi par Rahma qui figure comme meilleur génotype dans 5 environnements ; Acsad176, dans 4 environnements ; Express, Tina et Tissa, dans 3 environnements, et Bégonia, Saida et Rihane, dans 2 environnements ; alors que Tichedrett n'apparaît que dans un seul environnement comme meilleur génotype. En moyenne générale, sur l'ensemble des environnements, Soufara et Rahma sont les génotypes les plus performants (Tableau 2).

Ces résultats indiquent la variation des classements des meilleurs génotypes par environnement et la faible performance du cultivar Tichedrett qui est utilisé comme témoin pour

les besoins de la sélection. Ceci confirme la présence de l'interaction génotype x environnements d'où la nécessité de chercher l'adaptation, la stabilité et donc la tolérance aux divers stressés qui caractérisent l'environnement de sélection et de production.

**Tableau 2.** Moyennes génotypiques du rendement grain ( $t\ ha^{-1}$ ) mesuré par site

Génotype	ST96	SR96	ST98	SR98	ST99	SR99	ST00	SR00	ST02	SR02	Yi.
Acsad <sub>176</sub>	4.0	2,8	<b>4,2</b>	<b>1,3</b>	4,5	1.0	<b>3,8</b>	2,2	3,1	<b>2,4</b>	2,9
Barberousse	4,3	3,3	4.0	0,8	5,3	0,9	3.0	1,8	3,6	<b>2,4</b>	2,9
Bégonia	4,7	3,4	<b>4,3</b>	1.0	<b>6,5</b>	1,1	3.0	1,7	2,9	1,6	3.0
Express	<b>4,8</b>	2,8	3,5	0,8	<b>5,9</b>	<b>1,2</b>	3,1	1,8	3,4	1,9	2,9
Jaïdor	4,2	3.0	4.0	1,1	5,4	1,1	3.0	2.0	3,4	1,5	2,9
Plaisant	4,2	2,9	3,5	0,7	<b>6,3</b>	0,8	3.0	1,5	3,3	1,7	2,8
Rahma	<b>4,8</b>	4,5	<b>4,7</b>	1,1	<b>6,1</b>	1.0	<b>3,6</b>	2,1	<b>4,4</b>	1,7	<b>3,4</b>
Rihane	4,5	3.0	<b>4,4</b>	0,9	5,6	1,1	<b>3,7</b>	2.0	3,7	2,1	3,1
Saïda	4,1	3.0	3,7	1.0	4,5	<b>1,2</b>	<b>4.0</b>	2,2	3,5	2,1	2,9
<b>Soufara</b>	<b>5,2</b>	<b>5,2</b>	<b>4,5</b>	<b>1,2</b>	<b>5,9</b>	<b>1,2</b>	<b>3,6</b>	2.0	<b>4.0</b>	<b>2,3</b>	<b>3,5</b>
Tichedrett	3,6	3,6	4,1	1.0	4,7	1.0	3,3	<b>2,4</b>	2,9	2,2	2,9
Tina	4,7	4,4	3,7	0,9	<b>5,9</b>	1,1	3,5	<b>2,3</b>	3,5	<b>2,4</b>	3,2
Tissa	<b>4,9</b>	3,4	<b>4,2</b>	0,9	4,8	1.0	3,1	1,9	<b>3,9</b>	1,8	3.0
Moy Site	4,5	3,5	4.0	1.0	5,5	1,1	3,4	2.0	3,5	2.0	3.0
Ppds <sub>5%</sub>	0.38	0.31	0.59	0.13	0.56	0.16	0.35	0.18	0.51	0.26	---

*Les meilleurs génotypes par environnement sont indiqués en gras.*

## 2-Les indices de mesure de la tolérance

L'étude des valeurs de l'indice de la somme des rangs des moyennes de rendements grains et de la variance de Shukla (1972) suggéré par Kang *et al.*, (1991) montre que les génotypes Soufara et Rahma présentent les plus faibles sommes de classement, par contre Bégonia, Plaisant et Tichedrett présentent les sommes de classement les plus élevées (Tableau 3). Ces résultats sont confirmés par les valeurs prises par l'indice de stabilité de Fox *et al.*, (1990). En effet cet indice montre que Soufara et Rahma figurent dans le premier tiers des classements dans 70 et 60% des cas, par contre Plaisant et Jaïdor figurent dans le tiers inférieur des classements dans 80 et 60% des cas (Tableau 3).

**Tableau 3.** Valeurs des indices de la tolérance des stressés des différents génotypes testés

Génotype	$\Sigma$ rank	TOP	MID	BOT	Pi	Wi	Si	STI	CV
Acsad176	86	4	1	5	8,44	2,17	0,73	0,44	41,5
Barberousse	73	2	5	3	3,64	0,42	0,99	0,51	49,8
Begonia	91	2	3	5	3,40	1,99	1,27	0,65	58,9
Express	83	2	4	4	4,95	1,06	1,18	0,57	54,4
Jaidor	83	2	2	6	5,73	0,43	1,06	0,50	50,3
Plaisant	101	2	0	8	6,60	1,45	1,35	0,58	61,4
Rahma	49	6	3	1	0,13	1,69	0,97	0,68	52,8
Rihane	72	3	5	2	2,56	0,47	0,98	0,57	50,6
Saïda	83	2	3	5	7,17	1,76	0,73	0,44	42,1
Soufara	58	7	1	2	0,04	2,06	0,87	0,69	49,6
Tichedrett	90	1	5	4	7,20	1,76	0,88	0,45	42,9
Tina	65	4	4	2	0,61	1,00	1,05	0,63	48,6
Tissa	64	3	4	3	3,44	0,96	0,74	0,47	50,4

Lin et Binns (1988) proposèrent l'indice P comme une mesure du mérite génotypique qui associe performance de rendement et stabilité ou résilience vis-à-vis de la variation environnementale. L'indice P, dont les valeurs varient de 0.04 à 8.44 dans la présente étude, confirme la stabilité des performances des génotypes Soufara et Rahma, mais classe Tichedrett et Acsad<sub>176</sub> comme les moins performants, avant Plaisant et Jaïdor, qui apparaissent tout de même comme moins performants et moins stables (Tableau 3). L'écovalence, dont les valeurs varient de 0.42 à 2.17, donne des résultats qui s'écartent de ceux des indices discutés ci-dessus. Elle classe Barberousse, Jaïdor et Rihane comme les plus stables, en passant d'un environnement à l'autre, alors qu'Acsad<sub>176</sub> et Soufara sont classées comme étant les plus instables (Tableau 3).

Les valeurs de l'indice S varient, entre les différents génotypes testés, de 0.73 à 1.35. Sous les mêmes conditions climatiques Benmahammed *et al.*, (2010b) rapportent des valeurs qui varient de 0.48 à 1.37. Selon Rizza *et al.*, (2004), les valeurs élevées de l'indice S sont indicatrices de performance, alors que les faibles valeurs sont indicatrices de tolérance des stressés. Ceci suggère que cet indice n'associe pas performance de rendement et tolérance des stressés. En effet dans la présente étude, les valeurs de cet indice indiquent que Acsad<sub>176</sub> et Saïda sont les génotypes les plus tolérants parce qu'ils se distinguent par de faibles valeurs, alors que les génotypes Plaisant, Bégonia et Express sont les plus performants parce qu'ils présentent les valeurs les plus élevées (Tableau 3).

L'indice STI identifie différents géotypes qui présentent de faibles valeurs, dont Acsad<sub>176</sub>, Saïda, Tichedrett et Tissa ; avec des valeurs variant de 0.43 à 0.47. Les géotypes aux valeurs plus élevées, variant de 0.63 à 0.69, sont Bégonia, Rahma, Soufara et Tina (Tableau 3).

Francis et Kannenberg (1978) proposent l'utilisation du coefficient de variation (CV) pour mesurer la stabilité génotypique. Les faibles valeurs de cet indice sont indicatrices de la stabilité statique. Les résultats de la présente étude indiquent qu'Acsad<sub>176</sub>, Saïda et Tichedrett sont les plus stables avec des Cv variant de 41.5 à 42.9% et Bégonia et Plaisant sont les moins stables avec des Cv de 58.9 et 61.4%, respectivement (Tableau 3).

Les résultats des différents indices sont peu concordants. Ceci nécessite l'étude des liaisons entre les valeurs prises par ces indices, pour avoir une mesure du degré de similitude entre les différents indices. L'étude des liaisons des valeurs des indices avec les performances de rendement des environnements extrêmes ( $Y_S$  et  $Y_F$ ) et avec la moyenne génotypique des rendements de l'ensemble des environnements ( $Y_i$ ), donne une indication sur la liaison entre la performance et la stabilité.

### *3-Ressemblance des indices*

La  $\Sigma$ rank de Kang *et al.*, (1991) montre des liaisons significatives avec les indices de Fox *et al.*, (1990), avec l'indice Pi et avec la moyenne des rendements du géotype de l'ensemble des environnements ( $Y_i$ ) (Tableau 4). Cet indice montre des liaisons négatives avec l'indice TOP et la moyenne des rendements  $Y_i$ , et des liaisons positives avec l'indice BOT et l'indice Pi.

Ces résultats suggèrent que les géotypes qui se distinguent une valeur élevée de la somme des rangs montrent une faible probabilité de se classer dans le premier tiers des classements et présentent aussi un faible rendement moyen de l'ensemble des environnements. Ces mêmes géotypes montrent, par contre, une probabilité élevée de se classer dans le tiers inférieur des classements et présentent aussi une valeur élevée de l'indice P. L'absence de liaisons significatives de cet indice avec les moyennes de rendements des environnements extrêmes ( $Y_S$ ,  $Y_F$ ) ne permet pas, à ce stade de la discussion, de discriminer entre les géotypes performants et stables, à la fois, de ceux qui sont performants ou bien stables.

**Tableau 4.** Coefficients de corrélation de rang de Sperman (Sperman's r rank correlation)

	$\Sigma$ rank	TOP	MID	BOT	Yi.	Pi	Wi	Si	Ys	Yf	STI	Cv
$\Sigma$ rank	0	0,004	0,494	0,000	0,003	0,003	0,406	0,205	0,468	1,000	0,230	0,719
TOP	-0,731	0	0,325	0,018	0,000	0,019	0,477	0,219	0,115	0,589	0,122	0,671
MID	-0,208	-0,296	0	0,111	0,725	0,729	0,073	0,909	0,138	0,473	0,541	0,799
BOT	0,862	-0,639	-0,462	0	0,000	0,002	0,652	0,371	0,772	0,669	0,111	0,828
Yi.	-0,747	0,8109	0,108	-0,838	0	0,000	0,573	0,402	0,300	0,347	0,028	0,914
Pi	0,745	-0,637	-0,106	0,771	-0,851	0	0,621	0,615	0,971	0,036	0,000	0,254
Wi	0,251	0,216	-0,512	0,138	0,172	0,151	0	0,231	0,025	0,943	0,847	0,378
Si	0,376	-0,365	-0,035	0,270	-0,253	-0,154	-0,356	0	0,034	0,001	0,082	0,002
Ys	-0,221	0,457	-0,433	-0,089	0,311	-0,010	0,613	-0,588	0	0,334	0,837	0,051
Yf	0,165	-0,218	-0,130	0,283	-0,582	-0,022	0,784	-0,291		0	0,007	0,001
STI	-0,357	0,450	-0,186	-0,462	0,603	-0,837	0,059	0,499	-0,063	0,878	0	0,041
Cv	0,110	-0,130	-0,078	0,066	-0,033	-0,340	-0,266	0,756	-0,549	0,791	0,570	0

Au dessus Prob, en dessous corrélation de rang ;  $\Sigma$ rank = somme des rangs de Kang *et al.*, (1991) ; TOP, MID , BOT =indice de Fox *et al.*, (1990) ;; Y.= effet moyen ; P=indice de supériorité ; W=Ecovalence ;S=Indice de stress ; Y<sub>s</sub> =Rendement sous stress ; Y<sub>f</sub>=Rendement en absence de stress ; ST= indice de tolérance du stress de Fernandez (1993); Cv=Coefficient de variation

L'indice TOP est positivement lié avec Yi., et négativement lié avec les indices BOT et Pi. Les géotypes qui se classent dans le tiers supérieur présentent aussi des moyennes élevées de rendement de l'ensemble des environnements (Yi.) et montrent une faible probabilité de figurer dans le tiers inférieur des classements. La performance moyenne de rendement du géotype sur l'ensemble des environnements (Yi.), en plus de ses liaisons avec les indices  $\Sigma$ rank, TOP et BOT, montre aussi des liaisons significatives avec les indices Pi et STI (Tableau 4). Les géotypes, les plus performants en moyenne, sont ceux qui associent à une faible valeur de l'indice Pi une valeur élevée de l'indice STI.

L'écovalence reste indépendante de tous les indices et paramètres mesurés. Par contre l'indice S de Ficher et Maurer (1978) montre une liaison positive et significative avec le Cv, suggérant que les géotypes présentant des valeurs S élevées ont aussi un Cv élevé. Comme le Cv est indicateur de la stabilité statique, donc les géotypes présentant des valeurs élevées de l'indice S sont performants, mais pas stables, dans le sens statique du terme. L'étude des liaisons entre les valeurs prises par les indices utilisés, permet certes de grouper les indices en fonction de leur degré de similitude, mais ne donne pas une indication sur les performances et la stabilité

(donc la tolérance) des génotypes évalués. De ce fait, il semble judicieux, de tenter de grouper les génotypes sur la base des valeurs prises par les indices et les performances moyennes sur l'ensemble des environnements et dans les environnements extrêmes.

#### 4. Typologie variétale

##### 4.1. Classification hiérarchique

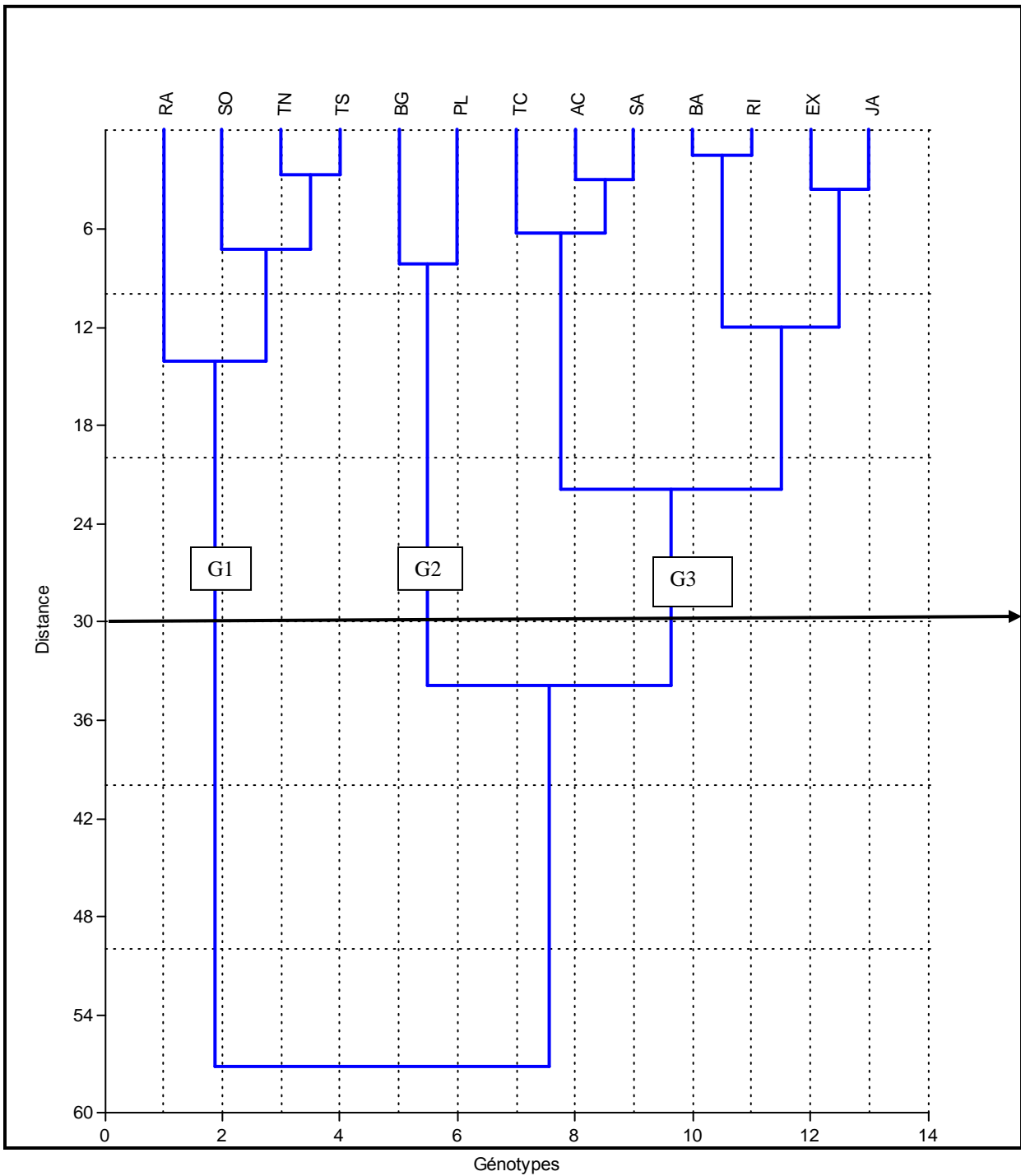
La classification hiérarchique identifie trois groupes de génotypes (Figure 1) dont les valeurs des centres de gravité sont données au tableau 5. Les trois groupes sont composés des génotypes Soufara, Rahma, Tina et Tissa pour le groupe G1 ; Bégonia et Plaisant pour le groupe G2 et le groupe G3 est constitué du reste des variétés testées.

**Tableau 5.** Valeurs moyennes des centres de gravités des différents groupes de génotypes issus de la classification hiérarchique.

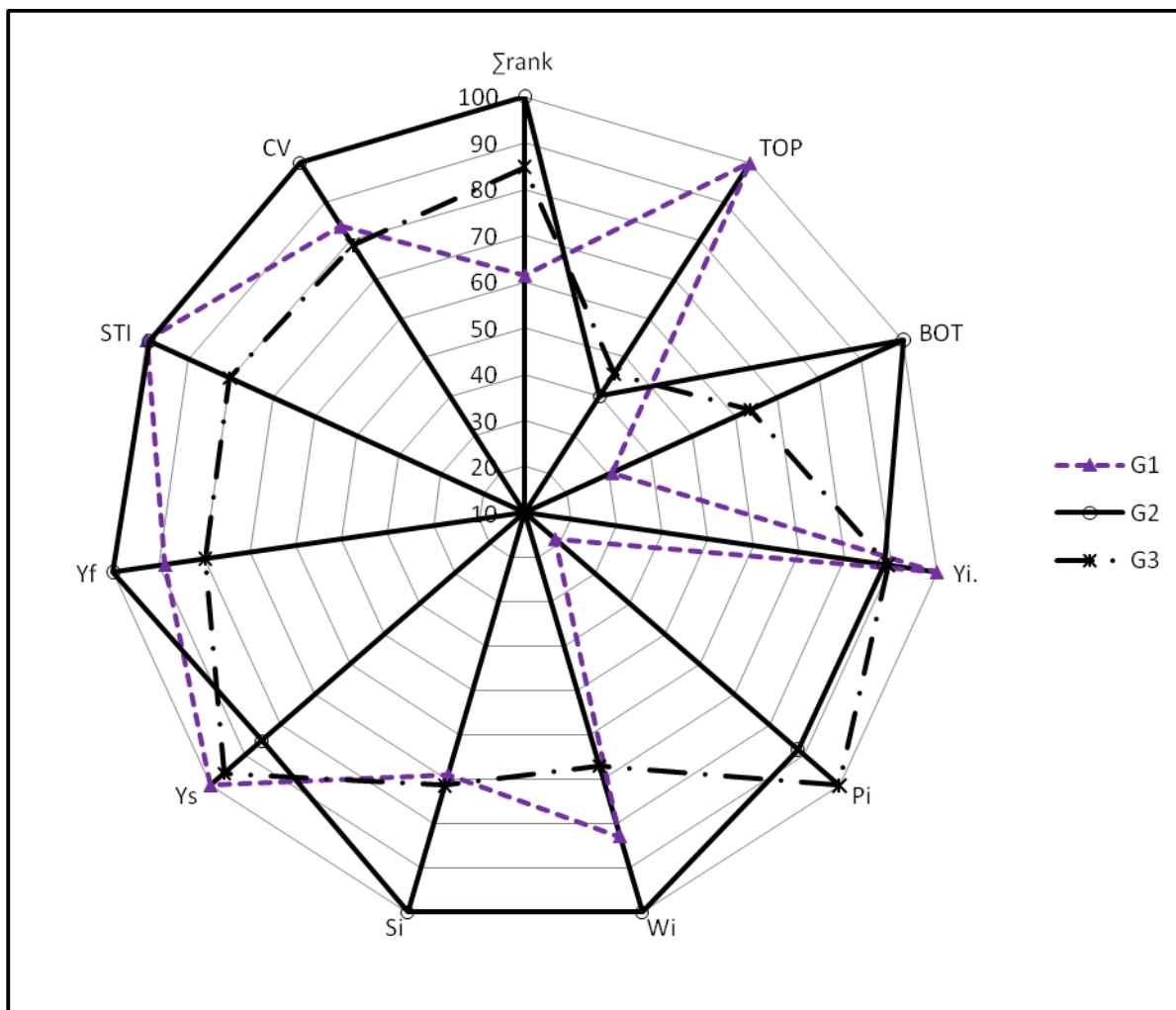
Groupe	$\Sigma$ rank	TOP	MID	BOT	Yi.	Pi	Wi	Si	Y <sub>S</sub>	Y <sub>F</sub>	STI	CV
G1	59,0	5,0	3,0	2,0	3,2	1,0	1,4	0,9	1,0	5,7	0,62	50,3
G2	96,0	2,0	1,5	6,5	2,9	5,0	1,7	1,3	0,8	6,4	0,62	60,1
G3	81,4	2,2	3,5	4,1	2,9	5,6	1,1	0,9	0,9	5,1	0,50	47,3

$\Sigma$ rank = somme des rangs de Kang *et al.*, (1991) ; TOP, MID , BOT =indice de Fox *et al.*, (1990) ;; Y.= effet moyen ; P=indice de supériorité ; W=Ecovalence ;S=Indice de stress ; Y<sub>S</sub> =Rendement sous stress ; Y<sub>F</sub>=Rendement en absence de stress ; ST= indice de tolérance du stress de Fernandez (1993); Cv=Coefficient de variation .

En plus de la moyenne des rendements de l'ensemble des environnements (Yi.), les indices  $\Sigma$ rank, TOP, BOT, Pi et STI se montrent les plus discriminants des trois groupes de génotypes (Figure 2). Le groupe G1 se distingue par un rendement (Yi.) élevé associé à une faible somme des classements, une forte présence dans le premier tiers des classements, une faible valeur de l'indice Pi et une valeur élevée de l'indice STI. Le groupe G2 se caractérise surtout une faible présence dans le tiers supérieur des classements et le groupe G3 par une forte probabilité de présence dans le tiers inférieur des classements (Tableau 5, Figure 2).



**Figure 1.** Classification hiérarchique des différents génotypes sur la base des valeurs prises par les indices de la tolérance des stresses et les moyennes de rendements sur l'ensemble des environnements et des environnements extrêmes.



**Figure 2.** Valeurs moyennes, en pourcent de la valeur maximale, des indices et paramètres mesurés des différents groupes de génotypes issus de la classification hiérarchique.

Le groupe G1 semble donc associer performance de rendement et tolérance des stresses telle que mesurée par les indices  $\Sigma$ rank de Kang *et al.*, (1991), STI de Hernandez (1993) et Pi de Lin et Binns (1988). Ces trois indices associent performance de rendement et stabilité des performances sur l'ensemble des environnements testés. Les génotypes des groupes G<sub>2</sub> et G<sub>3</sub> ne sont pas bien décrits par l'analyse de la classification hiérarchique.

#### 4.2. L'analyse en composantes principales

La matrice des données soumise à la classification hiérarchique fut aussi soumise à l'analyse en composantes principales. Les trois premiers axes (PC1, PC2 et PC3) expliquent

91.9% de la variation incluse dans les données soumises à l'analyse, soit respectivement 41.5, 30.6 et 19.8 pour les trois premiers axes dans cet ordre. Sur le plan des axes PC1 et PC2, qui explique 72.0% de la variation, on note qu'à l'axe PC1 sont corrélés les indices  $\sum \text{rank} = K$ , l'indice TOP = H, l'indice BOT = L, l'indice Pi = P et l'indice STI = ST. Les indices  $\sum \text{rank} = K$ , BOT = L et Pi = P, sont négativement corrélés à cet axe et s'opposent aux indices TOP = H, STI = ST et au rendement moyen ( $Y_i$ ), qui sont positivement liés à cet axe (Tableau 6).

**Tableau 6.** Coefficients de corrélation des indices avec les trois premiers axes de l'analyse en composantes principales.

<b>Indices</b>	<b>Axis 1</b>	<b>Axis 2</b>	<b>Axis 3</b>
$\sum \text{rank} = K$	-0,383	0,177	-0,191
TOP = H	0,391	-0,137	-0,212
MID = M	0,001	-0,075	0,579
BOT = L	-0,352	0,187	-0,301
$Y_i = Y$	0,436	-0,092	-0,065
Pi = P	-0,422	-0,088	-0,164
Wi = W	0,051	-0,131	-0,520
Si = S	-0,011	0,507	-0,047
$Y_s$	0,106	-0,339	-0,405
$Y_F$	0,227	0,437	-0,102
STI = ST	0,370	0,270	-0,113
Cv	0,081	0,490	-0,047

Les génotypes qui sont bien représentés par l'axe PC1, sont Rahma, Tina et Soufara qui présentent des scores positifs et qui s'opposent à Jaïdor et à Tichedrett dont les scores sur l'axe PC1 sont négatifs (Tableau 7). L'interprétation des corrélations des valeurs des indices et des scores des génotypes avec l'axe PC1 indique que Tina, Soufara et Rahma se caractérisent par des valeurs élevées pour les indices TOP et STI et le rendement ( $Y_i$ ) et de faibles valeurs pour les indices  $\sum \text{rank} = K$ , BOT = L et Pi = P (Figure 3).

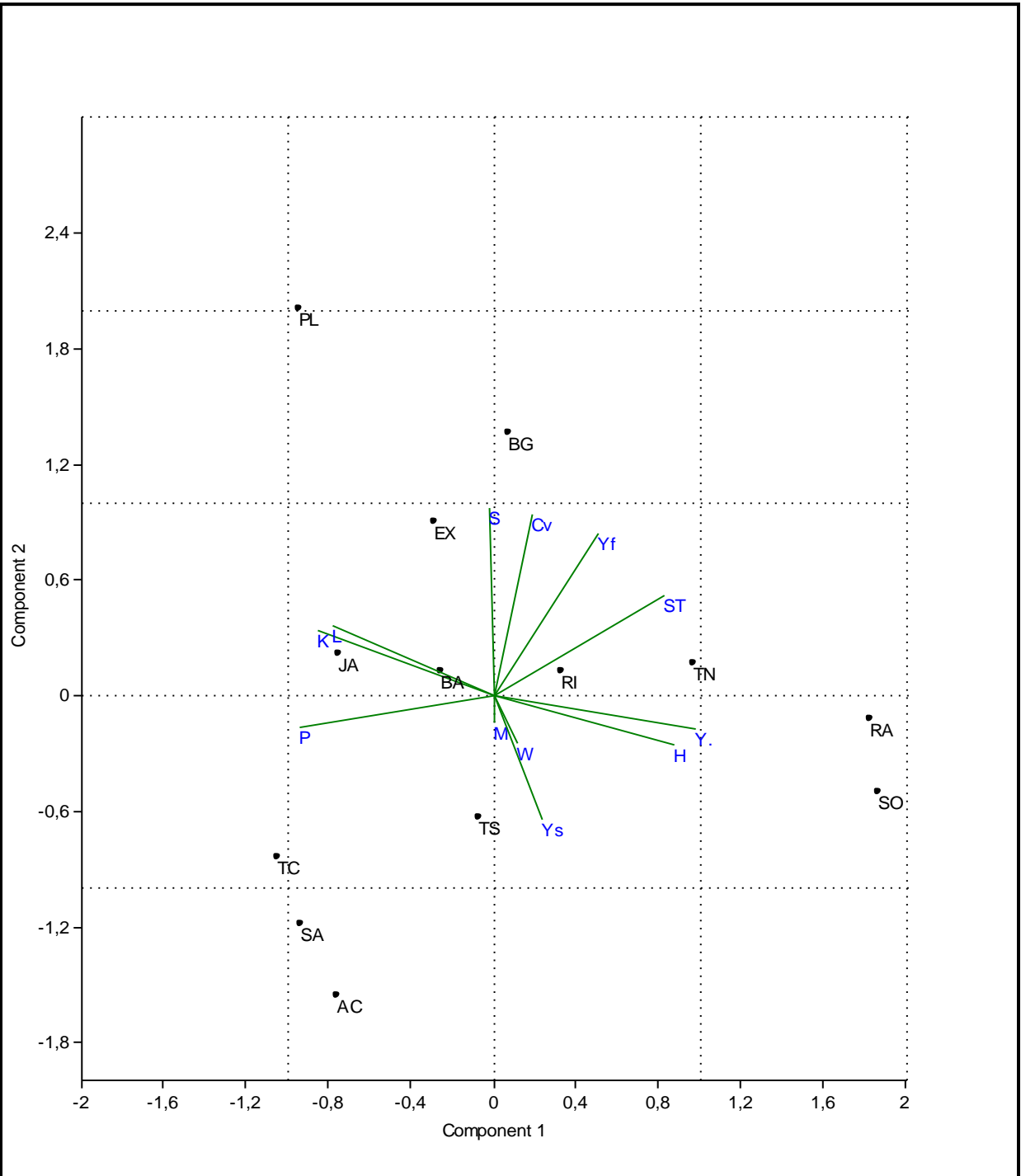
Ces trois génotypes associent donc performance de rendement et tolérance des stress mesurée par les indices TOP, STI et Pi. A ces trois génotypes et le long du même axe, s'opposent les génotypes Jaïdor et Tichedrett qui se caractérisent par des valeurs élevées pour les indices Pi, BOT et  $\sum \text{rank} = K$  et de faibles valeur des indices TOP, STI et  $Y_i$ . Ces deux génotypes présentent de faibles performances de rendement, ils sont sensibles aux stresses et peu stables (Figure 3).

**Tableau 7.** Coordonnées des géotypes sur les axes principaux de l'analyse en composantes principales.

<b>Géotypes</b>	<b>PC1</b>	<b>PC2</b>	<b>PC3</b>
AC = Acsad176	-0,760	-1,560	-1,563
BA = Barberousse	-0,252	0,123	1,525
BG = Bégonia	0,072	1,359	-0,781
EX = Express	-0,286	0,895	0,517
JA = Jaïdor	-0,751	0,212	-0,062
PL = Plaisant	-0,946	2,001	-1,189
RA = Rahma	1,825	-0,131	-0,206
RI = Rihane	0,328	0,119	1,332
SA = Saïda	-0,933	-1,193	-0,269
SO = Soufara	1,862	-0,506	-1,250
TC = Tichedrett	-1,048	-0,842	0,309
TN = Tina	0,965	0,162	0,665
TS = Tissa	-0,076	-0,639	0,972

A l'axe PC2 sont positivement corrélés les indices Si et Cv et le rendement obtenue sous conditions favorables ( $Y_F$ ). Cet axe représente les géotypes Acsad<sub>176</sub> et Saïda qui ont des scores négatifs et les géotypes Bégonia, Express et Plaisant qui ont des scores positifs (Figure 3). Acsad<sub>176</sub> et Saïda sont relativement plus stables, donc moins variables d'un environnement à l'autre et valorisent moins les environnements favorables à l'extériorisation du potentiel de rendement.

A l'inverse Bégonia, Plaisant et Express sont très variables d'un environnement à l'autre, donc ils sont instables et sensibles aux stressés, mais ils répondent positivement aux conditions favorables de production (Figure 3). L'axe PC3 représente bien les géotypes Barberousse, Rihane et Tissa qui ont des scores positifs. A cet axe sont négativement corrélés l'indice Wi et le rendement du site contraignant ( $Y_s$ ), et positivement corrélé l'indice MID=M (Tableaux 6 et 7). Ces trois géotypes se distinguent donc par une plus grande probabilité de figurer dans le tiers moyen des classements, ils sont plus stables (faible valeur de Wi) et présentent de faible rendement sous conditions stressantes. Ils sont donc sensibles aux stressés (faible rendement en situation stressante) (Figure 4).



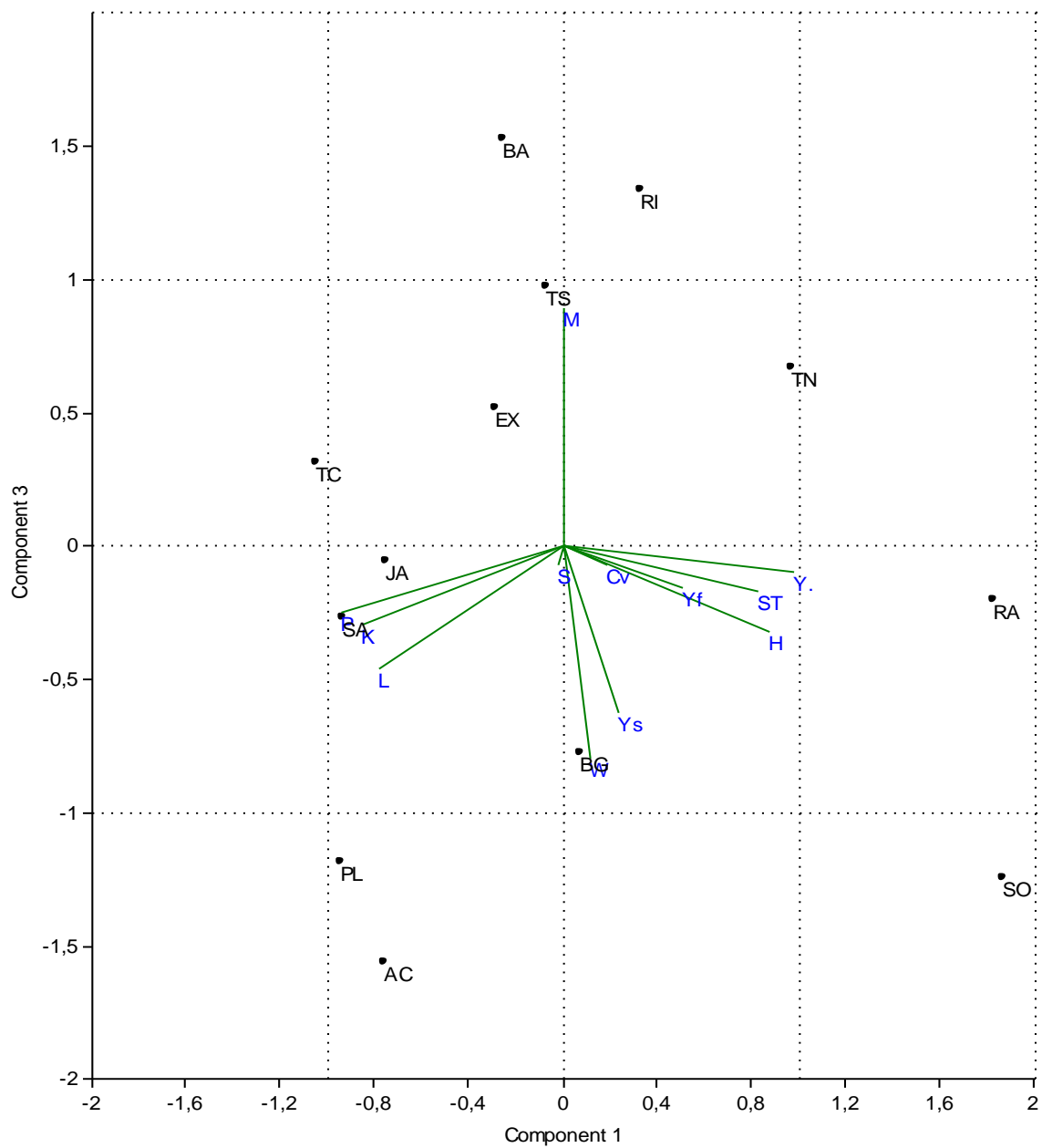
**Figure 3.** Bi-plot des composantes PC<sub>1</sub> et PC<sub>2</sub> représentant les génotypes et les indices de tolérance des stresses (AC = Acsad176, BA = Barberousse, BG = Bégonia, EX = Express, JA = Jaïdor, PL = Plaisant, RA = Rahma, RI = Rihane, SA = Saïda, SO = Soufara, TC = Tichedrett, TN = Tina, et TS = Tissa). K =  $\sum$ rank = indice Kang et al., (1991); H= TOP, M= MID, L= BOT = indices de Fox et al., (1990), Y<sub>i</sub> = rendement moyen de l'ensemble des environnements; P<sub>i</sub> = indice de Lin et Binns ( 1988); W<sub>i</sub> = écovalence ; S<sub>i</sub> = indice de sensibilité à la contrainte de Fischer et Maurer (1978) ; Y<sub>S</sub> et Y<sub>F</sub> = rendement en condition stressantes et en conditions favorables, respectivement ; ST<sub>i</sub> = indice de Fernandez ( 1992) ; CV= Coefficient de variation).

Plusieurs recherches utilisent des indices de mesure de la tolérance des stress à travers la mesure du rendement pour identifier des génotypes à large adaptation. Fernandez (1992) a classé la réponse des génotypes à la variation des milieux en quatre groupes, désignés A, B, C et D. Selon cette classification les génotypes du groupe A produisent un haut rendement aussi bien sous conditions favorables que défavorables. Ceux du groupe B donnent un haut rendement sous conditions favorables, alors que ceux du groupe C, au contraire donnent un haut rendement sous conditions contraignantes. Les cultivars du groupe D ont un faible potentiel de rendement quelque soit les conditions de croissance auxquelles ils sont soumis.

Les génotypes du groupe A sont les plus intéressants, parce qu'ils valorisent l'ensemble des milieux possibles. Ils seraient les mieux indiqués par les régions où la variation climatique inter annuelle est forte, engendrant des interactions génotype x environnement. Les génotypes des groupes B et C permettent une utilisation positive de l'interaction (Annichiarico *et al.*, 2005).

Les résultats de la présente étude classent les génotypes Soufara, Rahma et Tina dans le groupe A, suite à leur tolérance des stressés et leurs bonnes performances de rendement quelque soit l'environnement. Les génotypes Bégonia, Express et Plaisant sont classés dans le groupe B, parce qu'ils sont sensibles aux stressés mais ils valorisent les environnements favorables à l'expression du potentiel de rendement.

Acsad<sub>176</sub> et Saïda, par contre sont classés dans le groupe C parce qu'ils valorisent les environnements contraignant suite à leur tolérance des stressés, mais ils ne répondent pas à la fertilité des milieux. Les autres génotypes se classent dans le groupe D, ils se caractérisent par un faible potentiel de rendement sur l'ensemble des environnements testés.



**Figure 4.** Bi-plot des deux composantes, PC<sub>1</sub> et PC<sub>3</sub>, représentant les génotypes et les indices de tolérance des stressés (AC = Acsad176, BA = Barberousse, BG = Bégonia, EX = Express, JA = Jaïdor, PL = Plaisant, RA = Rahma, RI = Rihane, SA = Saïda, SO = Soufara, TC = Tichedrett, TN = Tina, et TS = Tissa). K =  $\sum \text{rank}$  = indice Kang *et al.*, (1991); H= TOP, M= MID, L= BOT = indices de Fox *et al.*, (1990), Y<sub>i</sub> = rendement moyen de l'ensemble des environnements; P<sub>i</sub> = indice de Lin et Binns (1988); W<sub>i</sub> = écovalence ; S<sub>i</sub> = indice de sensibilité à la contrainte de Fischer et Maurer (1978) ; Y<sub>S</sub> et Y<sub>F</sub> = rendement en conditions stressantes et favorables, respectivement ; STI = indice de Fernandez (1992) ; CV= Coefficient de variation).

## Conclusion

Le modèle de l'analyse de la variance indique la présence de l'interaction génotype x environnements, ce qui explique la variation des classements des différents génotypes par environnement. Les différents indices utilisés classent différemment les différents génotypes évalués. Ainsi l'indice la somme des rangs et la variance inter environnements classent Soufara et Rahma comme des génotypes stables et Bégonia, Plaisant et Tichedrett sont instables. L'indice P confirme la stabilité et la performance de Soufara et Rahma, il classe Tichedrett et Acsad<sub>176</sub> comme les moins performants, et Plaisant et Jaïdor comme les moins stables. L'écovalence classe Barberousse, Jaïdor et Rihane comme les plus stables, alors qu'Acsad<sub>176</sub> et Soufara sont classées comme étant les plus instables.

L'étude des liaisons entre les valeurs prises par les différents indices indique que les génotypes, les plus performants en moyenne, sont ceux qui associent à une faible valeur de l'indice Pi à une valeur élevée de l'indice STI. L'indice STI de Fernandez (1992) classe la réponse des génotypes à la variation des milieux en quatre groupes : Soufara, Rahma et Tina se distinguent par la tolérance des stress et la performance de rendements, quelque soit l'environnement. Bégonia, Express et Plaisant sont sensibles aux stress mais sont capables de valoriser les environnements favorables à l'expression du potentiel de rendement. Acsad<sub>176</sub> et Saïda valorisent les environnements contraignant suite à leur tolérance des stress, mais ils ne répondent pas à la fertilité des milieux. Les autres génotypes se caractérisent par un faible potentiel de rendement sur l'ensemble des environnements testés, ils sont peu intéressants du point de vue sélection.

## **CHAPITRE IV**

**EVALUATION DE LA TOLERANCE DE L'ORGE (*Hordeum vulgare* L.)**

**AUX STRESS ABIOTIQUES :**

**ETUDE DE LA REPONSE *in vitro***

## Résumé

Les effets du stress salin sur certaines caractéristiques morphologiques et physiologiques ont été étudiés sur trois cultivars différents d'orge (*Hordeum vulgare L.*) : Tichedrett, Fouara et Saïda. Après 7 jours de culture sur milieu MS, des plantules des trois cultivars ont été régénérées, puis soumises au stress salin à des concentrations de 0, 100, 200 mM NaCl pendant 15 jours. Les résultats montrent que le stress salin affecte l'ensemble des paramètres mesurés aussi bien physiologiques que morphologiques. Le nombre de racines, la longueur des racines, le poids frais des parties aérienne et racinaire, les contenus en potassium, en chlorophylles et le ratio  $K^+/Na^+$  diminuent, alors que les contenus en sodium et proline augmentent. Parmi les génotypes évalués, Tichedrett et Saïda se montrent plus résilients vis-à-vis du stress salin que la nouvelle variété Fouara. Cette tolérance semble être associée à une capacité d'accumuler plus de matière fraîche sous stress, tout en minimisant l'accumulation du sodium et en favorisant celle du potassium.

**Mots clés .** *Hordeum vulgare L.* , *in-vitro*, MS, salinité, résistance.

## Abstract

The effects of salt stress on some morphological and physiological characteristics were studied on three different cultivars of barley (*Hordeum vulgare* L.): Tichedrett, Fouara and Saïda. After 7 days of culture on MS medium, seedlings of the three cultivars were regenerated and then subjected to salt stress at the following concentrations of 0, 100, 200 mM NaCl for 15 days. The results show that salt stress affects all parameters measured both physiological and morphological. The number of roots, root length, fresh weight of shoot and root parts, the contents of potassium, chlorophyll and the ratio  $K^+ / Na^+$  decreases, while the sodium content and proline increased. Among the genotypes evaluated, Tichedrett and Saïda are more resilient against salt stress than the newly released variety Fouara. This tolerance appears to be associated with an ability to accumulate more fresh matter under stress while minimizing the accumulation of sodium and promoting that of potassium.

**Keywords:** *Hordeum vulgare* L. , *In vitro*, MS, salinity resistance

## Introduction

La salinité des sols et des eaux d'irrigation est un des facteurs limitatifs du développement et des productions agricoles. La salinisation progressive des sols des régions arides et semi-arides, qui constituent le tiers de la surface du globe, est un phénomène connu, en constante progression (Djerroudi *et al.*, 2010). La mise en culture de ces sols nécessite, entre autre, l'adoption de géotypes tolérant ce type de stress. Selon Munns *et al.*, (2006), la réponse des végétaux à la salinité dépend de l'espèce, de la variété, de la nature et l'intensité de la salinité, des conditions de culture et du stade de développement de la plante.

Chez les céréales, la résistance ou même la tolérance à l'aridité et à la présence de sels sont des qualités largement recherchées, afin d'étendre la culture à des régions peu favorables (Lutts *et al.*, 1996). Au delà de la sélection classique, différents moyens biotechnologiques, ayant pour objet d'augmenter les alternatives de la recherche des capacités de tolérance sont disponibles (Lutts *et al.*, 1996). Ainsi l'application brutale d'agents abiotiques à des souches végétales cultivées *in vitro* améliore la tolérance à divers stress, tels le froid (Bertin et Kinet, 1995) l'aluminium (Jain *et al.*, 1997), la salinité, et le déficit hydrique (Baraket *et al.*, 1996).

Malgré les efforts faits dans le domaine de la sélection pour la résistance aux stress biotiques, des baisses de rendements sont souvent notées chez les géotypes cultivés, suite à l'infection par les pathogènes. Pour preuve, la culture du blé tendre subit des baisses importantes de rendement grain suite à l'attaque de la rouille jaune touchant la variété sensible HD<sub>1220</sub>. Certes l'utilisation de fongicides limite les dégâts causés par les maladies, mais la recherche de variétés résistances, par des méthodes traditionnelles, est longue et onéreuse (Zalc *et al.*, 2004). Là aussi, le recours à la culture *in vitro* offre des possibilités, tels que le génie génétique et le transfert de gènes, qui viennent compléter les méthodes traditionnelles (Zalc *et al.*, 2004).

Pour ce faire, la recherche pour développer un protocole viable de régénération de plants à partir d'explants de l'espèce étudiée, provenant d'une large gamme variétale, est un pré-requis pour de futures investigations biotechnologiques (Ward et Jordan, 2001). En effet, la fréquence de régénération de plants et/ou formation des cals dépendent de l'espèce, du géotype du plant donneur et de l'explant utilisé : méristèmes, feuille, graine, embryon mature ou immature (Choi

*et al.*, 2000). Selon Bregitzer *et al.*, (1998) les limitations se situent au niveau du faible potentiel de régénération des cultivars modernes.

La transformation génétique est un puissant outil d'amélioration des plantes qui a été utilisé de manière extensive chez le blé, l'orge, le riz et le maïs. Cette technique est fortement dépendante de l'efficacité de prolifération des cals et de régénération des plantules lors de la culture *in vitro*. Plusieurs études indiquent que les capacités de prolifération et de régénération chez le blé et l'orge sont dépendantes de la composition du milieu de culture (Dahleen, 1999) et de la source d'explants (Redway *et al.* 1990 ).

Les embryons immatures sont reconnus comme étant les explants les plus efficaces pour la culture *in vitro* comparativement à l'utilisation de l'inflorescence (Redway *et al.* 1990 ), du mésocotyle, des graines (Choi *et al.*, 2000), du limbe foliaire, du méristème apical (Zhang *et al.*, 1999) et des embryons matures (Ganeshan *et al.*, 2003).

Comparativement aux embryons matures et aux graines, les embryons immatures ne sont pas disponibles tout le long de l'année, de plus, le stade de développement où ils sont les plus efficaces est difficile à déterminer. Les difficultés rencontrées lors de l'utilisation des embryons matures est leur capacité insuffisante de prolifération et de régénération de plantules. Pour améliorer la régénération et la prolifération des cals, chez le blé, Ozgen *et al.*, (1998) suggèrent l'utilisation des graines ou ce qu'ils appellent la culture *in vitro* des embryons supportés par l'endosperme.

L'objectif de ce travail consiste à étudier l'effet du stress salin sur les caractéristiques morpho- physiologiques de trois variétés d'orge régénérées *in vitro* à partir des graines matures.

## **Matériel et méthodes**

### **1. Matériel végétal**

L'expérience a été réalisée au laboratoire de biologie de l'Université Larbi Ben M'Hidi d'Oum El Bouaghi, durant l'année universitaire 2009/2010. Les graines des trois génotypes employés ont été fournies gracieusement par la Coopérative des Céréales et des Légumes Secs

(CCLS) d'Oum El Bouaghi. Trois variétés d'orge : Tichedrett, Saïda<sub>183</sub> et Fouara, ont été utilisées comme matériel végétal. Saïda<sub>183</sub> est une orge à 6 rangs, issue de la sélection généalogique pratiquée à l'intérieure des populations locales, de l'Ouest du pays. Elle est de type printemps, à paille haute, sensible à l'Helminthosporiose (Benmahammed *et al.*, 2001).

Saïda<sub>183</sub> est cultivée sous un large éventail d'environnements, occupant ainsi une importante proportion de la sole réservée à la culture de l'orge (Benmahammed *et al.*, 2001). Tichedrett est une orge à 6 rangs, issue de la sélection à l'intérieure des populations locales des hautes plaines de l'Est (Benmahammed *et al.*, 2001). C'est une variété de type demi-hiver, rustique, s'adaptant plus aux conditions environnementales des hauts plateaux de l'Est du pays où elle est largement adoptée (Boufenar et Zaghouane, 2004).

Comparativement à Saïda<sub>183</sub>, Tichedrett présente une longue phase végétative associée à des besoins en vernalisation plus prononcés (Benmahammed *et al.*, 2001, Benkherbache, 2011). Selon Bahlouli *et al.*, (2005) cette variété réalise tardivement le stade épi 1cm, aux environs de 1136 °C accumulés. De plus elle privilégie d'investir plus de matière sèche dans les talles que dans les épis, produisant plus de paille que de grain (Bahlouli *et al.*, 2005).

Fouara est une orge à 6 rangs, c'est une sélection de la station de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Sétif, sélection faite à l'intérieur du matériel en ségrégation provenant de l'ICARDA ( International Center of Agricultural Research in Dry Areas), en 1991/92 (Benmahammed *et al.*, 2001). C'est une variété très productive et de bonne stabilité, elle fut inscrite au catalogue national depuis 1997 (Benmahammed *et al.*, 2001, Menad *et al.*, 2011).

## **2. Préparation du milieu de culture**

L'aspect le plus important de la culture *in vitro* est le choix d'un milieu de culture qui assure le bon développement des explants. Le milieu de culture utilisé dans le cas de la présente expérimentation est le milieu MS de Murashige et Skoog (1962). Les constituants principaux de ce milieu sont l'eau ionisée et les sels minéraux : les macroéléments (N, P, K, S, Mg, Ca) et les micro-éléments (Fe, B, Mn, Zn, Cu, N, Co, Mo, I). La source de carbone est le saccharose. Les

solutions mères des macro- et micro éléments sont préparées séparément dans 600 ml d'eau dé-ionisée et complétées à 1000 ml avec de l'eau distillée.

La solution mère de Fe-EDTA est préparée dans 600 ml d'eau dé-ionisée, qui est portée à ébullition après ajout de 10 gouttes de NaOH. Le Na<sub>2</sub>EDTA est complètement dissous, suivi de la dissolution du FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O. Le volume est complété à 1000 ml avec l'eau distillée. La solution mère des vitamines est préparée dans 70 ml d'eau dé-ionisée. Les différentes vitamines sont dissoutes et le volume de la solution mère obtenue est complété à 100 ml avec l'eau distillée (Tableau 1).

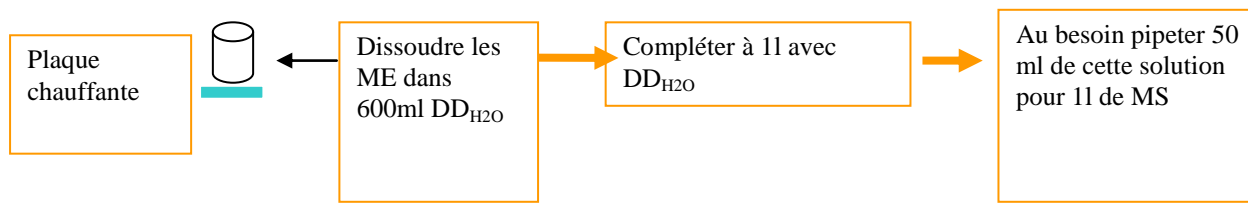
### 3. Stérilisation du milieu de culture et des explants

La culture *in vitro* nécessite l'emploi de conditions aseptiques pour ne pas gêner le développement des embryons par la présence des micro-organismes (Robert *et al.*, 1998). Le maintien des cultures en conditions aseptiques sous-entend la stérilisation des milieux de culture, d'instruments de manipulation et de dissection, d'eau de rinçage et des caryopses. La stérilisation du milieu de culture, de l'eau de rinçage et des contenants en verre, est assurée autoclavage à une température de 121°C et une pression de 15 psi pendant 20 minutes (Robert *et al.*, 1998) (photo 1).

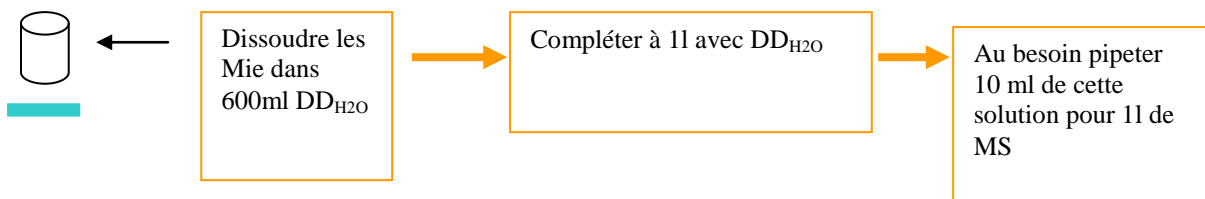
Le temps de stérilisation est également important, si toutefois le volume du milieu à stériliser est plus important, il est recommandé d'augmenter le temps de stérilisation. En raison de leur sensibilité à la chaleur, les vitamines et les acides aminés sont ajoutés au reste du milieu auto-clavé, après avoir été stérilisé, mécaniquement par microfiltration (0.45 ou 0.22 uni) dans un contenant stérile. Ils sont ajoutés en conditions aseptiques, sous la hotte, avant la gélification du milieu et à une température de 45°C (Robert *et al.*, 1998).

#### **Tableau 1.** Préparation de milieu de culture

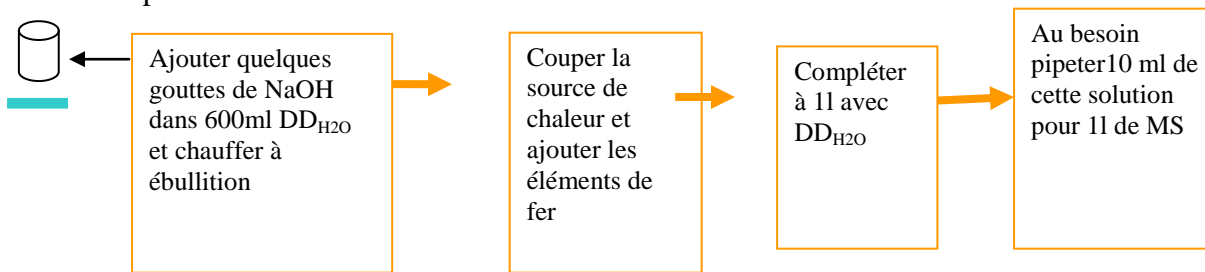
##### 1. Préparation de la solution mère des macroéléments



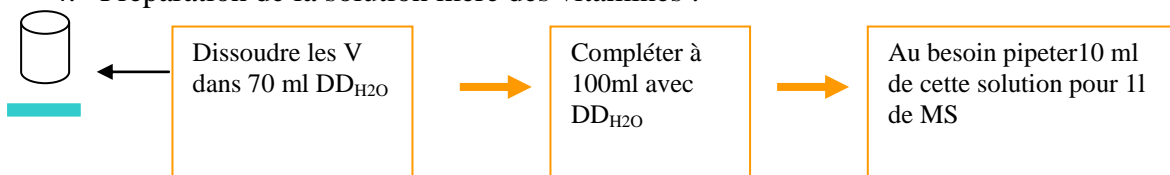
## 2. Préparation de la solution la mère des micro éléments



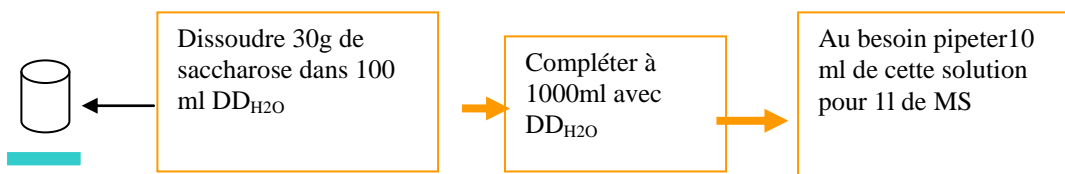
## 3. Préparation de la solution mère de fer



## 4. Préparation de la solution mère des vitamines :



## 5. Préparation de la solution mère de saccharose





**Photo 1.** Stérilisation du milieu

La désinfection des caryopses est une opération très délicate car elle consiste à plonger les graines dans un désinfectant très agressif. Si le bain est trop prolongé, celui-ci risque d'attaquer le tégument et de tuer la graine. Par contre si le bain est trop court, la désinfection n'est pas complète et lors de la mise en culture, les micro-organismes se développeront.

Selon Boulay (1993) la durée des bains varie selon le type de grain et la concentration du désinfectant : plus la concentration en hypochlorite est forte plus le temps de passage dans la solution de désinfectant doit être court. De même, plus la graine est fragile, plus la concentration du désinfectant devra être faible et la durée d'immersion courte. Les caryopses sont désinfectés par une solution de 25 % d'eau de javel commerciale (3 % d'hypochlorite de sodium), pendant 10 minutes, suivi de 3 rinçages successifs à l'eau distillée stérilisée.

Les mains sont lavées avec du savon ensuite rincé à l'alcool éthylique à 70° ou l'eau de javel commerciale (12°). Le travail à la flamme est indispensable, même sous une hotte (Boulay, 1993). Les manipulations se font entre deux flammes assurées par deux becs Bunsen, afin d'être sûr d'avoir une atmosphère stérile sans être gêné par la crainte de se brûler. Entre chaque

manipulation, les instruments (pinces et scalpels) sont flambés par la flamme du bec Bunsen et misent dans une solution d'alcool éthylique à 70°.

#### 4. L'ensemencement

L'ensemencement des graines stérilisées est réalisée sur le milieu de culture MS coulé dans des boîtes de Pétri en plastique, stérilisées, sous hotte à flux laminaire dont les parois intérieures ont été préalablement désinfectées avec l'eau de javel à 12°C. Tous les instruments de travail stérilisés sont déposés, à portée, de façon à faire le moins de gestes au cours de la manipulation (Photo 2).



**Photo 2 :** Ensemencement des caryopses matures d'orge sur milieu MS, sous asepsie

Les pinces et scalpels sont flambés, avant et après chaque manipulation, par la flamme du bec Bunsen et misent dans une solution d'alcool éthylique à 70°. Les graines sont disposées à raison de quatre par boîte (Photo 1). Les boîtes de Pétri, 4 répétitions, sont ensuite scellées avec du parafilm et placées dans sous obscurité à une température de 25°C pendant 15 jours, selon la procédure décrite par Boulay (1993).

## 5. Application du stress salin

Après deux semaines les plantules régénérées sont transférées dans des tubes à essai, à raison d'une plantule par tube contenant 6 ml de milieu MS, additionné de 0, 100 ou 200 mM NaCl L<sup>-1</sup> (Photo 3), répétées 4 fois et ventilées selon un dispositif aléatoire. Les tubes sont placés dans une chambre de culture sous une température ambiante de 25°C et une photopériode de 18h/6h.



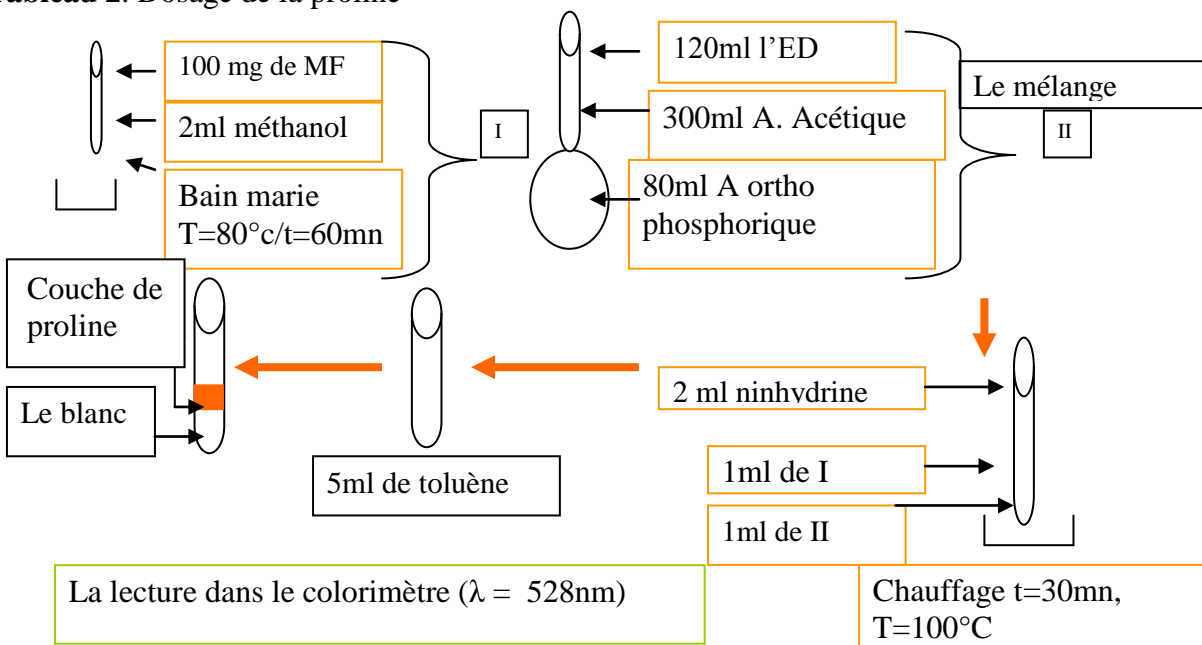
**Photo 3.** Ensemencement des plantules dans le milieu MS additionné de NaCl

Au bout de deux semaines les mesures suivantes ont été réalisées sur les plantules régénérées :

- Le nombre de graines germées
- Le nombre de racines,
- Longueur de la plus longue racine
- Longueur de la coléoptile
- Poids frais et sec des parties aériennes et racinaires.
- Dosage de la proline a été déterminé sur un échantillon de 100 mg de matière fraîche qui sont prélevés sur le tiers médian foliaire, et placés dans un tube à essai auquel on ajoute 2 ml de méthanol à 40%. L'échantillon est chauffé, pendant 1 heure dans un bain-marie à 85°C. Après refroidissement, 1 ml de la solution d'extraction est ajouté à 1 ml d'acide acétique, 25 mg de ninhydrine et 1 ml du mélange eau distillée -acide acétique -acide ortho phosphorique de

densité 1.7. L'ensemble est porté à ébullition pendant 30 mn au bain marie. Après refroidissement, on additionne 5 ml de toluène après agitation au vortex et on procède à la lecture (Tableau 2). La proline est exprimée en  $\mu\text{g g}^{-1}$  de matière fraîche.

**Tableau 2.** Dosage de la proline



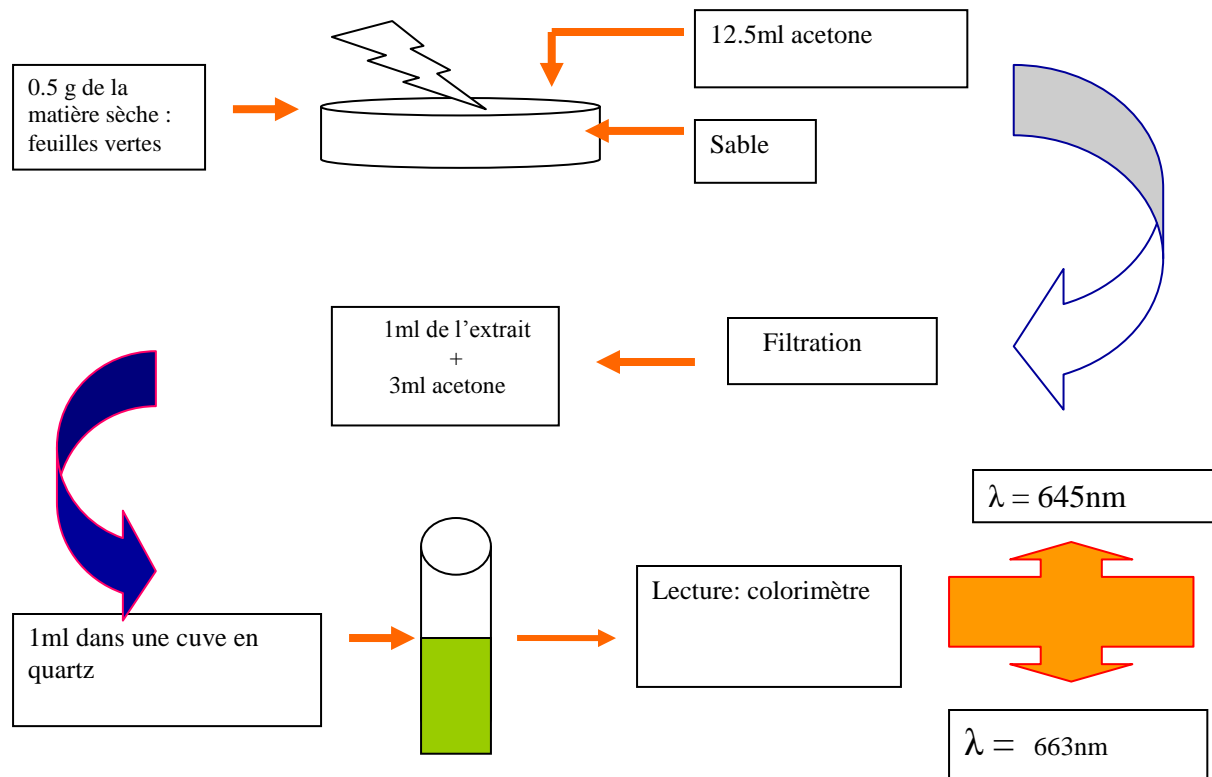
- La chlorophylle est extraite selon la procédure décrite par Ferus et Arkosiova (2001) qui consiste en une macération du végétal dans l'acétone. On pèse 0.5g de limbe foliaire qui est découpé en petits morceaux puis broyé dans un mortier avec 25 ml d'acétone à 80%. Après broyage total, la solution est filtrée et mise dans des boîtes noires pour éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière. 1 ml de la solution est mis dans la cuve du spectrophotomètre, et la lecture se fait aux longueurs d'ondes ou densités optiques (DO) 645 et 663 nm, après étalonnage de l'appareil avec la solution témoin de l'acétone à 80% (Tableau 3). Les valeurs de la chlorophylle sont déduites selon les formules attribuées à Arnon (1949) par Ferus et Arkosiova (2001):

$$\text{Chl}_a \text{ (mg l}^{-1}\text{)} = 12.7 \text{ DO}_{663} - 2.69\text{DO}_{645}$$

$$\text{Chl}_b \text{ (mg l}^{-1}\text{)} = 22.9 \text{ DO}_{645} - 4.68\text{DO}_{663}$$

$$\text{Chl}_{\text{total}} \text{ (mg l}^{-1}\text{)} = 8.02 \text{ DO}_{663} + 20.20 \text{ DO}_{645}$$

**Tableau 3.** Détermination de la teneur en chlorophylle



- Pour effectuer le dosage des ions potassium ( $\text{K}^+$ ) et sodium ( $\text{Na}^+$ ), les parties aériennes sont soigneusement lavées à l'eau distillée pour éliminer toutes traces de milieu de culture. L'échantillon est égoutté puis mis à sécher dans une étuve à une température de  $60^\circ\text{C}$  pour une durée de 24 heures. Au moment de l'analyse chimique, les échantillons sont séchés de nouveau pendant 2 heures à une température de  $60^\circ\text{C}$ , avant d'être broyés. 100 mg de poudre sont mis dans un creuset en porcelaine, et séjournent dans un four à moufle à une température de  $500^\circ\text{C}$ , pendant 5 heures, selon la procédure décrite par CLLAF, (1969). Après

refroidissement, les cendres sont solubilisées par ajout de 2.5 ml de HCL (37%), digérées pendant 3 minutes, puis filtrer à l'eau distillée. Le filtrat est recueilli dans une fiole de 50 ml et constitue la solution mère à partir de laquelle la détermination des éléments est faite.  $[K^+]$  et  $[Na^+]$  sont dosés par un photomètre à flamme de type Jenway, PFP7 (Photo 4, Tableau 4).



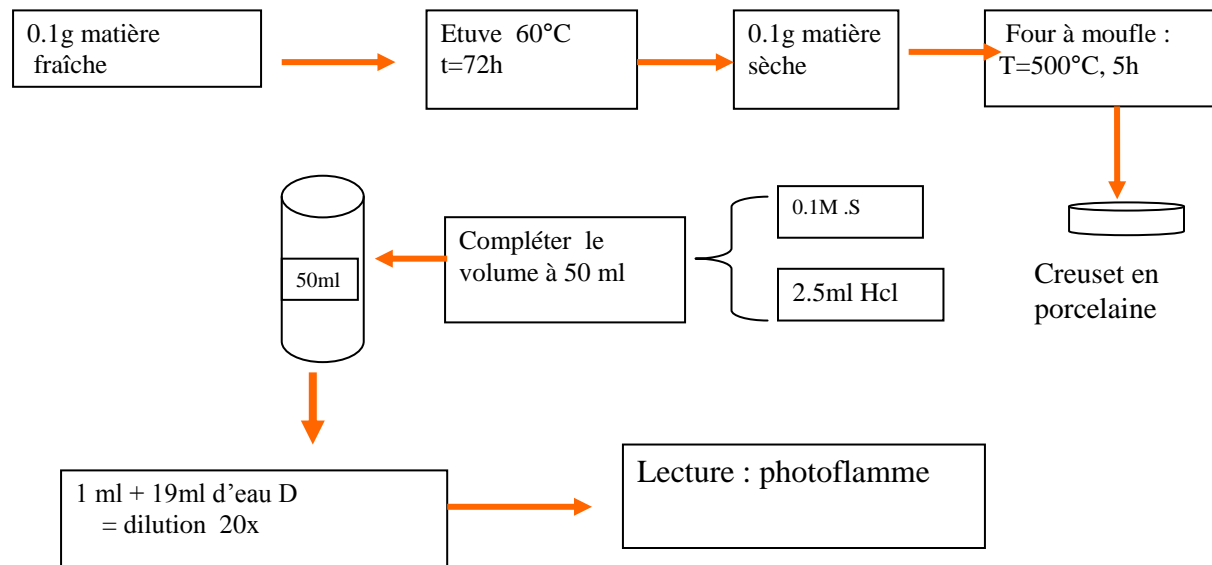
**Photo 4.** Photomètre à flamme

- Le taux de contamination (T,%) est calculé par la formule suivante :

$$T (\%) = 100(X/Y),$$

où X représente le nombre des caryopses régénérant des plantules et Y est le nombre total des caryopses ensemencés.

**Tableau 4 . Détermination des ions potassium ( $K^+$ ) et sodium ( $Na^+$ ) du feuillage**



## 6. Analyse des données

Les données collectées pour les différents paramètres mesurés ont été analysées avec le logiciel Cropstat 7.2.3. (2009). La comparaison des moyennes est faite sur la base de la plus petite différence significative au seuil de 5%.

## Résultats et discussion

### 1. Réponse des caryopses d'orge à la culture *in vitro*

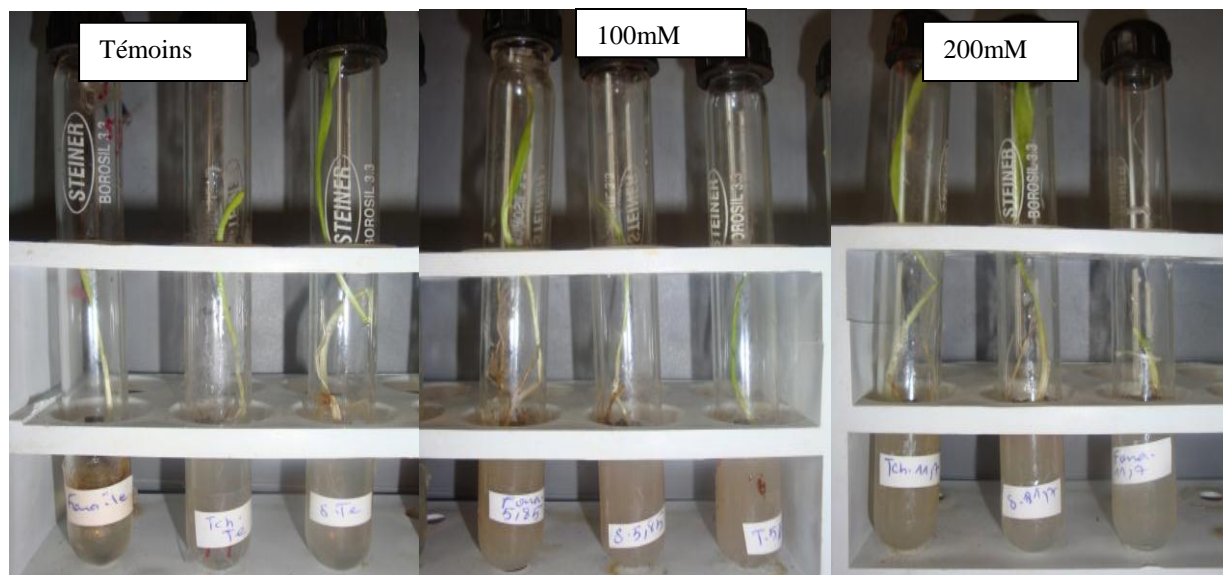
Discutant l'efficacité de la technique *in vitro*, Malik *et al.*, (2003) mentionnent que la régénération des plantules à partir des embryons matures était supérieure à 88% chez le meilleur génotype étudié, comparativement aux cals dérivés des inflorescences, et des apex de méristèmes, utilisés comme explants. Parmi les milieux étudiés, le milieu I<sub>6</sub>, additionné de 0.5mg de kinétine et de 2 mg l<sup>-1</sup> de 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid), induisait la prolifération de cals la plus élevée et le même milieu, additionné de 1.0 mg l<sup>-1</sup> de kinétine et de 0.5 mg l<sup>-1</sup> de NAA produisait la plus forte régénération.

Dans la présente étude, où seule le milieu MS est utilisé sans variation des hormones, le taux de germination est resté dans les limites acceptables variant entre 58 % et 59 %. Ces résultats indiquent que les trois génotypes étudiés présentent des capacités similaires de réponse des caryopses à la culture *in vitro*. Wani *et al.*, (2010) rapportent des taux de régénération de plantules à partir d'embryons matures, variant de 44.8 à 53.4% chez riz (*Oryza sativa* L.). Les caryopses non viables prennent une couleur brunâtre, puis dépérissent sans aucun indice de division cellulaire.

Les caryopses qui germent, laissent apparaître un début de callogénèse, provenant de la région scutellaire, représenté par un amas de cellules indifférenciées, de couleur blanchâtre tirant vers le jaune pâle. Ce type d'amas cellulaire est embryogène comme le mentionnent Malik *et al.*, (2003), qui notent que l'ajout, de 2.5 mg l<sup>-1</sup> de 2,4-D au milieu MS, favorise la formation de cals compacts blancs, embryogènes chez le blé tendre. Rashid *et al.*, (1996) font remarquer que les cals issus de la région scutellaire présentent une plus grande capacité de régénération des plantules, comparativement aux cals provenant de l'endosperme.

L'absence de 2,4-D dans le milieu utilisé dans la présente étude explique la faible production de cals et la prévalence de la germination. Ayolié *et al.*, (2007) mentionnent que le problème de la germination se pose beaucoup en cas d'absence ou d'ajout de faibles quantités de 2,4-D. Yasmin *et al.* (2001) notent que les embryons matures de blé ne passent pas par la phase callogénèse sous faibles concentrations de 2,4-D.

L'augmentation de la concentration du 2, 4-D dans le milieu de culture induit une importante prolifération de cals chez le blé. Comme l'objectif de cette étude est de tester la faisabilité de la culture *in vitro* des caryopses d'orge, pour la régénération des plantules en vue de leur utilisation comme matériel de base pour le testage de la tolérance au stress salin, la phase callogénèse a été évitée. En effet l'avantage de la phase callogénèse est d'avoir un stock de cellules non différenciées apte à régénérer des plantules à tout moment et au besoin, mais ce stock doit être maintenu par réensemencement périodique pour ne pas perdre la compétence en matière de régénération (Wani *et al.*, 2010).



**Photo 5.** Développement des plantules d'orge sous stress salin *in vitro* sur milieu MS.

## 2. Réponse *in vitro* des plantules d'orge à la salinité

### 2.1. Caractères morphologiques

Hormis la longueur de la coléoptile, l'analyse de la variance des autres caractères morphologiques mesurés : le nombre de racines, la longueur racinaire, les poids frais des parties racinaire et aériennes, indique des effets principaux génotype et saliné significatifs, ainsi que leur interaction (Tableau 5).

**Tableau 5.** Carrés moyens de l'analyse de la variance des caractères morphologiques mesurés

Source	Ddl	NR	LR	PFR	LC	PFA
Génotype (G)	2	5.86*	1.53*	3.63*	0.09 <sup>ns</sup>	880.1**
Stress (S)	2	10.33*	2.17**	4.03*	2.43 <sup>ns</sup>	1233.7**
G x S	4	5.81*	1.66*	5.79*	1.61 <sup>ns</sup>	1390.4**
Erreur	27	2.11	0.46	1.14	1.61	270.6

ns, \*, \*\* : effet non significatif et significatif au seuil 5% et 1% ; NR = nombre de racines ; LR = longueur racinaire ; PFR = poids frais partie racinaire ; LC= Longueur coléoptile ; PFA= poids frais partie aérienne.

L'analyse des moyennes des caractères morphologiques du facteur principal génotype indique que comparativement aux variétés locales Tichedrett et Saïda, Fouara se distingue par des valeurs moyennes les plus faibles pour le poids frais des parties arienne et racinaire (Tableau 6, Figure 1).

Saïda se caractérise par des valeurs moyennes, les plus élevées, pour le nombre de racines et le poids frais des parties aérienne et racinaire. Par contre Tichedrett se distingue surtout par un système racinaire très long et un poids frais aérien élevé (Tableau 6, Figure 1). Ces différences sont surtout d'orge génétique, calculées en moyenne des trois traitements salins.

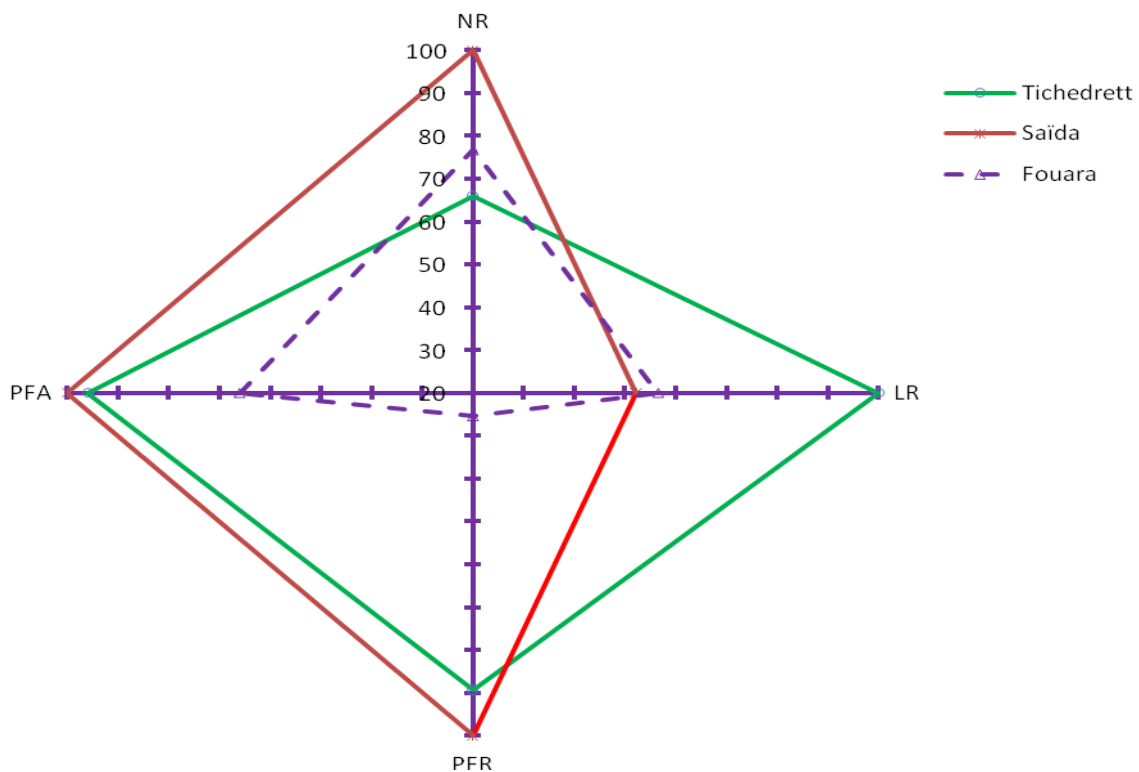
L'étude de l'effet moyen de la salinité indique que l'ensemble des caractères morphologiques, hormis la longueur de la coléoptile, réagissent au stress salin à des degrés divers. Ainsi le nombre de racines et la longueur du système racinaire semblent moins sensibles à l'effet de la salinité comparativement au poids frais des parties aérienne et surtout racinaire (Tableau 6, Figure2). Ces résultats corroborent ceux de Cheikh M'Hamed *et al.*, (2008) qui mentionnent que les effets de la salinité se manifestent principalement par une diminution de la croissance de l'appareil végétatif, particulièrement par une baisse des poids de la matière fraîche et sèche parties aériennes et racinaires

**Tableau 6.** Valeurs moyennes des caractères morphologiques mesurés chez les trois génotypes soumis à trois intensités de stress salin.

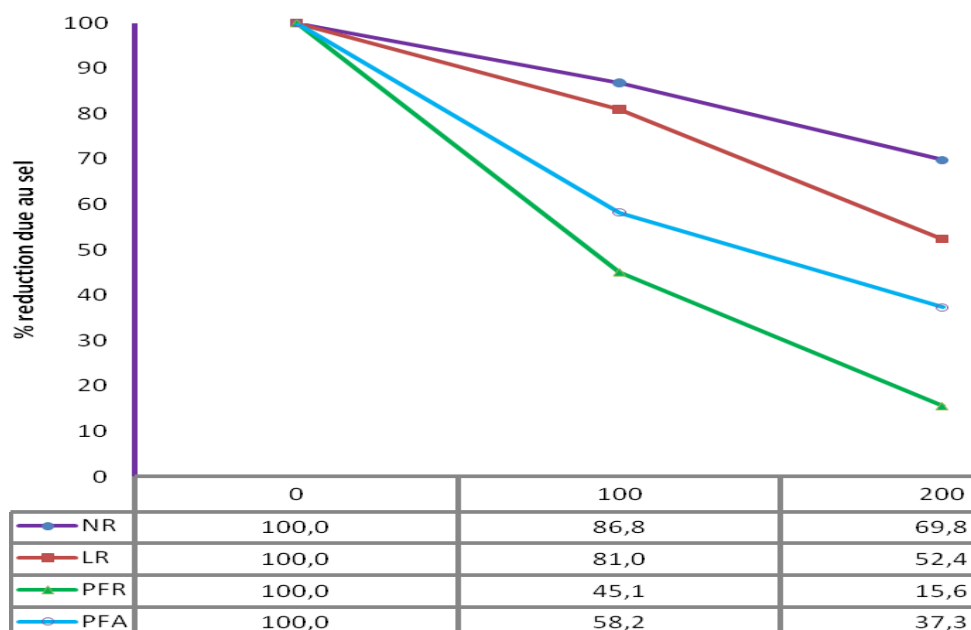
Traitements		NR	LR (cm)	PFR (mg)	LC (cm)	PFA (mg)
<b>Génotype (G)</b>						
Tichedrett		3.7	2.3	41.7	1.6	160.0
Saïda		5.6	1.2	46.7	2.1	166.7
Fouara		4.3	1.3	11.9	2.1	110.0
	Ppds <sub>5%</sub>	1.2	0.5	1.0	1.1	13.8
<b>Salinité (S)</b>						
	0	5.3	2.1	62.3	2.2	223.3
	100	4.6	1.7	28.1	1.9	130.0
	200	3.7	1.1	9.7	1.6	83.3
	Ppds <sub>5%</sub>	1.2	0.5	1.0	1.1	13.8
<b>G x S</b>						
Tichedrett	0	4.0	3.0	73.0	2.0	270.0
	100	3.8	2.5	43.0	1.7	120.0
	200	3.3	1.4	9.0	1.1	90.0
Saïda	0	6.7	1.5	82.0	2.2	220.0
	100	6.0	1.2	39.0	2.1	170.0
	200	4.0	1.0	19.0	1.9	110.0
Fouara	0	5.3	1.7	32.0	2.5	180.0
	100	4.0	1.3	2.4	2.0	100.0
	200	3.7	1.0	1.2	1.9	50.0
	Ppds <sub>5%</sub>	2.1	0.9	1.7	1.8	23.9

NR = nombre de racines ; LR = longueur racinaire ; PFR = poids frais racinaire ; LC= Longueur coléoptile ; PFA= poids frais partie aérienne.

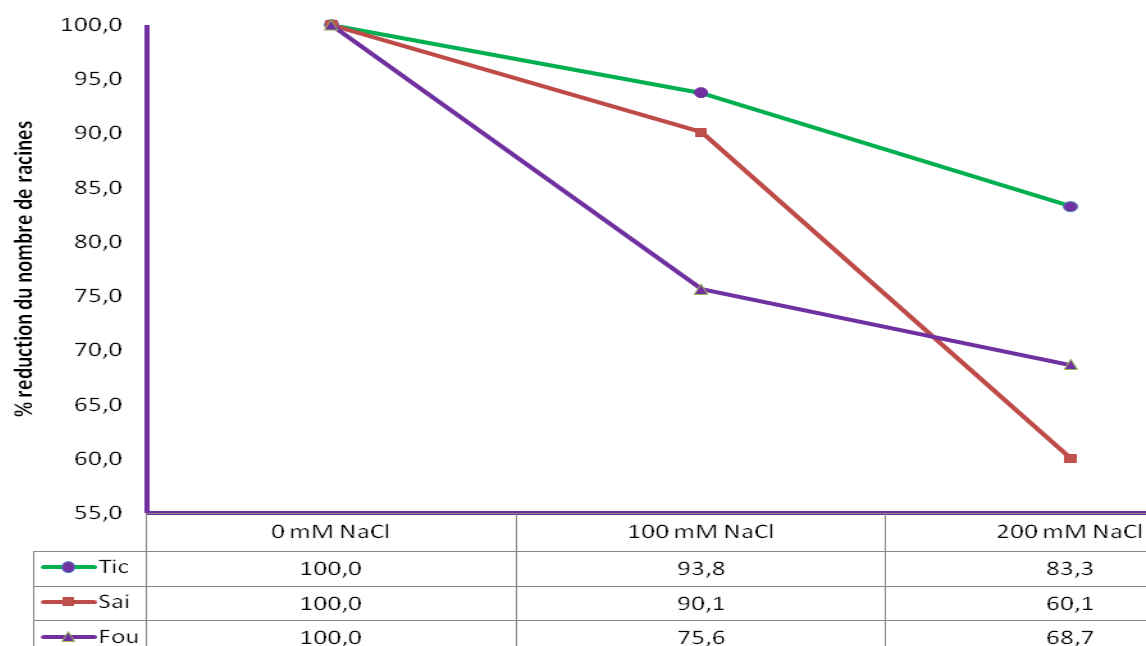
L'étude de l'interaction génotype x salinités montre que pour le nombre de racines émises, le cultivar Tichedrett se montre résistant aux deux seuils des 100 et 200 mM NaCl, perdant uniquement 6% et 17% des valeurs mesurées sur le témoin (Tableau 6, Figure 3). Par contre Saïda se montre résistante au stress de 100 mM NaCl, perdant uniquement 10% de la valeur observée chez le témoin, et très sensible au seuil de salinité de 200 mM NaCl où elle subit une réduction de nombre de racines de près de 40% (Tableau 6, Figure 3). Cependant sous ce stress sévère Saïda présente une longueur racinaire équivalente à celle que Tichedrett présente en l'absence de stress. Fouara se montre sensible à la salinité, et elle perd 25 et 30% de ses capacités en matière de d'émission racinaire, lorsqu'elle est soumise à 100 et 200 mM NaCl, respectivement (Tableau 6, Figure 3).



**Figure 1.** Effet principal génotype : comparaison des différents génotypes pour les caractères morphologiques mesurés (valeurs en % du maxi).



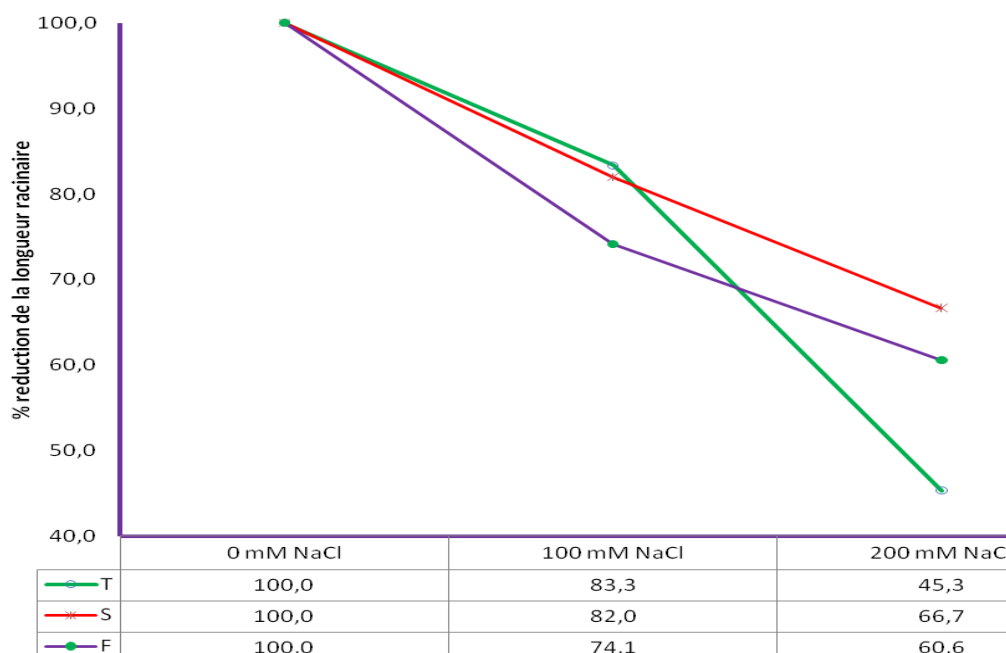
**Figure 2.** Effet principal salinité : comparaison de l'effet salinité sur les caractères morphologiques (valeurs en % du témoin 0 mM NaCl).



**Figure 3.** Variation relative du nombre de racines par plantule des trois génotypes en fonction du degré de stress salin

En ce qui concerne la longueur des racines, la réponse des génotypes évalués indique que sous stress de 100 mM NaCl, Tichedrett et Saïda se montrent relativement moins sensibles que Fouara, vu qu'elles perdent moins de 10% de leur capacité. Alors que Fouara perd, sous ce stress salin, 25% de sa capacité d'élongation racinaire (Tableau 6, Figure 4).

Sous stress plus sévère de 200 mM NaCl, Tichedrett présente la plus grande sensibilité, réduisant jusqu'à 55% de la longueur de son système racinaire. Par contre Fouara et Saïda restent assez sensibles, mais de manière moindre comparativement à Tichedrett. Au seuil de 200 mM NaCl, la réduction de la longueur des racines est de 35 et 40%, respectivement pour Saïda et Fouara (Tableau 6, Figure 4).



**Figure 4.** Variation relative de la longueur racinaire des trois génotypes en fonction du degré de stress salin

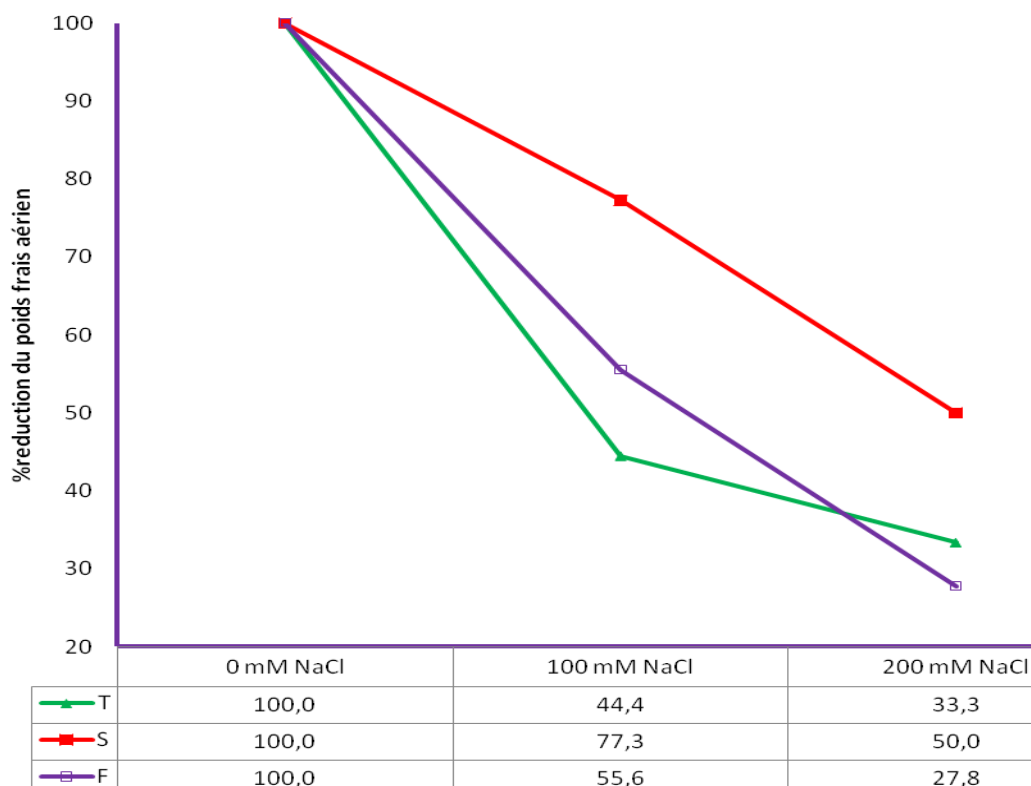
En ce qui concerne le poids frais des racines, l'étude des résultats indique Tichedrett et Saïda montrent une réponse linéaire avec une sensibilité moyenne à 100 mM NaCl alors qu'à ce seuil Fouara se montre très sensible. En effet sous stress de 100 mM NaCl, les cultivars

Tichedrett et Saïda réduisent la masse racinaire de près de 42 et 55 %, par contre, à ce seuil, Fouara réduit son système racinaire de plus de 93% (Tableau 6, Figure 5).

Sous stress sévère, les trois variétés sont fortement affectées, perdant plus de 80% de leur masse racinaire (Tableau 6, Figure 5). Pour le poids frais aérien, Saïda est la moins sensible sous les deux intensités de stress. Alors que Tichedrett et Fouara se montrent plus sensibles sous les deux intensités de stress salin (Tableau 6, Figure 6). Ainsi par exemple, la réduction relative de la masse des parties aériennes de Saïda, sous stress sévère est similaire à celle Tichedrett sous stress intermédiaire, de 100 mM NaCl, et supérieure à celle de Fouara sous la même intensité du stress salin (Tableau 6, Figure 6)



**Figure 5.** Variation relative du poids frais racinaire des trois génotypes en fonction du degré de stress salin



**Figure 6.** Variation relative du poids frais aérien des trois génotypes en fonction du degré de stress salin

Les résultats de la présente étude montrent que la salinité affecte négativement la longueur des racines, le nombre de racines, et le poids frais des parties aériennes et racinaires. Ils montrent aussi des différences de réponse variétale entre les trois génotypes et une interaction génotype x salinité (Photo 5). Ils corroborent les résultats d'autres recherches notamment celles de Munns *et al.*, (2006) et Bakht *et al.*, (2011). Selon Bakht *et al.*, (2011) des concentrations élevées de salinité avaient pour effet de réduire de la hauteur des plantules de maïs (*Zea mays dis* L.). Cette réduction est variable selon les cultivars étant de 75%, chez un génotype et de 66%, chez l'autre



**Photo 5.** Effet du stress salin sur le développement des plantules d'orge Fouara, Saïda et Tichedrett

La salinité avait un effet négatif sur l'accumulation de la matière fraîche des tiges, les réduisant de 66 et 89% chez le premier et le second génotype (Bakht *et al.*, 2011). Zhu *et al.*, (2004) mentionnent que la salinité affecte négativement la longueur de la coléoptile et le développement du système racinaire ce qui a pour effet de retarder la germination et la levée des plantules.

Selon Munns *et al.*, (2006),  $\text{Na}^+$  est la cause primaire des dommages ioniques causés à la plante. Ces dommages sont associés à l'accumulation de l'ion  $\text{Na}^+$  dans les tissus foliaires, produisant des nécroses chez les feuilles les plus âgées. L'accumulation, à des niveaux toxiques, des ions Na et Cl, dans les parties aériennes de la plante, affecte négativement le métabolisme. En effet selon Munns *et al.*, (2006), le stress salin inhibe l'absorption des éléments nutritifs essentiels comme le P et K ce qui affecte la croissance et le développement de la plante (Zhu *et al.*, 2004).

## 2.2. Caractères physiologiques

L'analyse de la variance des paramètres physiologique montre des effets génotype et salinités ainsi qu'une interaction génotype x salinités significatifs. La comparaison des trois génotypes indique que Saïda se distingue par des valeurs élevées de la proline, la teneur en  $K^+$ , en  $Na^+$  et le ratio  $K^+/Na^+$ . Tichedrett se distingue par des valeurs élevées des chlorophylles totales, a et b et la teneur en  $Na^+$ , alors que Fouara présente une valeur élevée du ratio des chlorophylles a/b (Tableau 7, Figure 7). Sous l'effet du stress salin, on note une réduction de la teneur en  $K^+$ , du ratio  $K^+/Na^+$ , des chlorophylles a, b, a+b et du ratio chlorophylle a/b. Par contre, il ya augmentation, sous l'effet du stress salin, de la teneur en  $Na^+$ , et de la proline (Tableau 7, Figure 8).

La réduction de la teneur en  $K^+$ , sous l'effet du stress salin est moins importante chez Saïda, suivie de Tichedrett qui prend une position intermédiaire et elle est plus importante chez Fouara. Notamment sous stress sévère de 200 mM NaCl, où Saïda montre une réduction de 30% comparativement à Tichedrett qui présente une réduction de 40%, alors que la teneur en  $K^+$  chez Fouara baisse de 50% sous l'effet du stress salin (Tableau 7, Figure 9).

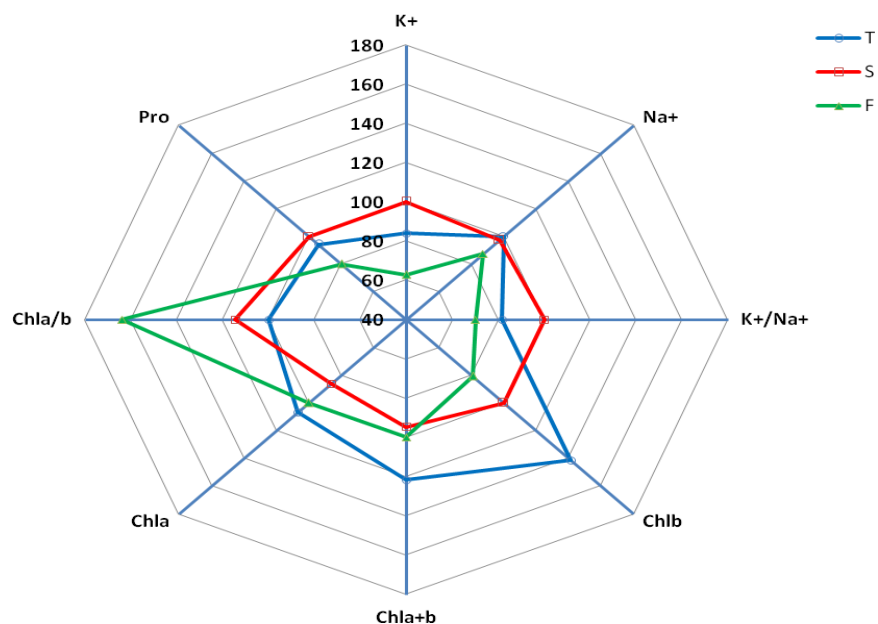
Sous l'effet du stress salin, la teneur en  $Na^+$  augmente plus chez Fouara et moindre chez Tichedrett, alors que Saïda reste intermédiaire. Sous stress sévère, Tichedrett multiplie sa teneur en  $Na^+$  par un facteur de 2, alors que Fouara l'augmente par un facteur 2.7 fois (Tableau 7, Figure 9). Le ratio  $K^+/Na^+$  diminue de manière plus importante sous stress sévère de 200 mM NaCl. Il ne représente que 18.6% de la valeur du témoin chez Fouara (sans stress salin) et 34.7% chez Saïda (Tableau 7, Figure 9).

Les résultats de la présente étude corroborent ceux de Katerji *et al.*, (2009) qui mentionnent que chez le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) la teneur en potassium diminue jusqu'à des seuils de 20%, ce qui affecte la ration  $K^+/Na^+$ . Par contre la teneur en Na augmente sous l'effet du stress salin mais de manière beaucoup plus importante, jusqu'à des seuils de 200%, soit une augmentation par un facteur de 2. Cette augmentation plus importante du contenu en Na relativement à celle du contenu en K, fait que le ratio  $K^+/Na^+$  diminue sous l'effet du stress salin.

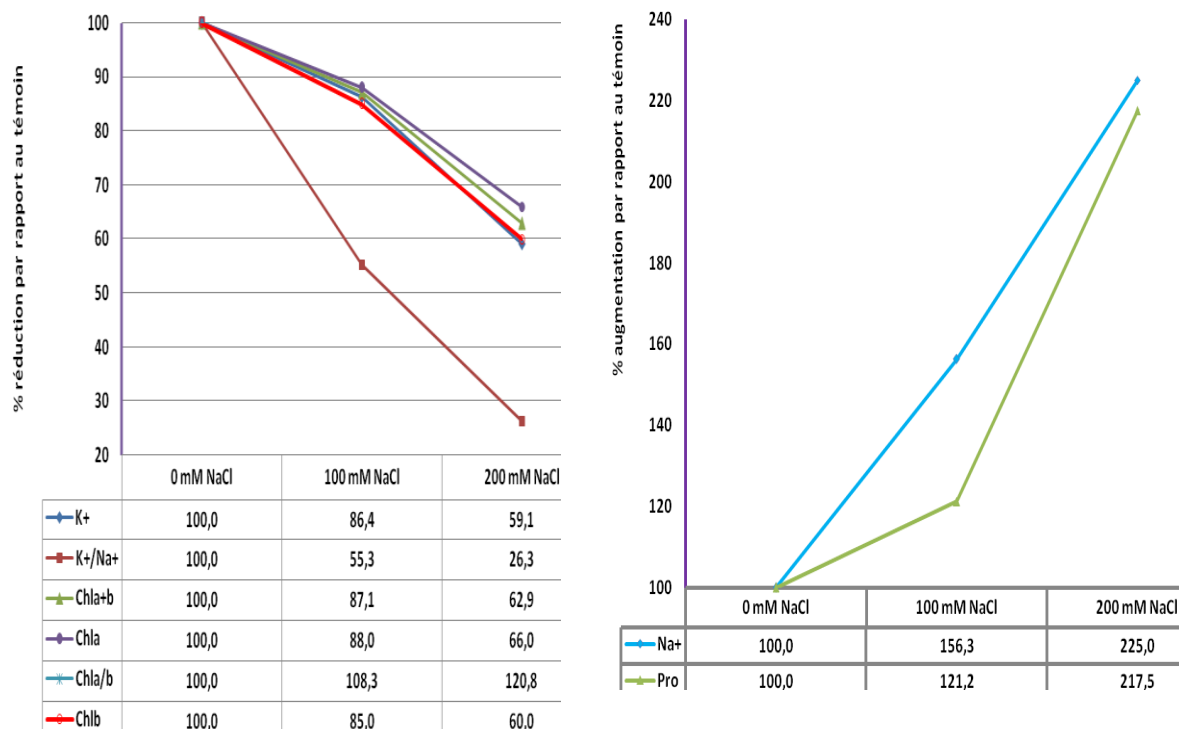
**Tableau 7.** Valeurs moyennes des caractères physiologiques mesurés chez les trois génotypes soumis à trois intensités de stress salin.

Traitements		K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup>	Chl <sub>a+b</sub>	Chla	Chlb	Chla/b	Pro
<b>Génotype</b>									
Tichedrett		1.87	2.67	0.70	6.76	4.61	2.15	2.14	605.00
Saida		2.23	2.60	0.86	5.25	3.73	1.52	2.45	643.50
Fouara		1.40	2.33	0.60	5.55	4.32	1.23	3.51	514.10
	F test	**	*	*	**	**	*	**	**
	Ppds5%	0.13	0.14	0.06	0.88	0.40	0.36	0.11	57.57
<b>Salinité</b>									
	0	2.20	1.60	1.38	6.99	4.95	2.04	2.43	401.80
	100	1.90	2.50	0.76	6.13	4.42	1.71	2.58	487.00
	200	1.30	3.60	0.36	4.44	3.29	1.15	2.86	873.80
	F test	**	**	**	**	**	**	**	**
	Ppds5%	0.13	0.14	0.06	0.88	0.40	0.36	0.11	57.57
<b>G x S</b>									
Tichedrett	0	2.40	1.80	1.33	7.78	5.08	2.70	1.88	390.00
Tichedrett	100	2.00	2.50	0.80	7.01	5.01	2.00	2.51	478.30
Tichedrett	200	1.20	3.70	0.32	5.48	3.73	1.75	2.13	946.80
Saida	0	2.50	1.60	1.56	6.63	4.70	1.93	2.44	430.30
Saida	100	2.30	2.70	0.85	5.44	3.70	1.74	2.13	536.30
Saida	200	1.90	3.50	0.54	3.70	2.80	0.90	3.11	963.90
Fouara	0	1.80	1.30	1.38	6.57	5.07	1.50	3.38	385.30
Fouara	100	1.50	2.20	0.68	5.95	4.55	1.40	3.25	446.50
Fouara	200	0.90	3.50	0.26	4.15	3.35	0.80	4.19	710.60
	F test	**	**	**	**	**	**	**	**
	Ppds5%	0.23	0.25	0.10	1.53	0.70	0.63	0.19	99.71
	CV (%)	9.1	7.5	8.2	12.3	10.2	11.5	10.2	12.6

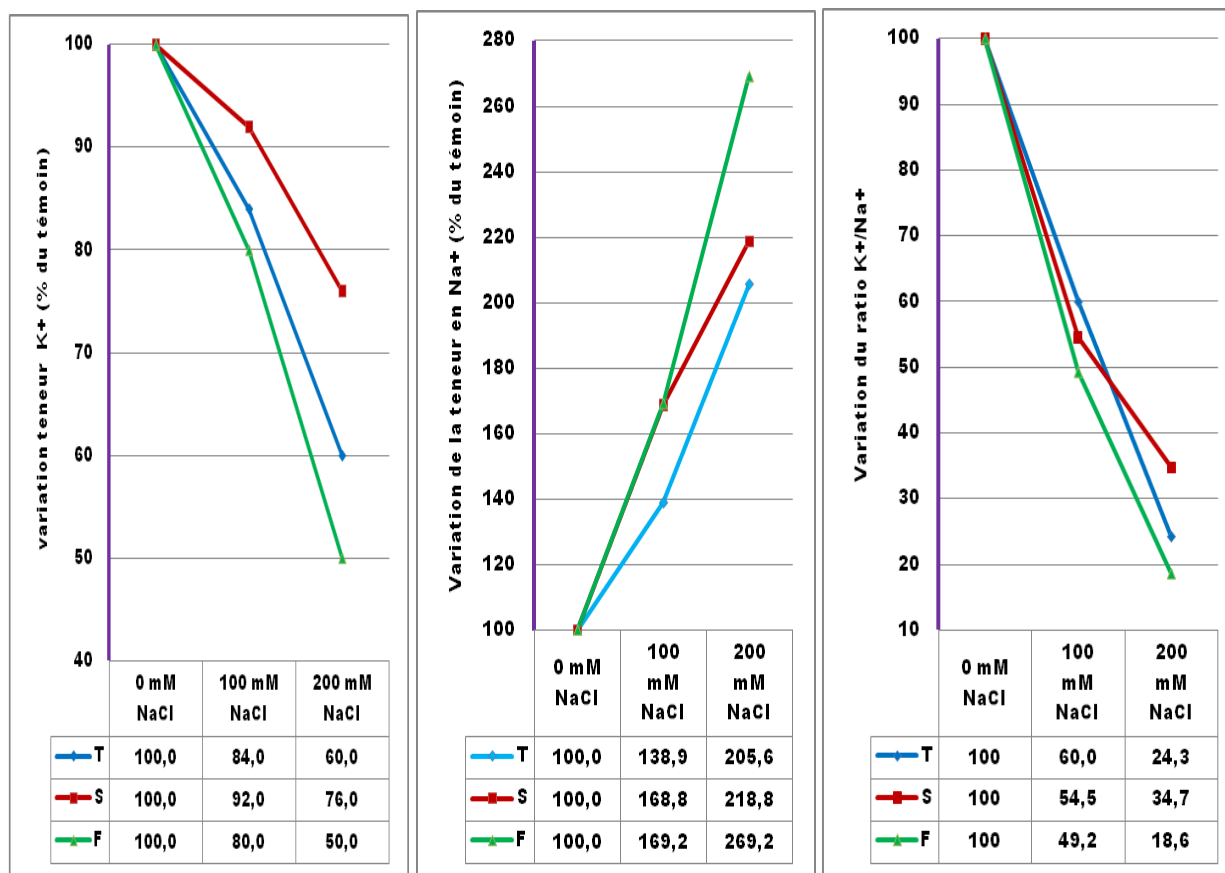
ns, \*\*, effet non significatif et significatif au seuil 1%.



**Figure 7.** Effet principal génotype : comparaison des différents génotypes pour les caractères physiologiques (valeurs en % du maxi).



**Figure 8.** Effet principal salinité : comparaison de l'effet salinité sur les caractères physiologiques (valeurs en % du témoin 0 mM NaCl).



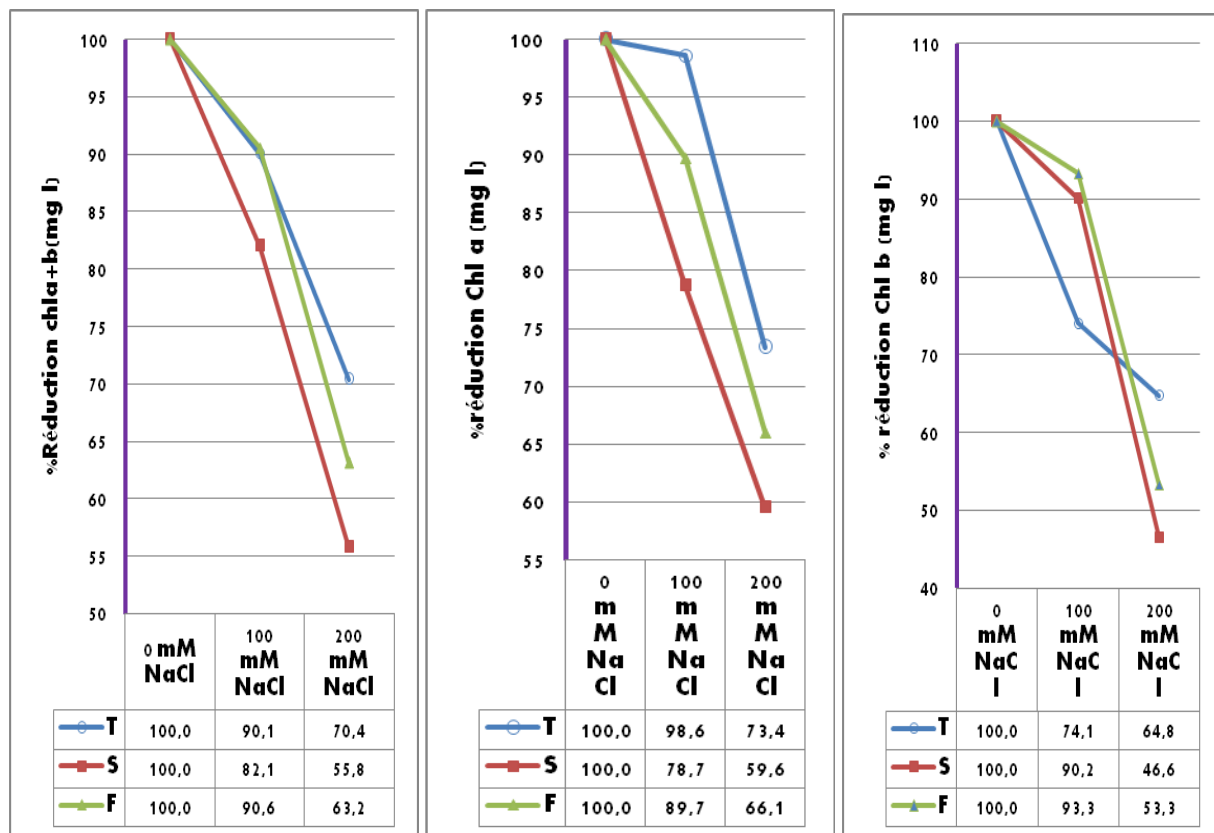
**Figure 9.** Variation relative des teneurs en K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> et du ration K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> des trois génotypes en fonction du degré de stress salin

Bakht *et al.*, (2011) mentionnent aussi que sous l'effet de la salinité la concentration du sodium augmente chez l'ensemble des cultivars de maïs évalués, et celle du potassium diminue. Farshadfar *et al.*, (2008) rapportent une corrélation négative entre le ratio K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> et le contenu en Na<sup>+</sup> ce qui suggère que l'augmentation de la concentration en Na<sup>+</sup> a pour effet de réduire le ratio K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>.

Selon Cuin *et al.*, (2008) les lignées de blé et d'orge tolérantes au stress salin accumulent plus d'ion potassium dans le système racinaire que les lignées qui sont sensibles. Dans ce contexte les génotypes tolérants puissent plus d'eau chargées de sels, pour produire plus de matière sèche. De tels génotypes s'accommodent de l'excès de sel soit en le compartimentant dans la vacuole soit en le faisant re-circuler entre les parties aériennes et racinaires.

Tester et Davenport (2003) mentionnent l'exclusion de l'ion sodium au profit de l'ion potassium comme mécanisme physiologique de base induisant la tolérance à la salinité. Avec un tel mécanisme physiologique, les génotypes tolérants la salinité accumulent moins d'ion Na<sup>+</sup> et plus de K<sup>+</sup>. En effet une corrélation hautement significative existe entre le phénomène d'exclusion du sodium et la tolérance chez plusieurs espèces (Munns et James, 2003 ; Zhu *et al.*, 2004 ).

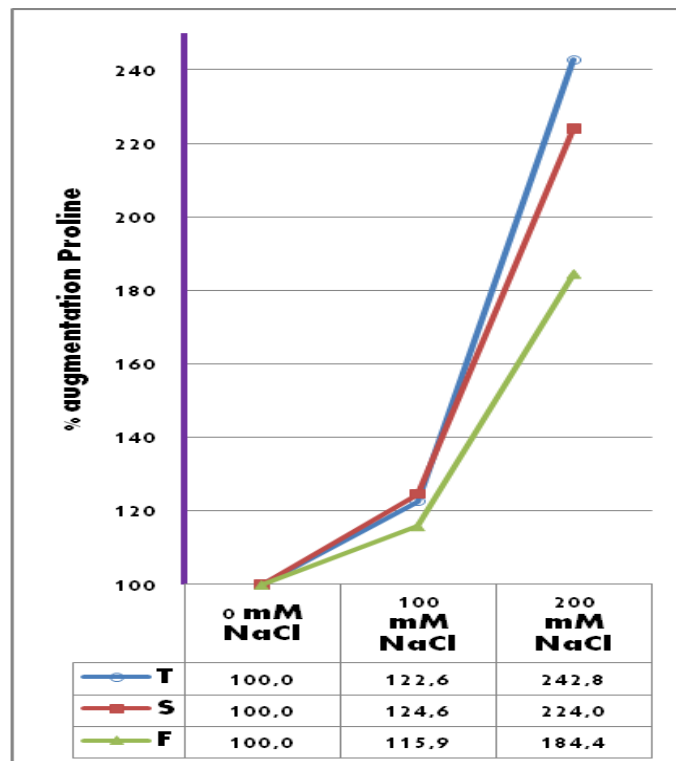
Sous l'action de la salinité les trois génotypes évalués réagissent par une réduction des chlorophylles totale, a et b (Figure 10, Tableau 7). On note des différences importantes pour la réduction relative des chlorophylles sous conditions de stress salin intermédiaire. En effet sous stress salin de 100 mM NaCl, Tichedrett et Fouara réduisent leur contenu en chlorophylle totale de 9.9 et 9.4% alors que chez Saïda cette réduction atteint 17.9%. (Figure 10, Tableau 7).



**Figure 10.** Variation relative des teneurs en chlorophylles a+b, a et b des trois génotypes en fonction du degré de stress salin

Sous stress sévère, Tichedrett minimise la baisse qui prend une valeur relative de 29.6%, Fouara perd 36.8% et Saïda réduit son contenu en chlorophylle totale de 44.2% (Figure 10, Tableau 7). Le même phénomène est noté pour la variation du contenu en chlorophylle a où Saïda se montre la plus sensible et Tichedrett la plus tolérante alors que pour la chlorophylle b, Tichedrett est sensible sous stress intermédiaire alors que sous stress sévère c'est Fouara et Saïda qui se montrent les plus sensibles (Tableau 7, Figure 10).

La salinité cause le plus souvent une perte progressive de la chlorophylle conduisant à la réduction de l'absorption de la lumière par les feuilles, et donc une moindre accumulation de la matière sèche chez la plante. L'altération de la chlorophylle affecte le processus de la photosynthèse ce qui suggère le degré de variation du contenu en chlorophylle peut être utilisé comme critère de sélection de la tolérance vis-à-vis du stress salin (Munns *et al.*, 2006). Le contenu en proline présente une augmentation plus importante chez Tichedrett (142.8%) et Saïda (124.0%) et moindre chez Fouara (84.4%) (Tableau 7, Figure 11).



**Figure 11.** Variation relative de la teneur en proline des trois génotypes en fonction du degré de stress salin

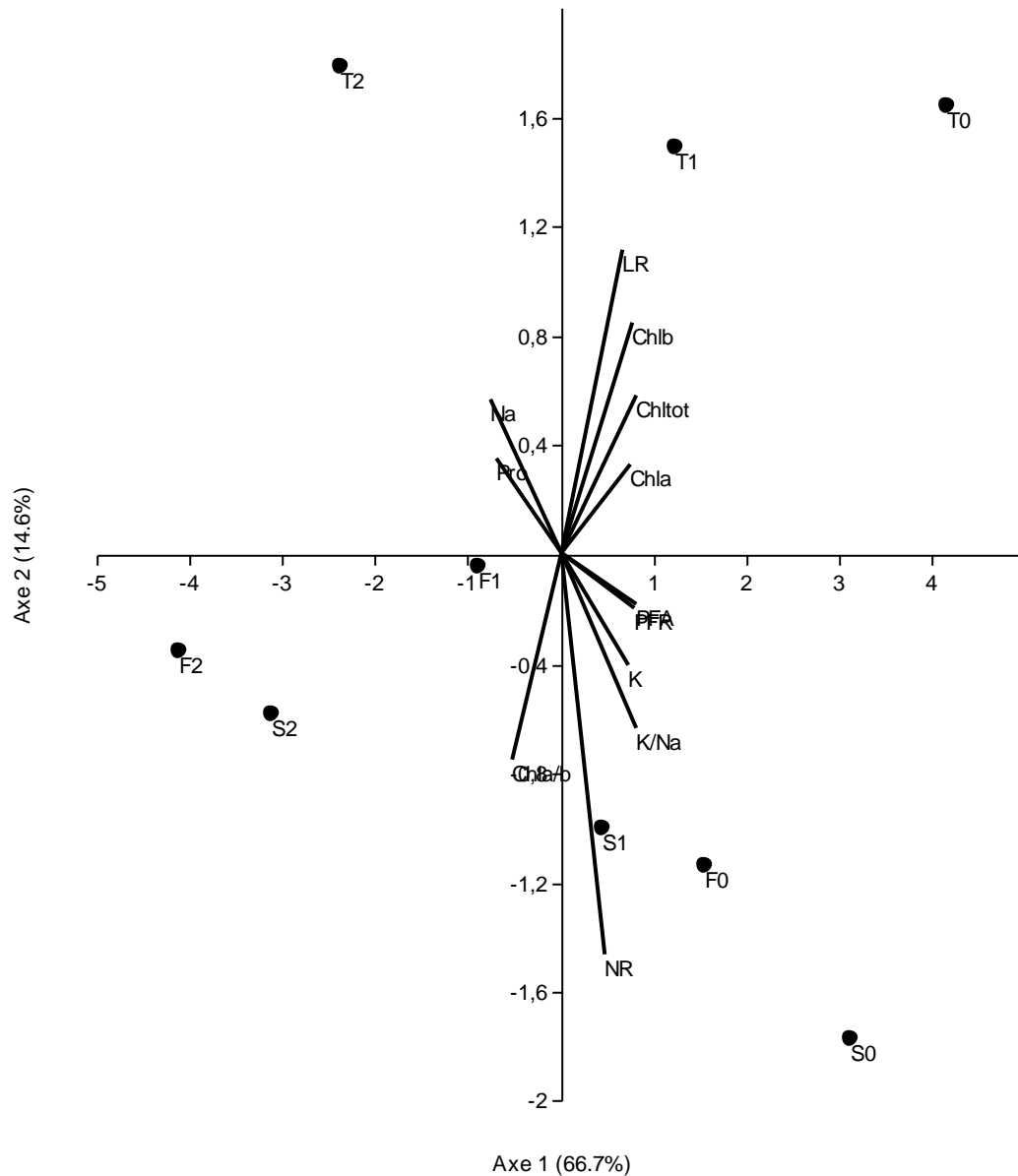
Garcia *et al.* (1997) notent que la concentration en proline est plus élevée chez les géotypes tolérants que chez les géotypes sensibles au stress salin. Chez la luzerne, les lignées tolérantes accumulent jusqu'à deux fois de proline dans le système racinaire que les lignées sensibles, chez qui l'augmentation est plus lente et moins importante (Kirti *et al.*, 1991). Kirti *et al.*, (1991) mentionnent que l'augmentation de la proline est associée à une meilleure tolérance au stress salin et une meilleure performance en ce qui concerne la production de matière sèche sous stress salin. Kirti *et al.*, (1991) font remarquer que l'augmentation de la proline intervient comme une réponse au stress salin.

### **3. Typologie variétale**

Le plan formé par les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales explique 81.3% de la variation totale disponible dans la matrice des données soumises à l'analyse (Figure 13). Ce plan porte l'essentiel de l'information relative au comportement des trois géotypes vis-à-vis de la salinité. Hormis les variables nombre de racines et longueurs racinaires qui sont liées à l'axe 2, les autres variables mesurées sont liées à l'axe 1.

Le nombre de racines s'oppose à la longueur racinaire, le long de l'axe 2. Le premier est négativement lié à cet axe, alors que le second lui est positivement lié. Le long de l'axe 1, s'opposent les contenus en chlorophylles totale, a et b, le poids frais des parties aérienne et racinaire, le contenu en  $K^+$  et le ratio  $K^+/Na^+$  au contenu en Na en proline et au ratio Chlorophylle a/b (Figure 12). Les premiers caractères cités sont positivement liés à cet axe 1 et les seconds lui sont négativement liés.

Les différents traitements (géotypes x salinités) sont répartis régulièrement le long de l'axe 1, suggérant un effet de la salinité. En effet les traitements témoins ( $T_0$ ,  $S_0$ ,  $F_0$ ) se caractérisent par des valeurs élevées pour les variables qui sont positivement corrélées avec l'axe 1, associées à de faibles valeurs pour les variables qui sont négativement liées à cet axe, et qui sont le contenu en  $Na^+$  et en proline et le ratio chlorophylle a/b.



**Figure 12.** Caractérisation du comportement des trois génotypes vis-à-vis du stress salin

La répartition le long de l'axe 2 est induite par les différences relatives au nombre et à la longueur des racines. Tichedrett produit un système racinaire long quelque soit le stress imposé alors que Fouara et Saïda se distinguent par un système racinaire plus touffu. Le traitement 100

mM NaCl (T<sub>1</sub>, S<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>) prend une position intermédiaire sur le plan formé par les axes 1 et 2. Ceci suggère une réduction proportionnelle des valeurs prises par les variables positivement liées à cet axe et une augmentation proportionnelle des variables qui lui sont négativement corrélées (Figure 13). Ceci dit, Tichedrett suivi de Saïda produisent plus de matière fraîche aérienne et racinaire sous stress intermédiaire que Fouara, tout en accumulant moins de sodium et de proline.

Le traitement 200 mM NaCl (T<sub>2</sub>, S<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>) se situe à l'opposé du traitement témoin, suggérant que les géotypes évalués prennent des valeurs extrêmes pour les variables liées à l'axe 1 : faibles valeurs pour les variables positivement liées et des valeurs élevées pour celles qui sont négativement liées à cet axe (Figure 13). Mais pour un même degré de stress salin Tichedrett suivie de Saïda se montrent plus tolérantes comparativement à Fouara.

Ces résultats indiquent que sous stress salin et au stade plantules les variétés locales Tichedrett et Saïda sont plus tolérantes que la nouvelle sélection Fouara. Cette tolérance au sel se manifeste par une production de matière fraîche des parties aérienne et racinaire plus importante sous un même degré de stress salin, associée à une accumulation plus soutenue de l'ion potassium associée à une réduction de l'accumulation de l'ion sodium.

En effet selon Colmer *et al.*, (2005), chez les géotypes sensible au sel, l'ion sodium n'est pas exclu du courant de la transpiration, il s'accumule dans les feuilles à des taux toxiques, détériorant la chlorophylle et par conséquent affectant le processus de la photosynthèse. La résultante est une réduction de la croissance et des quantités de matière fraîche accumulées, avec cependant, une réduction parfois plus importante de la partie aérienne relativement à la partie racinaire. La réduction non stomatique de la photosynthèse est due à l'effet de toxicité ionique, puisque James *et al.*, (2006) trouvent une liaison négative entre l'activité photosynthétique et le contenu en Na<sup>+</sup>.

Selon Ashraf et McNeilly, (1988), le stress salin induit une réduction de la concentration en chlorophylle. Le degré de cette réduction est dépendant de la tolérance du géotype concerné et de l'intensité du stress salin imposé. Elle est plus importante chez les géotypes sensibles dont la croissance est réduite suite à l'accumulation du Na<sup>+</sup> et du Cl<sup>-</sup>. Chen *et al.*, (2008) mentionnent quoique la tolérance au stress salin est une caractéristique très complexe, 70% de la variabilité génétique s'explique par un seul facteur chez l'orge, qui est la capacité des racines à exclure le

sodium. Cette caractéristique est hautement héritable, c'est pourquoi il est suggéré de mesurer l'accumulation de la matière fraîche ou sèche des parties aériennes et racinaires sous stress, qui servent d'indicateurs du degré de tolérance des génotypes étudiés. A ce sujet, Sayar *et al.*, (2007) mentionnent que les génotypes d'orge tolérant le stress salin présentent un nombre de racines primaires plus important au profit d'une biomasse aérienne plus réduite.

## **Conclusion**

Cette étude a été conduite avec comme objectif de tester la faisabilité de la sélection *in vitro* pour la tolérance au stress salin des plantules d'orge régénérées à partir d'embryons matures. Les résultats indiquent que les trois génotypes employés répondent à la régénération *in vitro* sur milieu MS sans 2,4-D. Ils répondent aussi de manière différenciée à la salinité. Parmi les paramètres mesurés, l'ensemble des caractères morphologiques diminuent sous l'effet du stress salin, dont entre autres le nombre de racines, la longueur des racines et le poids frais des parties aérienne et racinaire. Parmi les variables physiologiques mesurées, le contenu en sodium et en proline augmentent sous stress salin alors que le contenu en chlorophylle, en potassium et le ratio  $K^+/Na^+$  diminuent. La variation des valeurs prises par les paramètres mesurés est variable, en valeur relative, selon le génotype considéré. Ainsi les résultats montrent que les génotypes locaux : Tichedrett et Saïda sont plus résistants au stress salin que la nouvelle variété Fouara. Cette tolérance est liée à une capacité à accumuler plus de matière fraîche des parties aériennes et racinaires sous stress salin, ceci grâce à la capacité de limiter l'accumulation de l'ion  $Na^+$ , tout en favorisant celle de l'ion  $K^+$ .

## **Conclusion générale**

Parmi les alternatives offertes pour augmenter la production des céréales en générale et celle de l'orge en particulier, figurent l'augmentation des surfaces à emblaver et/ou l'augmentation des rendements par unité de surface emblavée. La première alternative n'est pas possible suite à la limite des superficies existantes. Il reste donc uniquement la seconde alternative. Cette seconde alternative intègre l'ensemble de l'itinéraire technique qui comprend le choix de la parcelle, des dates et densités de semis, de la fertilisation, du désherbage et de la variété.

Sous la forme de semence, la variété intègre le potentiel génétique de rendement, elle conditionne en grande partie la production. En milieux plus favorables à l'expression du potentiel de production, l'introduction de nouvelles variétés et l'amélioration de l'itinéraire technique ont grandement aidé à l'augmentation des rendements par unité de surface de sol. En milieux variables, l'apport des nouvelles obtentions n'a été toujours positif suite à leur sensibilité aux stress abiotiques.

L'orge est cultivée sous diverses conditions qui sont, dans la plupart des cas, contraignantes et où d'autres cultures ne sont pas adaptées. Elle occupe les parcelles où il est difficile de pratiquer la culture des blés, suite à la faible fertilité des sols et à la variation du climat dont notamment une faible pluviométrie. Sous de telles conditions de production, la tolérance des stress abiotiques aussi bien que biotiques prend tout son sens.

Ceci est d'autant plus nécessaire suite aux effets attendus des changements climatiques, qui exagéreront les effets de la sécheresse, la salinité et les hautes températures. En effet il est que pour la région de l'Afrique du nord les changements prévisibles sont de l'ordre de +9°C d'augmentation vers les années 2080. Il est donc important de chercher des génotypes qui s'adapteront à ces nouvelles conditions climatiques.

La recherche d'une meilleure adaptation à la variation environnementale est devenue une nécessité pour stabiliser les rendements des zones peu favorables. Selon le schéma classique, l'objectif de la sélection est l'identification de nouvelles lignées qui portent un ensemble de caractéristiques désirables leur permettant d'être adoptées comme variétés agricoles, sans de grands risques pour les producteurs. Elles doivent produire plus pour réduire les coûts de

production au niveau de l'exploitation et surtout doivent se distinguer par une meilleure régularité des rendements.

L'amélioration du rendement grain est généralement abordée de manière directe ou indirecte. La sélection directe utilise le rendement lui même qui est mesuré après la mort de la plante. La sélection indirecte utilise les composantes du rendement. La sélection du rendement grain n'est efficace que si les conditions de milieu qui ont permis la réalisation d'un rendement grain donné, se répètent de façon régulière.

L'adaptation est définie aussi comme la capacité d'une plante à croître et à donner des rendements satisfaisants dans des zones sujettes à des stress. L'adaptation est la résultante de la tolérance aux contraintes. Une plante adaptée est donc celle qui tolère ou résiste à un stress donné pour produire à un niveau satisfaisant. La sélection pour l'adaptation ou pour la tolérance aux stress abiotiques suit plusieurs voies dont entre l'utilisation de la phénologie, la morphologique, la physiologique, le moléculaire, ainsi que le comportement global de la plante vis-à-vis de la variation environnementale.

Les difficultés liées à la recherche sur les mécanismes qui contrôlent l'adaptation et la tolérance viennent du grand nombre de facteurs qui conditionnent ces caractéristiques. Ces facteurs agissent à plusieurs niveaux organisationnels, de la cellule à la plante entière. Les stress abiotiques qui caractérisent les régions arides et semi-arides sont représentés essentiellement par la sécheresse, le gel, les hautes températures de fin de cycle et la salinité. L'adaptation recherchée doit l'être vis-à-vis de ces stress. Au delà de la sélection classique, les développements faits en matière de biotechnologies augmentent les alternatives de recherche en matière de résistance et d'adaptation.

La recherche de variétés adaptées, par des méthodes classiques, est longue et onéreuse. Suite à la présence de l'interaction génotype x environnements, la sélection multi sites et multi années est appliquée pour identifier les génotypes performants et stables, montrant une large adaptation à la variation environnementale. L'analyse des données de telles expérimentations n'est pas toujours d'une interprétation aisée notamment lorsque la variation est d'origine

temporelle et non spatiale. Dans de tels cas, l'utilisation des indices de stress est parfois plus avantageuse.

L'étude de l'interaction, dans le cadre de cette étude, par les modèles de la régression conjointe et AMMI indique la supériorité de la méthode AMMI qui explique plus 84.7% de l'interaction. Cependant les génotypes étudiés sont soit stables, tel est le cas des variétés locale Tichedrett et Saïda ; soit performants, comme c'est la cas de Soufara et Rahma. Ceci suggère la sélection pour l'adaptation spécifique. Dans la mesure où la variation est d'origine temporelle, la sélection spécifique est peu opérante. Ceci suggère la recherche d'autres méthodes plus efficaces en matière de sélection.

Les résultats de l'analyse utilisant les indices de tolérance au stress abiotiques indiquent que les indices utilisés classent différemment les génotypes évalués. Parmi les indices utilisés, le plus intéressant est l'indice STI. Ce dernier classe la réponse des génotypes à la variation des milieux en quatre groupes typiques. Les génotypes performants et tolérants les stress sont : Soufara, Rahma et Tina. Les génotypes sensibles aux stress mais qui valorisent les années fertiles sont Bégonia, Express et Plaisant.

Les génotypes tolérants les stress, adaptés aux années difficiles, mais qui ne valorisent pas les années fertiles sont Acsad<sub>176</sub> et Saïda. Les génotypes au faible potentiel de rendement et donc qui sont peu intéressants pour la sélection sont Tichedrett, Barberousse, Tissa, Rihane et Jaïdor. Ces résultats qui concordent peu avec ceux issus de l'analyse de l'interaction G x E, suggèrent d'utiliser d'autres méthodes relativement plus efficaces ou à la limite qui viennent renforcer celles existantes pour rendre la sélection plus efficace.

Le recours aux biotechnologies est une voie à exploiter. Le développement d'un protocole viable de régénération de plants à partir d'explants de l'espèce étudiée, provenant d'une large gamme variétale, est un pré-requis pour de futures investigations biotechnologiques. Un échantillon de trois variétés contrastées a été étudié par la méthode *in vitro*. Les plantules ont été générées à partir d'embryons matures, puis soumises à différentes intensités de stress salin. Les résultats indiquent la sensibilité relative des trois génotypes au stress imposé.

Cependant, parmi les génotypes évalués, Tichedrett et Saïda se montrent plus résilients vis-à-vis du stress salin que la nouvelle variété Fouara. Cette tolérance est associée à une capacité d'accumulation de plus de matière fraîche sous stress, tout en minimisant l'accumulation du sodium et en favorisant celle du potassium. Ces résultats suggèrent que des études futures sont possibles sur l'identification des gènes conférant la tolérance aux stress abiotiques et leur transfert à des fonds génétiques plus performants du type gène provenant de Tichedrett ou de Saïda vers un fond génétique représenté par Fouara, via la transformation génétique. Une telle démarche est en train de se mettre en place en collaboration avec le Centre de Biotechnologie de Sfax, dans le cadre d'autres thèses de doctorats des sciences.

## Références bibliographiques

1. Abbas K., A. Abdelguerfi. 2008. Evaluation of a regenerated natural meadow in a semi-arid area of Algeria. *Option méditerranéennes A*. **79** : 179-185.
2. Abbassenne F., H. Bouzerzour, L. Hachemi. 1997. Phénologie et production du blé dur (*Triticum durum Desf*) en zones semi-aride. *Annales Agronomie INA*, **18** :24 - 36 .
3. Acevedo E., PG. Craufurd, RD. Austin, P. Perez Marco. 1991. Traits associated with high grain yield of barley in low yielding environments. *J. Agr. Sci. Camb*. **116**: 23-36.
4. Adjabi A., H. Bouzerzour, C. Lelarge, A. Benmahammed, A. Mekhlouf, A. Hannachi. 2007. Relationships between grain yield performance, temporal stability and carbon isotope discrimination in durum wheat (*Triticum durum Desf.*) under Mediterranean conditions. *Pakistan Journal of Agronomy*, **6**: 294-301.
5. Al-Bahrany, AM. 2002. Callus growth and proline accumulation in response to PEG induced osmotic stress in rice *Oryza sativa* L. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **15**: 1294–1296.
6. Alscher RG., JL. Donahue, CL. Cramer. 2002. Relation of superoxide dismutase in controlling oxidative stress in plants .*J. Exp. Bot*. **53**: 1331-1341.
7. Amor Y., KB. Hamed, A. Debez, C. Grignon, C. Abdelly. 2005. Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity. *Plant Science*, **168**: 889–899.
8. Annicchiarico, P. 2002. Genotype x environment interactions: Challenges and opportunities for plant breeding and cultivar recommendations. *FAO Plant Production and Protection Paper No. 174*. Food and Agriculture Organization, Rome.

9. Annichiarico, P., A. Iannucci. 2008. Adaptation strategy germplasm type and adaptive traits for field pea improvement in Italy, based variety response across climatically contrasting environments. *Field Crops Res.*, **108**:133-142.
10. Annichiarico P., F. Bellah, T. Chiari. 2005. Defining sub regions and estimating benefits for a specific adaptation strategy by breeding programs: A case study. *Crop Sci.* **45**: 1741-1749.
11. Annichiarico P., F. Bellah, T. Chiari. 2006. Repeatable genotype × locations interaction and its exploitation by conventional and GIS based cultivar recommendation for durum wheat in Algeria. *Eur. J. Agr.* **24** : 70-81.
12. Araus JL., T. Ali Dib, M. Nachit. 1998. Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean condition. *Field crops Res.* **55**: 209-224.
13. Araus JL., T. Amaro, J. Casadesus, A. Asbati, MM. Nachit. 1999. Relationships between ash content, carbon isotope discrimination and yield in durum wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* **25**: 835-842.
14. Araus JL., D. Villegas, N. Aparicio, LF. Garcia del Moral, S. El Hani, Y. Rharrabti, JP. Ferrio, C. Royo. 2003. Breeding cereals for Mediterranean conditions : eco-physiological clues for biotechnology applications. *Ann Appl. Biol.* **142** :129-141.
15. Ashraf M., T. McNeilly. 1988. Variability in salt tolerance of nine spring wheat cultivars. *J. Agron. Crop Sci.*, **160**: 14-21.
16. Austin RB., J. Bingham, RD. Blackwell, LT. Evans, MA. Ford, CL. Morgan, M. Taylor. 1980. Genetic improvements in winter wheat yields since 1900 and associated physiological changes. *J. Agri. Sci.* **94**: 675–689.

17. Awada S., WF. Campbell, LM. Dudley, JJ. Jurinak, MA. Khan. 1995. Stomatal variability of native warm season grasses from the Nebraska Sand hills. *Can. J. Plant Sci.* **82**:349-355.
18. Ayolié K., H. El Yacoubi, A. Rochidi. 2007. Influence du 2,4-D et de l'explant embryonnaire sur la callogenèse du blé dur. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **146** : 97-112.
19. Baenziger M., PS. Setimela, D. Hodson, B. Vivek. 2006. Breeding for improved abiotic stress tolerance in maize adapted to southern Africa. *Agric. Water Manage.* **80**: 212–224.
20. Bahlouli F., H. Bouzerzour, A. Benmhammed , KL. Hassous. 2005. Selection of high yielding and risk efficient durum wheat (*Triticum durum* Desf ) cultivars under semi- arid conditions. *Pakistan Journal of Agronomy*, **4**: 360-365.
21. Bajji M., JM. Kinet, S. Lutts. 2002. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Sci.***160**: 669-681.
22. Bakht, J., M. Shafi, Y. Jamal, H. She. 2011. Response of maize (*Zea mays* L.) to seed priming with NaCl and salinity stress. *Spanish Journal of Agricultural Research* **9**: 252-261.
23. Bakondi E., P. Bai, E. SZabo,I. Hunyadi, P. Gergley, C. SZabo, L.Virag.2002 . Detection of poly ADP ribose polymerase activation in oxydativelly stressed cells and tissues using biotinylated NAD substrate. *J. Histochem. Cytochem.* **50**: 91-98.
24. Baldy G. 1974. Contribution à l'étude fréquentielle des conditions climatiques et de leurs influences sur la production des principales zones céréalières d'Algérie. *INRA Département de bioclimatologie. Ministère de l'Agriculture. 170 pages*

25. Baraket M., H. Abdellatif. 1996. *In vitro* selection of wheat callus tolerant to high levels of salt and plant regeneration. *Euphytica*, **91**:127-40.
26. Basford KE., M. Cooper.1998. Genotype-environment interactions and some considerations of their implications for wheat breeding in Australia. *Aust. J. Agri. Res.* **49**: 153-174.
27. Belhassen E., D. This, P. Monneveux. 1996. l'adaptation génétique face aux contraintes de sécheresse. *Cahiers d'Agriculture*, **4** :251-261.
28. Amokrane A., H. Bouzerzour, A. Benmahammed, A. Djekoun. 2002. Caractérisation des variétés locales, syriennes et européennes de blé dur évaluées en zone semi-aride d'altitude. *Revue Sciences et Technologie (Univ. Mentouri, Constantine) numéro spécial D*, 33-38.
29. Benmahammed A., KL. Hassous, H. Bouzerzour. 2001. Synthèse des performances des nouvelles sélections d'orge (*Hordeum vulgare* L.) réalisées par les stations ITGC de Saida, Sidi Bel Abbés, Tiaret, Beni Slimane, Oued Smar, Khémis Miliana, Sétif et Khroub, au cours de la période 1980/81 à 1996/97. *Céréaliculture*, **36**: 13-20.
30. Benmahammed A., A. Kermiche, KL. Hassous, A. Djekoun, H. Bouzerzour. 2003. Analyse de l'interaction génotype x milieux du rendement de l'orge *Hordeum vulgare* L. en zone semi-aride. *Revue Sciences & Technologie*, **19**: 98-103.
31. Benmahammed A., A. Djekoun, H. Bouzerzour, KL Hassous. 2005. sélection multi-caractères pour améliorer le niveau et la stabilité du rendement de l'orge en zone semi- aride. *Revue Science & Technologie*, .....
32. Benmahammed A., M. Kribaa, H. Bouzerzour, A. Djekoun. 2008. Relationships between F2, F3 and F4-derived lines for above ground biomass and harvest index

- of three barley (*Hordeum vulgare* L.) crosses in a Mediterranean-type environment. *Agricultural Journal*, **3**: 313-318.
33. Benmahammed A., M. Kribaa, H. Bouzerzour, A. Djekoun 2010a. Assessment of stress tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) advanced breeding lines under semi-arid conditions of the eastern high plateaus of Algeria. *Euphytica*, **172**: 383–394.
  34. Benmahammed A., H. Nouar, L. Haddad, Z. Laala, A. Oulmi, H. Bouzerzour. 2010b. Analyse de la stabilité des performances de rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **14**: 177-186.
  35. Bensemane L., H. Bouzerzour, A. Benmahammed, H. Mimouni. 2011. Assessment of the phenotypic variation within two- and six-rowed barley (*Hordeum vulgare* L.) breeding lines grown under semi-arid conditions. *Advanced environmental Biology*, **5**: 1454-1460.
  36. Bertin P., JM. Kinet, J. Bourharmont. 1995. Heritable chilling tolerance improvement in rice through somaclonal variation and cell line selection. *Aust. J. Bot.* **44** : 91-105
  37. Blum, A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regulation*, **20**:135-148.
  38. Bonjean A., E. Picard. 1990. Les céréales à paille : Origine, histoire, économie et sélection. Ed. Soft Word groupe ITM. 310 pages.
  39. Boufenar- Zaghouane F., O. Zaghouane. 2004. Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie. Ed. ITGC-ICARDA., Alger, 154 pages.

40. Bouharmont J. 1989. Utilisation de la variation somaclonale *in vitro* pour l'amélioration du riz. *Ilème journée scientifique du Réseau AUPELF .UREF de biotechnologie végétale. Paris AUPELF .UREF-John libbey Eurotext.*
41. Boulay J., 1993. Culture *in vitro* et ses applications à la culture des plantes carnivores. *Bull. Dionée*, **28**, [http://encyclo.free.fr/pages/in\\_vitro.htm](http://encyclo.free.fr/pages/in_vitro.htm).
42. Bouzerzour H., M. Dekhili. 1995. Heritability, gain from selection and genetic correlation for yield of barley grown in two contrasting environments. *Field Crops Res.*, **41**:173-178.
43. Bouzerzour H., A. Benmahammed. 2009. Variation in early growth, canopy temperature, translocation and yield of four durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes under semi-arid conditions. *Dirassat Journal of Agricultural Sciences, Jordan Univ.* **5**: 142-154.
44. Bouzerzour H., A. Djekoun, A. Benmahammed, KL. Hassous. 1998. Contribution de la biomasse aérienne, de l'indice de récolte et de la précocité à l'épiaison au rendement grain de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone d'altitude. *Cahiers de l'Agriculture*, **8**:133-137.
45. Brancourt-Hulmel M, V. Biarnès-Dumoulin, JB. Denis. 1997. Points de repère dans l'analyse de la stabilité et de l'interaction génotype-milieu en amélioration des plants. *Agronomie*, **17** : 219–246.
46. Brancourt-Hulmel M., E. Heumez, P. Pluchard, D. Beghin, C. Depatureaux, A. Giraud, J. Le Gouis. 2003. Genetic improvement of agronomic traits of winter wheat cultivars released in France from 1946 to 1992. *Crop Sci.* **43**: 37-45.
47. Bregitzer P., LS. Dahleen, RD. Campbell. 1998. Enhancement of plant regeneration from embryonic callus of commercial barley cultivars. *Plant Cell Rep.* **17**: 941-946.

48. Breton, G., J. Danyluk, F. Ouellet, F. Sarhan. 2000. Expression profiling and bioinformatic analyses of a novel stress regulated multi-spanning trans-membrane proteins from cereals and *Arabidopsis*. *Plant physiology*, **132** :64-74
49. Bruckner PL., RC. Frohberg. 1987. Stress tolerance and adaptation in spring wheat. *Crop Sci.*, **27**:31–36.
50. Burke MJ., LV. Gusta, HA. Quamme, CJ. Weiser, PH. Li. 1976. Freezing and injury in plants. *Annual Review of plant physiology*, **27**: 507-528.
51. Castillo AM., B. Egan, JM. Sanz, L. Cistue. 1998. Somatic embryogenesis and plant regeneration from barley cultivars grown in Spain. *Plant Cell Reports*, **17**: 902–906.
52. Cattivelli L., F. Rizza, FW. Badeck, E. Mazzucotelli, AM. Mastrangelo, E. Francia, C. Mare, A. Tondelli, M. Stanca. 2008. Transcriptome analysis of cold acclimation in barley Albina and Xantha mutants. *Plant physiology*, **141**: 257-270.
53. Ceccarelli, S. 1987. Yield potential and drought tolerance of segregation population of barley in contrasting environments. *Euphytica*, **36**: 264-273.
54. Ceccarelli S. 2010. Plant breeding and climate change. In Ceccarelli, S. and Grando, S. (eds) 2010. *Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Barley Genetics Symposium, 5-10 April 2008, Alexandria, Egypt*, 16-29.
55. Ceccarelli S., S. Grando, J. Hamblin, 1992. Relationships between barley grain yield measured in low and high yielding environments. *Euphytica*, **64**: 49-58.
56. Ceccarelli S., S. Grando, A. Impiglia. 1998. Choice of selection strategy in breeding barley for stress environments. *Euphytica*, **103**: 307-318.
57. Chen TH., N. Murata. 2002. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaine and other compatible solutes. *Curr. Opin. Plant Biol.* **5**: 250-257.

58. Chen JY., RQ. Yue, H X. Xu, XJ. Chen. 2006. Study on plant regeneration of wheat mature embryos under endosperm- supported culture. *Agricultural Sciences in China* **5**: 572-578.
59. Chenafi H., A. Aïdaoui, H. Bouzerzour, A. Saci. 2006. Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian J Plant Sci.*, **5**: 854-860.
60. Choi HW., PG. Lemaux, MJ. Cho. 2000. Increased chromosomal variation in transgenic versus non transgenic barley (*Hordeum vulgare* L.) plants. *Crop Sci.*, **40**:524-533.
61. Clarke JM., RM. Depauw, TF. Townley-Smith. 1992. Evaluation of methods for quantification of drought tolerance in wheat. *Crop Sci.*, **32**:723-728.
62. Colmer TD, AJ. Garthwaite, AKMR. Islam, S. Islam, AI. Malik, RV. Bothmer. 2005. Salinity and water logging tolerance in wild *Hordeum* species: physiological basis and prospects for use in cereal improvement. In: *Plant nutrition for food security, human health and environmental protection*. Eds. C.J. Li et al., Beijing Tsinghua University Press, pp. 8-9.
63. Condon AG., RA. Richards, GJ. Rebetzke, GD. Farquhar. 2004. Breeding for high water-use efficiency. *J. Exp. Botany*, **55**: 2447-2460.
64. Coventry S., H. Sayed, S. Grando, S. Ceccarelli, M. Baum, J. Eglinton. 2006. Understanding the adaptation of barley to the low rainfall environments of southern Australia. Proceedings of the 13<sup>th</sup> Australasian Plant Breeding Conference, Christchurch, New Zealand, 1170-1176.
65. Cropstat 7.2. 2008. Free Software package for windows, *International Rice Research Institute*, IRRI, Manila.

66. Cuin TA., SA. Betts, R. Chalmandrier, S. Shabala. 2008. Root's ability to retain K<sup>+</sup> correlates with salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*, **59**: 2697-2706
67. Dahleen L.S. 1999. Donor-plant environment effects on regeneration from barley embryo- derived callus. *Crop Sci.*, **39**:682–685.
68. Danyluk, J., NA. Kane, G. Breton, AE. Limin, DB. Fowler, F. Sarhan. 2003. TaVRT-1, a putative transcription factor associated with vegetative to reproductive transition in cereals. *Plant Physiol.*, **132**: 1849-60.
69. Datta, S K. 2002. Recent developments in transgenics for abiotic stress tolerance in rice. *JIRCAS Working Report*, 3-9.
70. DeBlock M, C. Verduyn, D. De Brouwer, M. Cornelissen. 2005. Poly (ADP-ribose) polymerase in plants affects energy homeostasis, cell death and stress tolerance. *Plant Journal*, **41**: 95–106.
71. DeLacy IH., KE. Basford, M. Cooper, GK. Bull, CG. Mc Loren. 1996. Analysis of multi environment data. An historical perspective. In M. Cooper & G.L. Hammer, Eds. *Plant adaptation and crop improvement*, Wallingford, U.K., CABI. 39-124.
72. Djerroudi –Zidane O., M. Belkhodja,S. Bissati,S. Hadjadj. 2010. Effet du Stress Salin sur l'accumulation de Proline Chez Deux Espèces d'*Atriplex Halimus* L. et *Atriplex Canescens* (Pursh) Nutt. *European Journal of Scientific Research*, **41** : 249-260.
73. Eagles HA., GJ. Hollamby, RF. Eastwood. 2002. Genetic and environmental variation for grain quality traits routinely evaluated in southern Australian wheat breeding programs. *Aust J Agric Res*, **53**: 1047-1057.
74. Ebdon JS., HG. Gauch, 2002. Additive main effect and multiplicative interaction analysis of national turf grass performance trials. I. Interpretation of genotype x environments interaction. *Crop Sci.*, **42**:489-496.

75. Eberhart, SA., WA. Russell. 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.* **6**: 36-40.
76. Edmeades GO., GS. McMaster, JW. White, H. Campos. 2004. Genomics and the physiologist: Bridging the gap between genes and crop response. *Field Crops Res.* **90**: 5–18.
77. Ehdai B, AE. Hall, GD. Farquhar, HT. Nguyen, JG. Waines. 1991 .Water use efficiency and carbon isotope discrimination in wheat. *Crop Sci.*, **31**:1282.1288.
78. Epinat-Le Signor C. S. Dousse, J. Lorgeou, JB. Denis, R. Bonhomme, P. Carolo, A. Charcosset. 2001. Interpretation of genotype x environment interactions for early maize hybrids over 12 Years. *Crop Sci.*, **41**: 663–669.
79. Eskridge KM. 1990. Selection of stable cultivars using a safety-first rule. *Crop Sci.*, **30**: 369-374.
80. Faostat. 2008. Statistical database of the food and agriculture organization of the United Nations.
81. Farquhar GD., JR. Ehleringer, KT. Hubuk. 1994. Isotopic composition of plant carbon correlated with water use efficiency of wheat genotypes. *Aust. J. Plant. Physiol.*, **11**: 539-542.
82. Farshadfar E., J. Sutka. 2006. Biplot analysis of genotype-environment interaction in durum wheat using the Ammi model. *Acta Agronomica Hungarica*, **54**:459-467.
83. Feliachi, K. 2002. PNDA, Intensification et développement des filières, cas de la céréaliculture. *Acte des 3iemes Journées Scientifiques sur le Blé, 12 et 13 février 2002, Université Mentouri, Constantine.* 21-27.

84. Fellah A., H. Bouzerzour, A. Benmahammed, A. Djekoun. 2002. Sélection pour améliorer la tolérance aux stress abiotiques chez le blé dur (*T. durum* Desf.). *Actes de l'IAVHIII*, **64**: 35-42.
85. Fernandez, GCJ. 1992. Effective selection criteria for assessing stress tolerance. In Kuo, C.G. (Ed.), *Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress, Publication, Tainan, Taiwan*, 115-121.
86. Ferus P., M. Arkosiova. 2001. Variability of chlorophyll content under fluctuating environment. *Acta Fytotechnica & Zootechnica*, **4**: 5-9.
87. Finlay KW., GN. Wilkinson. 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Aust. J. Agric. Res.*, **14**: 742-754.
88. Fischer RA., R. Maurer. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I: grain yield response. *Aust J. Agric. Res.*, **29**: 897-912.
89. Fordyce JA. 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *J. Exp. Biol.*, **209**: 2377-2383.
90. Forster B., R. Ellis. 2004. Genotype and phenotype associations with drought tolerance in barley tested in North Africa. *Annals of Applied Biology*, **144**: 157-168.
91. Fox, PN, B. Skovmand, BK. Thompson, HJ. Braun, R. Cormier. 1990. Yield and adaptation of hexaploid spring triticale. *Euphytica*, **47**: 57-64.
92. Francis, TR., LW. Kannenberg, 1978. Yield stability studies in short season maize: A descriptive method for grouping genotypes. *Canadian J. Pl. Sci.*, **58**: 1029-1034.
93. Frey KJ. 1964 Adaptation reaction of oat strains selected under stress and non-stress environmental conditions. *Crop Sci.*, **4**: 55-58.
94. Gallais A. 1994. La sélection assistée par marqueurs. Quel avenir pour

l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. 397-397.

95. Ganeshan S., M. Baga, BL. Harwey, BG. Rosnagel, GJ. Scoles, RN. Chibbar. 2003. Production of multiple shoots from thiadiazuron-treated mature embryos and leaf-base apical meristems of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **73** : 57-64.
96. Garcia A., CA. Rizzo, J. Uddin, SL. Bartos, D. Senadhira, TJ. Flowers, AR. Yeo. 1997. Sodium and potassium transport to the xylem are inherited independently in rice, and the mechanism of sodium: Potassium selectivity differs between rice and wheat. *Plant Cell Environ.*, **20**: 1167–1174.
97. Gate, P. 1995. Ecophysiologie du blé, de la plante à la culture. *Editions TEC & DOC, Lavoisier, Cachan.* 417 pages.
98. Gonzalez JM., E. Friero, N. Jouve. 2001. Influence of genotype and culture medium on callus formation and plant regeneration from immature embryos of *Triticum turgidum* Desf. cultivars. *Plant Breeding*, **120**: 513-517.
99. Guarda G., S. Padovan, G. Delogu. 2004. Grain yield, nitrogen-use efficiency and baking quality of old and modern Italian bread-wheat cultivars grown at different nitrogen levels. *Eur. J. Agron.*, **21**: 181–192.
100. Guy CL. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance role of protein metabolism. *An. Rev. Plant Physiol.*, **41**: 187-223.
101. Haddad, L. 2010. Contribution à l'étude de la stabilité des rendements du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous climat méditerranéen. *Mémoire de Magister, Département Agronomie, FSNV, UFA, Sétif.* 70 pages.

102. Hadjichristodoulou A. 1987. The effects of optimum heading date and its stability on yield and consistency of performance of barley and durum wheat in dry areas. *J. Agric. Sci Camb.*, **108**: 599 - 608.
103. Hammer, O., DAT. Harper, PD. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, **4** : 1-9.
104. Hanson, PR., G. Jenkins, B. Westcott. 1985. Early generation selection in a cross of spring barley. *Z. Pflanzenzuchtg*, **83**: 64-80.
105. Harlan, JR. 1975. Crops and man. *ASA and CSSA, Eds. Madison, Wisconsin*, 325 pages.
106. Hauchinal, RR., JP. Tandon, PM. Salinath. 1993. Variation and adaptation of wheat varieties to heat tolerance in Peninsular India . *In Sanders,D. A. and G. P. Hettel. Wheat in heat stressed environments, irrigated dry areas and rice- wheat farming systems, Mexico, DF, Cimmyt*, 175-183.
107. Hernandez JA., A. Campillo, A. Jimenez, JJ. Alarcon, F. Sevilla. 1999. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. *New Phytol.*, **141**: 241-251.
108. Hess JR., JG. Carman.1998. Embryogenic competence of immature wheat embryos: genotype, donor plant environment and endogenous hormone levels. *Crop Sci.*, **38**: 249-253.
109. Hong, B., R. Barg, T. Ho. 1992. Developmental and organ-specific expression of an ABA- and stress-induced protein in barley. *Plant Mol. Biol.*, **18**: 663-674.
110. Houde, M., RS. Dhindsar, F. Sarhan. 1992. A molecular marker to select for freezing tolerance in *Gramineae*. *Mol Gen Genet.*, **234**: 43-48.

111. Houshmand, S., A. Arzanib, SAM. Maibodyb, M. Feizic. 2005. Evaluation of salt-tolerant genotypes of durum wheat derived from *in vitro* and field experiments. *Field Crops Res.*, **91**: 345–354.
112. <http://archaeology.about.com/od/domestications/qt/wheat.htm>
113. <http://oregonstate.edu/instruct/css/330/five/BarleyOverview.htm>
114. Hussain SS. 2006. Molecular breeding for abiotic stress tolerance: drought perspective. *Proc Pak Acad Sci.*, **43**:189–210.
115. Jaglo KR., S. Kleff, K. Amundsen, L. Keenan, X. Zhang, V. Haake, J. Zhang, T. Deits, MF. Thomashow. 2001. Components of the *Arabidopsis* C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species. *Plant Physiology*, **127**: 910-917.
116. Jain SM .1997. Effect of drought on chlorophyll and protein contents and enzymic activities in greening maize tissues. *Water, Air and soil pollution*, **93**: 109-115.
117. James, R. A., R. Davenport, R. Munns. 2006. Physiological characterisation of two genes for Na<sup>+</sup> exclusion in wheat: *Nax1* and *Nax2*. *Plant Physiol*, **142**: 1537-1547
118. Jang IC., YM. Pahk, SI. Song, HJ. Kwon, BH. Nahm, JK. Kim. 2003. Structure and expression of the rice class-I type histone deacetylase genes OsHDAC1–3: OsHDAC1 overexpression in transgenic plants leads to increased growth rate and altered architecture. *The Plant Journal*, **33**: 531-541.
119. Jiang W., MJ. Cho, PG. Lemaux. 1998. Improved callus quality and prolonged regenerability in recalcitrant barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Plant Biotechnology* **15**:63-69.

120. Kadi, Z., F. Adjel, H. Bouzerzour. 2010. Analysis of the genotype x environment interaction of barley grain yield (*Hordeum vulgare* L.) under semi- arid conditions. *Adv. Environ. Biol.*, **4**: 34-40.
121. Kameli A., DM. Losel, 1996. Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. *New Phytol.*, **132**: 57-62.
122. Kang, MS. 1993. Simultaneous selection for yield and stability in crop performance trials: Consequences for growers. *Agron. J.* **85**: 754–757.
123. Kang MS., DP. Gorman, HN. Pham. 1991. Application of a stability statistic to international maize yield trials. *Theoretical and Applied Genetics*, **81**: 162-165.
124. Katerji N., M. Mastrorilli, JW. Van Hoorn, FZ. Lahmer, A. Hamdy, T. Oweis. 2009. Durum wheat and barley productivity in saline-drought environments. *Eur. J. Agron.*, **31**: 1–9.
125. Kirigwi, FM., M. Van Ginkel, R. Trethowan, RG. Sears, S. Rajaram, GM. Paulsen, 2004. Evaluation of selection strategies for wheat adaptation across water regimes. *Euphytica*, **135**: 361–371.
126. Kirti PB., S. Hadi, PA. Kumar, VL. Chopra. 1991. Production of sodium chloride tolerant *Brassica juncea* plants by *in vitro* selection at the somatic embryo level. *Theor. Appl. Genet.*, **83**: 233–237.
127. Laala Z., A. Oulmi, T. Saraoui, L. Haddad, H. Nouar, A. Benmahammed, H. Bouzerzour. 2010. Effet de la sélection de la biomasse et des épis sur le rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf) sous conditions Semi-arides. *Annales de la Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur (Univ Ouargla)*, **4** : 56-69.
128. Langridge P., ES. Lagudah, TA. Holton, R. Appels, PJ. Sharp, KJ. Chalmers. 2001. Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. *Aust. J. Agric. Res.*, **52**: 1043-1077.

129. Lecomte C. 2005. L'évaluation expérimentale des innovations variétales Proposition d'outils d'analyse de l'interaction génotype – milieu adaptés à la diversité des besoins et des contraintes des acteurs de la filière semences. *Thèse Doctorat de l'INAPG*. 262 pages.
130. Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. I-Chilling, freezing and high temperature. *Academic Press., New York, USA*, 607 pages.
131. Lin CS., MR. Binns.1988. A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. *Can. J. Plant Sci.*, **68**:193–198.
132. Lin CS., MF. Thomashow. 1992. DNA sequence analysis of a complementary DNA for cold-regulated Arabidopsis COR15 and characterization of the COR15 polypeptide. *Plant Physiol.*, **115**: 171-180.
133. Lin CS., MR. Binns, LP. Lefkovitch. 1986. Stability analysis: Where do we stand? *Crop Sci.*, **26**:894-900.
134. Lutts S., JM. Kinet, J. Bouharmont. 1996. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regulation*, **19**: 207–218.
135. Malik, SI., R. Hamid, Y. Tayyaba, NM. Minhas. 2003. Effects of 2,4-D on callus induction from mature wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds. *Int. J. Agri. Biol.*, **6**: 156-159.
136. Martin M, L. Busconi. 2000. Membrane localization of a rice calcium-dependent protein kinase (CDPK) is mediated by myristoylation and palmitoylation. *Plant J.*, **24**: 429–435.

137. McKersie BD, Y. Chen, M. de Beus, SR. Bowley, C. Bowler, D. Inzé, K. D'Halluin, J. Botterman. 1993. Superoxide dismutase enhances tolerance of freezing stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiol.*, **103**:1155–1163.
138. Mekhlouf, A., H. Bouzerzour, A. Benmahammed, A. Hadj Sahraoui, A. Harkati. 2006. Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) au climat semi-aride. *Sécheresse*, **17** : 507-513.
139. Menad, A., N. Meziani, H. Bouzerzour, A. Benmahammed. 2011. Analyse de l'interaction génotype x milieu du rendement de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) : application des modèles AMMI et la régression conjointe. *Nature & Technology* (Université Chlef) **5** : 99-106.
140. Meziani, N., H. Bouzerzour, A. Benmahammed, A. Menad, A. Benbelkacem. 2011. Performance and adaptation of Barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) to diverse locations. *Advances in Environmental Biology*, **5**: 1465-1472.
141. Miller WG. 2007. OpenStat. Free Software package, version 1, release 2, Rev.2.
142. Monneveux P. 1991. Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales. In *Amélioration des plantes par l'adaptation aux milieux aride*. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. 165-186.
143. Monroy AF., Y. Castonguay, S. Laberge, F. Sarhan, LP. Vezina, RS. Dhindsa, 1993. A new cold-induced alfalfa gene is associated with enhanced hardening at subzero temperature. *Plant Physiol.*, **102**: 873-879.
144. Moon MW., HJ. Kim, TK. Oh, CS. Shin, JS. Lee, SJ. Kim, JK. Lee. 2005. Analyses of enzyme II gene mutants for sugar transport and heterologous expression of fructokinase gene in *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032. *FEMS Microbiol Lett*, **244**: 259–266.

145. Moose SP., RH. Munns. 2008. Molecular plant breeding as the foundation for 21<sup>st</sup> century crop improvement. *Plant Physiol.*, **147**: 969-977.
146. Munns R., RA. James. 2003. Screening methods for salinity tolerance: A case study with tetraploid wheat. *Plant Soil*. **253**: 201- 218.
147. Munns R., RA. James, A. Lauchli. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* **57**: 1025-1043.
148. Murashige T., F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol.*, **15**: 473-497.
149. Mzouri, K., M. Amssa. 2002. Amélioration de l'embryogenèse somatique à partir d'embryons immatures chez le Blé tendre (*Triticum aestivum* L.). II : Effet des régulateurs de croissance sur la callogenèse. *Acta Bot. Gallica*, **149** : 357-368.
150. Najimi B., S. El Jaafari, M. Jlibène, JM. Jacquemin. 2003. Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **7**: 17-35.
151. Nouar H., L. Haddad, Z. Laala, L. Oulmi, H. Zerargui, A. Benmahammed, H. Bouzerzour. 2010. Performances comparées des variétés de blé dur : Mohammed Ben Bachir, Waha et Boussalam dans la wilaya de Sétif. *Céréaliculture*, **54**: 23-29.
152. Ortiz-Monasterio JIR., KD. Sayre, S. Rajaram, M. McMahon. 1997. Genetic progress in wheat yield and nitrogen use efficiency under four nitrogen rates. *Crop Sci.*, **37**: 898-904.
153. Özgen M., M. Türet, S. Altinok, C. Sancak. 1998. Efficient callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Plant Cell Reports*, **18**: 331-335.

154. Panthuan, G., S. Fukai, M. Cooper, S. Rajatasereekul, J.C. O'Toole. 2002. Yield response of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to different types of drought under rainfed lowlands: Grain yield and yield components. *Field Crops Res.*, **73**:153–168.
155. Passioura, J. 2004. Increasing crop productivity when water is scarce: from breeding to field management. *In proceedings of the 4th International Crop Science Congress "New directions for a diverse planet" Brisbane, Australia.* 12 pages, [www.regional.org-au/au/cs](http://www.regional.org-au/au/cs)
156. Paterson AH., J. De Verna, B. Lanini, S.D. Tanksley. 1990. Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes, from an interspecies cross of tomato. *Genetics*, **124**: 735-742
157. Powell W., PDS. Galigari, MS. Phillips, JL. Jinks. 1986. The measurement and interpretation of genotype by environment interaction in spring barley (*Hordeum vulgare* L.). *Heredity*, **56**: 255-262.
158. Quinn GP., MJ. Keough. 2002. Experimental Design and Data Analysis for Biologists. *Cambridge University Press*, 557 pp.
159. Rashid H., S. Yokoi, K. Toriyama, K. Hinata. 1996. Transgenic plant production mediated by *Agrobacterium* in indica rice. *Plant Cell Rep.*, **15** : 727-730.
160. Redway FA., V. Vasil, D. Lu, IK. Vasil. 1990. Identification of callus types for long-term maintenance and regeneration from commercial cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical Applied Genetics*, **79**: 609-617.
161. Rasmusson DC. 1992. Barley breeding at present and in the future. *In Munck L (ed.): Barley Genetics VI, vol. II., Munksgaard Int. Publ. Ltd., Copenhagen.* 865-877.
162. Rawson DM., AJ. Willmer, APP. Turner. 1993. Whole-cell Biosensors for environmental monitoring. *Biosensors*, **4**: 299-311.

163. Reynolds MP., A. Mujeeb-Kazi, M. Sawkins. 2005. Prospects for utilizing plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity prone environments. *Ann. Appl. Biol.*, **146**: 239–259.
164. Richards RA, GJ. Rebtzke, AF. Van Herwaardlen, BL. Dugganb, AG. Condon. 1997. Improving yield in rainfed environments through physiological plant breeding. *Dryland Agriculture*, **36**: 254-266.
165. Richards RA., GJ. Rebetzke, AG. Condon, AF. van Herwaarden. 2002. Breeding opportunities for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. *Crop Sci.*, **42**: 111-121.
166. Richards RA., M. Walt, GJ. Rebetzke. 2007. Physiological traits and cereal germplasm for sustainable agricultural systems. *Euphytica*, **154**: 409-425.
167. Rizza F., FW. Badeck, L. Cattivelli, O. Lidestri, N. Di Fonzo, AM. Stanca. 2004. Use of a water stress index to identify barley genotypes adapted to rainfed and irrigated conditions. *Crop Sci.*, **44**: 2127-2137.
168. Robert A., JA. Black, SG. Waxman. 1998. *Endogenous NMDA-receptor activation regulates glutamate release in cultured spinal neurons. J. Neurophysiol.* **80**:196–208.
169. Romagosa I., PN. Fox. 1993. Genotype X environment interaction and adaption. In: *Hayward , M D ,Bosemark. N ,O ,and romogosa I.(eds). Plant breeding principles and prospects.* 373-390.
170. Rose LW., MK. Das, CM. Taliaferro. 2008. A comparison of dry matter yield stability assessment methods for small numbers of genotypes of Bermuda grass. *Euphytica*, **164** :19–25.
171. Rosielle AA., J. Hamblin. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non stress environments. *Crop Sci.*, **21**:943–946.

172. Safi R. 2009. Etude de l'interaction génotype × milieux et son impact sur la sélection de quelques variétés de blé dur cultivées en Algérie. Mémoire de Magister, Faculté des Sciences Agronomiques, Université Saad Dahleb, Blida, 90 pages.
173. Salam A., PA. Hollington, J. Gorham, RG. Wyn Jones, C. Gliddon. 1999. Physiological genetics of salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.): Performance of wheat varieties, inbred lines and reciprocal F1 hybrids under saline conditions. *J. Agron. Crop. Sci.*, **183**: 145–156.
174. Samonte SOB., LT. Wilson, AM. McClung, JC. Medley. 2005. Targeting cultivars onto rice growing environments using AMMI and SREG GGE Biplot analyses. *Crop Sci.*, **45**: 2414–2424.
175. Santos CV., G. Brito, G. Pinto, MAC. Fonseca, M. Henrique. 2000. In vitro plantlet regeneration of *Olea europaea ssp. Madernsis Scientia Hort.*, **97**:83-87.
176. Sarhan F., F. Ouellet, A. Vazquez-Tello. 1997. The wheat Wcs120 gene family. A useful model to understand the molecular genetics of freezing tolerance in cereals. *Physiologia Plantarum*, **101**: 439-445.
177. Sayar R., H. Khemira, M. Kharrat. 2007. Inheritance of deeper root length and grain yield in half diallel durum wheat (*Triticum durum* Desf.) crosses. *Annals Applied Biology*, **151**: 213-220.
178. Shah MI., J. Mussarat, I. Ihsan. 2003. In vitro callus induction, its proliferation and regeneration in seed explants of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Botany*, **35**: 209-217.
179. Sharma RC., EL. Smith. 1986. Selection for high and low harvest index in winter wheat populations. *Crop Sci.*, **26** : 1147-1150.

180. Shepherd T., DW. Griffiths. 2006. The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytol.*, **171**: 469–499.
181. Shinozaki K., K. Yamaguchi-shinozaki. 2000. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **3**: 217-223.
182. Shou H, BA. Fram, SQ. Whitham, K. Wang. 2004. Assessment of transgenic maize events produced by particle bombardment of *Agrobacterium*-mediated transformation. *Mol. Breed.* **13**: 201-208.
183. Shukla GK. 1972. Some statistical aspects of partitioning genotype environmental components of variability. *Heredity*, **29**: 237-245.
184. Steel RGD., JH. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics. *McGraw-Hill Books, New York*. 280 pages.
185. Tardieu F. 1996. Drought perception by plants. Do cells of droughted plants experience water stress? *Plant growth regulation*, **20**: 93-104.
186. Tardieu F. 2005. Plant tolerance to water deficit: Physical limits and possibilities for progress. *Geo Sci.*, **337**: 57 -67.
187. Tester M., RJ. Davenport. 2003. Na<sup>+</sup> transport and Na<sup>+</sup> tolerance in higher plants. *Ann Bot (Lond)*, **91**: 503–527
188. Thomashow, MF. 1990. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Ann Rev Plant Physiol Plant. Mol. Biol.*, **50**: 571-599.
189. Torbet KA., HW. Rinse, DA. Somers. 1998. Transformation of oat using mature embryo-derived tissue cultures. *Crop Sci.*, **38**: 226-231.
190. Tomar PC., MS. Punia. 2003. Callus induction and efficient plant regeneration in wheat (*Triticum aestivum L.*). *Annals of Agri-Bio-Research.*, **8**: 1-4.

191. Van Ginkel M., I. Ortiz-Monasterio, R. Trethowan, E. Hernandez. 2001. Methodology for selecting segregating populations for improved N-use efficiency in bread wheat. *Euphytica*, **119**: 223–230.
192. Van Oosterom EJ., D. Kleijn, S. Ceccarelli, MM. Nachit. 1993. Genotype x environment interactions of barley in the Mediterranean region. *Crop Sci.*, **33**: 669-674.
193. Via S., R. Gomulkiewicz, G. De Jong, SM. Scheiner, CD. Schlichting, PH. Van Tienderen. 1995. Adaptive phenotypic plasticity: Consensus and controversy. *Trends in Ecology and Evolution*, **10**: 212-217.
194. Wang W., B. Vinocur, A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance. *Curr. Opin. Biotech.*, **12**: 144–149.
195. Wani SH., PA. Sofi, SS. Gosal, NB. Singh. 2010. *In vitro* screening of rice (*Oryza sativa* L) callus for drought tolerance. *Commun. Biometry. Crop Sci.* **5**: 108-115.
196. Ward KA., MC. Jordan. 2001. *In Vitro* cellular and development biology. *Plant*, **37** : 361-368.
197. Wardlaw IF., J. Willembrik.1994. Carbohydrate storage and mobilisation by the culm of wheat between heading and grain maturity: The relation of sucrose synthase and sucrose phosphate synthase. *Aust. J. Plant Physiol.*, **21** :255-271.
198. Worland AJ., ML. Apendina, EJ. Sayers. 1994. The distribution in European winter wheat of genes that influence ecoclimatic adaptability while determining photoperiod insensitivity and plant height. *Euphytica*, **80** : 219-228.
199. Witcombe JR., PA. Hollington, CJ. Howarth, S. Reader, KA. Steel. 2009. Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, **363**: 703-716.

200. Wricke G., 1962. Evaluation method for recording ecological differences in field trials. *Z. Pflanzenzücht*, **47**: 92-96.
201. Yasmin R., F. Javed, M. Arfan. 2001. Somatic embryogenesis in callus culture of wheat (*Triticum aestivum*L.) accession 235/2. *Int. J. Agri. Biol.*, **3**: 163-166.
202. Yau S K., G. Ortiz-Ferrara, JP. Srivastava. 1991. Classification of diverse bread wheat-growing environments based on differential yield responses. *Crop Sci.*, **31**: 571-576.
203. Yeo AR., TJ. Flowers. 1983. Varietal differences in the toxicity of sodium ions in rice leaves. *Physiol. Plant.* **59**: 189-195.
204. Zadoks JC., TT. Chang, CF. Konzac. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.*, **14**: 415-421.
205. Zalc JM., HB. Wicr, KK. Kidwell, CM. Steber. 2004. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of a diverse set of wheat genotypes. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **76**: 277-281.
206. Zhu GY., JM. Kinet, S. Lutts. 2004. Characterization of rice (*Oryza sativa* L.) F<sub>3</sub> populations selected for salt resistance: Relationship between yield-related parameters and physiological properties. *Aust J Exp Agric.*, **44**: 333-342.
207. Zobel, RW., MJ. Wright, HG. Gauch. 1988. Statistical analysis of a yield trial. *Agron. J.* **80**: 388-393.