

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MENTOURI DE CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET ECOLOGIE



N° d'ordre :

N° de série :

THESE

En vue de l'obtention du Diplôme de
Doctorat en Sciences en Biologie Végétale

Option : Bases biologiques de la production végétale

Thème:

**Effet du stress salin et l'haplodiploïdisation
chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.)**

Par

Bouatrous yamina

Devant le jury :

Président :

Pr. BAKA Mebarek (UMC);

Encadreur :

Pr. YKHLEF Nadia (UMC) ;

Membres :

Mr. BOUZERZOUR Hamanna , professeur université de Sétif,

Mr. BOUDJENIBA Messoud, Professeur ENS - Kouba-Alger.

Mr. BAHLOULI Fayçal Maître de Conférences université M'sila,

Année 2012/2013

REMERCIEMENTS

J'exprime toute ma gratitude et ma reconnaissance à madame Ykkhlef Nadia Professeur à l'Université de Mentouri Constantine et Directrice de cette thèse. Je lui adresse ma plus sincère reconnaissance, pour son aide, sa confiance, ses qualités humaines et scientifiques qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier le professeur Djekhoum A, chef d'équipe de recherche au niveau de laboratoire Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), à chaabt arssas pour avoir m'accepter au sein de son laboratoire et mis à ma disposition les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

Je remercie également le professeur Baka Université de Constantine, le professeur Bouzerzour Université de Sétif, le professeur Boudjniba ENS Kouba Alger docteur Bahlouli Université de M'sila, de me faire l'honneur d'examiner ce travail et d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

J'adresse mes remerciements au Professeur Elham Abbas Abed Elhadi chercheur au niveau du centre national de recherche scientifique Egypte(CNRS) pour ses conseils, ainsi que pour le temps précieux qu'il m'a accordé. Et je remercie également docteur Maatougi (ICARDA) pour son aide morale.

Je n'oublier pas de remercier le professeur Berthemieu (INRA France) pour m'avoir accueillie au sein de son équipe, pour ses conseils et l'intérêt scientifique qu'il a porté à mes recherches.

Je tiens particulièrement à remercier Monsieur Belbakri Nadir Ingénieur de laboratoire (GBBV) pour son aide, et ses conseils.

Un grand merci à ceux qui ont participé, de prêt ou de loin, à ce travail

Sommaire

Abréviation	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des Annexes	
Introduction	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I- Origine de blé dur	4
II- Biologie de la reproduction de <i>Triticum durum</i> Desf	5
III- Espèce étroitement apparentée à <i>Triticum durum</i> Desf	6
III-1-Hybridation des espèces et des genres	6
III-2-Possibilité d'introgression des gènes des espèces apparentées dans <i>Triticum durum</i> Desf	6
III-3-Evaluation et caractérisation des transferts	7
IV- Les contraintes abiotiques et leurs effets sur la plante	8
IV-1-Le stress salin	8
IV-2-Les effets du déficit hydrique	10
IV-3- Mécanismes d'adaptation aux contraintes abiotiques	13
IV-3-1-Adaptation phénologique	14
IV-3-2- Adaptation morphologiques	15
IV-3-3- Adaptation physiologique	15
IV-3-4- Ajustement osmotique	17
IV-3-5- L'exclusion	18
IV-3-6-L'inclusion	18
V- Amélioration de blé dur	18
V-1-Amélioration génétique et hybridation interspécifique	20
V-1-1-Problèmes spécifiques à l'hybridation interspécifique	22
V-1-2-Solution pour franchir les barrières à l'hybridation interspécifique	25
VI- Haplodiploïdisation	26
VI-1-Parthénogénèse	26
VI-2-Androgénèse	27
VI-2-1-Les limites de l'androgénèse	27
a- Le cas des espèces récalcitrantes	27
b- Aptitude à l'androgénèse	28
c- L'albinisme	29
VI-3- Gynogénèse	31
VI-4-Hybridation interspécifique ou intergénérique	32

VII- Utilisation des haplodiploïdes.....	33
--	----

Chapitre II- Matériel et méthodes

I-Première expérimentation : Effet du milieu salin sur la germination des grains de différents génotypes étudiés	35
I-1- Matériel végétal	35
I-2- Conduite de l'essai	36
I-3- Stress appliqué et paramètres mesurés	36
II-Deuxième expérimentation : Effet de la salinité sur le développement des différents génotypes étudiés	36
II-1- Matériel végétal	36
II-2- Conduite de l'essai	36
II-3- Stress appliqué et paramètres mesurés	37
III- Dispositifs et principes des méthodes de mesure	37
IV-Troisième expérimentation : La réponse cellulaire de blé dur à la salinité	44
IV-1- Matériel végétal	44
IV-2 - Dispositif expérimentale et conduite de l'essai	44
IV-2-1- Désinfection des caryopses matures	44
IV-2-2-Préparation d'un milieu de culture	44
IV-2-2-1- Préparation du milieu MS pour un volume de 1000 ml	45
IV-2-2-2-La stérilisation	46
a -Stérilisation à pression du milieu	46
b-Stérilisation de la hotte.....	46
c- Stérilisation des instruments	47
d- Stérilisation à l'alcool	47
IV-2-3-Condition de travail	47
IV-2-3-1- Préparation des échantillons	47
a- Dissection des grains matures	47
b- Repiquage des cultures	48
V- Quatrième expérimentation : L'haplodiploïdisation chez le blé dur	49
V-1-Matériel végétal	49
V-2- Méthodes	49
V-2-1- Installation de l'essai	49
V-2-2- La castration des épis de blé dur	51
V-2-3- La pollinisation	52

V-2-4-Traitement hormonal des épis pollinisés	52
V-2-5- Le sauvetage des embryons	52
V-3- Milieu de culture	55
V-4- Le développement des embryons.....	56
V-5 -Le transfert des plantules en sol.....	56
V-6- Technique cytogénétique	57
VI- Etude statistique	58

Résultats et discussion

Chapitre III : Effet du milieu salin sur la germination des grains de différents génotypes étudiés

I-Introduction	59
II-Résultats.....	61
II-1- Taux de germination.....	61
II-2- Vitesse de germination	65
II-3- La durée de germination	65
II-4- La longueur de l'épicotyle	67
II-5- La longueur de la racicule	67
II-6- La cinétique de croissance.....	67
II-7- La corrélation entre les paramètres étudiés	67
III- Discussion	71
IV-Conclusion	73

Chapitre IV : Effet de la salinité sur le développement des différents génotypes étudiés

I-Introduction.....	76
II : Résultats.....	77
II-1 : Les paramètres morphologiques.....	77
II-1-1- La hauteur de la tige	77
II-1-2- La surface foliaire	79
II-1-3-Le taux de croissance	81
II-2 : Les paramètres physiologiques.....	84
II-2-1- La teneur relative en eau (TRE	84
II-2-2-La résistance stomatique	84
II-2-4-La teneur foliaire en Na ⁺ et K	86
II-3- Les paramètres biochimiques	89

II-3-1 -La chlorophylle totale	89
II-3-2 -La teneur en proline	92
II-3-3 -La teneur en sucres totaux solubles.....	92
III - Discussion.....	94
IV - Conclusion.....	101
 Chapitre V : La réponse cellulaire de blé à la salinité	
I -Introduction.....	103
II - Résultats.....	103
II-1 - Le poids frais	103
II-2 - Teneur en eau	107
II-3 - La teneur en sucres totaux solubles	107
II-4 - La teneur en proline.....	109
II-5 - La corrélation entre les paramètres étudiés	112
III - Discussion	112
IV - Conclusion.....	113
 Chapitre VI : L'haplodiploïdisation chez le blé dur	
I -Introduction	114
II- Résultats	115
II-1 -Comparaison des réponses de 7 génotypes de blé dur pollinisés par <i>H.bulbosum</i> et par le maïs	115
II-2 - effet du milieu de développement sur la nouaison, le nombre des embryons, le nombre des plates vertes	118
II-3 -Le temps optimal de survivance des épis sur la plante mère avant la séparation....	118
III -Discussion	123
IV - Conclusion	125
Conclusion générale	126
Références bibliographiques	129
Annexes	I

تأثير الإجهاد الملحي وإنتاج النباتات الأحادية عند القمح الصلب (*Triticum durum* Desf)

ملخص

تحت رؤية فيزيولوجية ، بيوكيميائية و بيوتكنولوجية تطرقنا في هذا العمل إلى دراسة مقارنة استجابة سبعة أصناف من القمح الصلب و نوع قريب من القمح ايجلوبوس إزاء الملوحة، هذه الدراسة المعمقة تناولنا فيها استجابة الخلية و البذرة و النبات عن طريق تحليل ومناقشة العديد من آليات المقاومة الملحية خلال هذه الدراسة والتي تترجم بالمحتوى المائي ، المقاومة الثغرية ، تكديس أيونات البوتاسيوم Ka^+ والصوديوم Na^+ على مستوى الأوراق ،التعديل الأسموزي عن طريق زيادة تركيز البرولين والسكريات الدائبة. تطرقنا أيضا إلى واحدة من التقنيات الحديثة في تحسين النبات ألا وهي الحصول على نباتات أحادية المجموعة الكروموزومية التي تعتمد على التهجين النوعي بين القمح الصلب والذرة وأيضا بين القمح الصلب والشعير البري.

من النتائج التي تحصلنا عليها:

مقاومة الملوحة تعتبر خاصية تتحكم فيها العديد من الجينات على مختلف مستويات العضوية انطلاقا من الخلية وحتى النبات الكامل، إذن مقاومة نبات القمح للملوحة مرتبط بتطوير العديد من تقنيات المقاومة وليس الاعتماد على تقنية واحدة ، ظهر خلال هذه الدراسة أن النوع الشبيه بالقمح ايجلوبوس يعتبر أكثر مقاومة للملوحة مقارنة بأصناف القمح المدروسة ، إذن يمكن استعمال هذا النوع الشبيه في برامج تحسين نبات القمح.

إن طريقة زراعة الأجنة الناضجة مخبريا تسمح لنا بتحديد المؤشرات الفسيولوجية المرتبطة بمقاومة الملوحة، و أيضا إن تعرض عدد كبير من الخلايا إلى تراكيز عالية من الملوحة يزيد من احتمال الحصول على خلايا طافرة مقاومة للإجهاد الملحي.

إن التهجين النوعي بين القمح الصلب والذرة يسمح لنا بالحصول على نباتات خضراء أحادية المجموعة الكروموزومية لكن اختيار مصدر حبوب الطلع (الأب الذكري) يكون عامل فعال في زيادة نسبة الأجنة وكذلك النباتات الخضراء المتحصل عليها.

من ضمن النتائج التي تحصلنا عليها أيضا خلال هذه الدراسة أنه باستطاعتنا زيادة نسبة نجاح عملية الحصول على نباتات أحادية المجموعة الكروموزومية عن طريق فصل السنابل الملقحة عن النبات الأم وحفظها في وسط غذائي غني بالعديد من هرمونات النمو.

الكلمات المفتاحية : القمح الصلب (*Triticum durum* Desf) ، الإجهاد الملحي، أحادية المجموعة الكروموزومية، الذرة

،الشعير البري

Effect of salinity and haplodiploidisation in durum wheat (*Triticum durum* Desf.)

Summary

Under a physiological perspective, biochemical and biotechnology, this study attempts to determine the features that enable us to characterize the case of wheat (*Triticum durum* Desf.) Grown in Algeria and a related species (*Aegilops geniculata* Roth.) And genotypic differences examine physiological traits to resistance mechanisms to salinity on the cell, seed and whole plant and then use a technique Doubled haploid plant which is based on intergeneric crosses between *Triticum durum* × *Zea mays* and *Triticum durum* × *Hordeum bulbosum* for increased the efficiency of selection in plant breeding programs. Thus, traits related to salt stress tolerance and reflects the hydraulic behavior, stomatal resistance, the accumulation of K⁺ and Na⁺ in leaf, osmotic adjustment (total sugars soluble, praline) are analyzed and discussed in 7 variety of durum wheat and related species. Tests of this study are made in the laboratory, greenhouse and growth chamber and the measurements are made at different stages of development (germination, tillering, head) four experiments are implemented to meet the objectives of this work.

Indeed among the results we found in this study:

The salt resistance appears as a polygenic trait controlled at different levels of organization of the cell to the whole plant, so the resistance to salinity is related to the ability of a variety of developing a high number of coping mechanisms and not to the presence of a given mechanism, the aegilops appears as a salt-resistant genotype compared with different durum wheat varieties studied so we can use the related species in breeding programs for durum wheat.

Moreover, in vitro culture offers the possibility to characterize, at a cellular level, physiological markers associated with resistance to salt. This technique has the advantage of better control of nutrient conditions, while allowing the manipulation of a large number of cells, which increases the probability of obtaining variants with the desired characteristics of salt resistance.

The final part of this work is devoted to evaluate the results obtained by a method of Doubled haploid plant tested; the crossing durum wheat × maize is a more general interest, the choice of maize cultivar to optimize the rate of embryo formation and regeneration. The percentage of green plants obtained is still relatively low due to the small size of some embryos at the time of transfer in vitro conditions.

The frequency of green plants can be increased by the action of hormones used in the nutrient solution which is considered the place of the mother plant replacement spikes cut. The procedure developed here, the time required for survival of the ears before the power plant has enabled us to successfully obtain embryos and green plants.

Key words: Durum wheat (*Triticum durum* Desf), salt stress, doubled haploid plant, *Zea mays*, *Hordeum bulbosum*

Effet du stress salin et haplodiploïdisation chez le blé dur (*Triticum durum* Desf)

Résumé

Sous une perspective physiologique, biochimique et biotechnologique, cette étude tente à déterminer les traits qui nous permettent de caractériser le cas de blé dur (*Triticum durum* Desf.) cultivés en Algérie et une espèce apparentée (*Aegilops geniculata* Roth.) les différences génotypiques et d'examiner les caractères physiologique aux mécanismes de résistance à la salinité concernant la cellule, la graine et la plante entière puis utiliser une technique d'haplodiploïdisation qui est basée sur des croisements intergénériques entre *Triticum durum* × *Zea mays* et *Triticum durum* × *Hordeum bulbosum* pour augmenter l'efficacité de la sélection dans les programmes d'amélioration des plantes. Ainsi, les caractères liés à la tolérance au stress salin et qui traduit le comportement hydrique, la résistance stomatique, l'accumulation des K⁺ et Na⁺ au niveau foliaire, ajustement osmotique (sucres totaux soluble, proline) sont analysés et discutés chez 7 variété de blé dur et une espèce apparentée. Les essais de cette étude sont réalisés en laboratoire, en serre et en chambre de culture et les mesures sont effectuées aux différents stades de développement (germination, tallage, épiaison) quatre expérimentations sont mises en place pour répondre aux objectifs de ce travail.

En effet parmi les résultats que nous avons trouvés dans cette étude :

La résistance au sel apparaît comme un caractère polygénique contrôlé à différents niveaux d'organisation, de la cellule à la plante entière, donc la résistance à la salinité est liée à la capacité d'une variété de développer un nombre élevé de mécanismes d'adaptation et non pas à la présence d'un mécanisme donnée, l'aegilops apparaît comme un génotype résistant à la salinité en comparaison avec les différentes variétés de blé dur étudiées, donc on peut utiliser cette espèce apparentée dans les programmes d'amélioration de blé dur.

Par ailleurs La culture in vitro offre la possibilité de caractériser, à un niveau cellulaire, des marqueurs physiologiques associés à la résistance au sel. Cette technique présente l'avantage d'un meilleur contrôle des conditions de nutrition, tout en autorisant la manipulation d'un grand nombre de cellules, ce qui augmente la probabilité d'obtention de variants avec les caractéristiques souhaitées de résistance au sel.

La partie finale de ce travail est consacrée à évaluer les résultats obtenus par l'une de méthode d'haplodiploïdisation testé, Le croisement blé dur × maïs est d'un intérêt plus général, le choix de cultiver de maïs permettant d'optimiser le taux de formation d'embryons et de régénération. Le pourcentage de plantes vertes obtenues est encore relativement faible à cause de la petite taille de certains embryons au moment de leur transfert dans les conditions in vitro.

La fréquence des plantes vertes peut être augmentée, par l'action des hormones utilisées dans la solution nutritive qui est considérée comme l'endroit remplaçant de la plante mère des épis coupés. La procédure développée ici, pour le temps nécessaire de survivance des épis avant la coupure de la plante nous a permis d'obtenir avec succès des embryons et des plantes chlorophylliennes.

Mots clés : Blé dur (*Triticum durum* Desf), Stress salin, Haplodiploïdisation, *Zea mays*, *Hordeum bulbosum*

Liste des abréviations

ABA : Acide abscissique

AE : Aegilops

AP4 : Poromètre

B17 : Bidi 17

BL : Blikhe

°C : degré celsius

CEC : capacité d'échange cationique

Cm : Centimètre

DG : Délai de germination

DK : Djenah Khetifa

ds/m :decisimens par mètre

HAU : Haurani

HE :Hedba

Kr1, Kr2 : des gènes

LE : Longueur de l'épicotyle

LF : Longueur finale

LI : Longueur Initial

LR : Longueur de radicule

N1 : Niveau 1 (5g/l NaCl)

N2 : Niveau 2 (10 g/l NaCl)

N3 : Niveau 3 (15 g/l NaCl)

N4 : Niveau 4 (16 g /l NaCl)

N5 : Niveau 5 (17 g/l NaCl)

N6 : Niveau 6 (18 g/l NaCl)

nm : Nanomètre

OZ : Oued Zenati

PEG : Polyéthylène glycol

PF : poids frais

PS : poids sec

PT : poids de turgescence

RS : Résistance stomatique

SPAD : Chlorophyllemètre

T : témoin

TCH : Taux de croissance en Hauteur

TG : Taux de germination

TRE : Teneur relative en eau

VG : Vitesse de germination

WA : Waha

Liste des figures

Figure (1) : La courbe d'étalonnage pour calculer la teneur en proline (mg/g MS).....	43
Figure (2) : La courbe d'étalonnage pour calculer la teneur en sucres totaux solubles (mg/g de matière sèche).....	43
Figure (3) : La courbe d'étalonnage pour calculer la teneur en Na ⁺ et K ⁺ (% de MS).....	43
Figure (4) : Taux de germination (%) des grains stressés qui sont transférés dans un milieu sans sel pour les différents génotypes étudiés.....	60
Figure(5) : Taux de germination (%) des grains stressés qui sont transférés dans un milieu sans sel pour les différents génotypes étudiés.....	62
Figure (6) : Vitesse de germination (%) des grains de différents génotypes selon la concentration en sel.....	64
Figure (7) : Effet du stress salin sur la durée de germination (jours) des grains de différents génotypes étudiés sel.....	66
Figure (8) : Variation de la longueur de l'épicotyle (LE) et de la radicule (LR) des grains germés de différents génotypes selon la concentration en sel.....	68
Figure (9) : La cinétique de croissance de l'épicotyle des graines germées de différents génotypes selon la concentration en sel.....	69
Figure (10) : Les graphiques de régression pour les différents paramètres étudiés.....	70
Figure (11) : Variation de la hauteur des tiges, en fonction de l'intensité du stress salin, chez les différents génotypes étudiés (stade tallage).....	76
Figure (12) : Variation de la hauteur des tiges, en fonction de l'intensité du stress salin, chez les différents génotypes étudiés (stade épiaison).....	76
Figure (13) : variation de la surface foliaire, en fonction de l'intensité de stress salin, chez les différents génotypes étudiés (stade tallage).....	78
Figure (14) : variation de la surface foliaire, en fonction de l'intensité de stress salin, chez les différents génotypes étudiés (stade épiaison).....	78
Figure (15) : Le taux de croissance relatif (%) en fonction de la salinité chez les différents génotypes étudiés au stade tallage.....	80
Figure (16) : Le taux de croissance relatif (%) en fonction de la salinité chez les différents génotypes étudiés au stade épiaison.....	80
Figure (17) : Variation de la teneur relative en eau (TRE), en fonction de l'intensité de stress salin chez les différents génotypes étudiés (stade tallage).....	82
Figure (18) : Variation de la teneur relative en eau (TRE), en fonction de l'intensité de stress salin chez les différents génotypes étudiés (stade épiaison).....	82
Figure (19) : L'évolution de la teneur relative en eau en fonction de la durée et l'intensité de stress salin chez les différents génotypes étudiés.....	82
Figure (20) : Variation de la résistance stomatique en fonction de l'intensité saline chez les différents génotypes étudiés au stade tallage.....	83
Figure (21) : L'évolution de la résistance stomatique sous l'effet du stress salin chez les différents génotypes étudiés au stade épiaison.....	83
Figure (22) : La relation entre la résistance stomatique au stade tallage (RST) et celle au stade épiaison (RSE).....	85
Figure (23) : Evolution de la résistance stomatique (s/cm ²) en fonction de la salinité et la durée du stress chez les génotypes étudiés.....	85
Figure (24) : La régression linéaire entre la teneur foliaire en Na ⁺ et celle en K ⁺	88

Figure (25) : La variation de la teneur en proline (mg/g de matière sèche) en fonction du stress salin chez les différents géotypes étudiés au stade tallage.....	91
Figure (26): La variation de la teneur en proline (mg/g de matière sèche) en fonction du stress salin chez les différents géotypes étudiés au stade épiaison.....	91
Figure (27) : La variation de la teneur en sucres totaux solubles (mg/g de matière sèche) en fonction du stress salin chez les différents géotypes étudiés au stade tallage.....	93
Figure (28): La variation de la teneur en sucres totaux solubles (mg/g de matière sèche) en fonction du stress salin chez les différents géotypes étudiés au stade épiaison.....	93
Figure (29) : Evolution du poids frais (% du témoin) des cals de différentes variétés de blé dur étudiées après un stress salin et une période de récupération.....	104
Figure (30) : Evolution du poids frais (% du témoin) des feuilles de différentes variétés de blé dur étudiées après un stress salin et une période de récupération.....	104
Figure (31) : Comparaison du poids frais (% du témoin) entre les cals et les feuilles de différentes variétés de blé dur.....	104
Figure (32) : Evolution de la teneur en eau (g/g ps) des cals de différentes variétés de blé dur étudiées après un stress salin et une période de récupération.....	106
Figure (33) : Evolution de la teneur en eau (g/g ps) des feuilles de différentes variétés de blé dur étudiées après un stress salin et une période de récupération.....	106
Figure (34) : Comparaison de la teneur en eau entre les cals et les feuilles de différentes variétés de blé dur.....	106
Figure (35) : Evolution de la teneur en sucres totaux solubles (mg/l) des cals de différentes variétés de blé dur étudiées après un stress salin et une période de récupération.....	108
Figure (36) : Comparaison des sucres totaux solubles (mg/l) accumulés au niveau des cals et des feuilles de différentes variétés de blé	110
Figure (37) : Evolution de la teneur en proline (mg/g de MS) des cals de différentes variétés de blé dur étudiées après un stress salin et une période de récupération.....	110
Figure (38) : Evolution de la teneur en proline (mg/g de MS) des feuilles de différentes variétés de blé dur étudiées après un stress salin et une période de récupération.....	111
Figure (39) : comparaison de la teneur en proline (mg/g ms) entre les cals et les feuilles de différentes variétés de blé dur.....	111
Figure (40) : La comparaison entre la nouaison et la formation des embryons chez les différentes variétés de blé dur étudiées.....	120
Figure (41) : La comparaison entre le nombre des embryons et les plantes vertes obtenues chez les différentes variétés de blé dur	120
Figure (42) : La comparaison du taux de nouaison pour les épis qui sont gardés in situ et ceux qui sont coupés pour les différentes variétés de blé dur.....	121
Figure (43) : La comparaison de nombre des embryons pour les épis qui sont gardés in situ et ceux qui sont coupés pour les différentes variétés de blé dur.....	121
Figure (44) : L'évaluation de nombre des embryons en fonction du temps de survivance des épis sur la plante mères chez les différentes variétés.....	122
Figure (45) : L'évaluation de nombre des embryons en fonction du temps de survivance des épis sur la plante mères chez les différentes variétés.....	122
Figure (46) : L'évaluation de nombre des plantes vertes en fonction du temps de survivance des épis sur la plante mères chez les différentes variétés.....	124
Figure (47) : Le graphique de régression (a) la corrélation entre le taux de nouaison (%) et le nombre des embryons obtenus, (b) la corrélation entre le nombre d'embryons et le nombre des plantes vertes régénérées.....	124

Liste des tableaux

Tableau (1) : Caractères et Origine des géotypes étudiées	35
Tableau (2) : La composition de la solution saline.....	36
Tableau (3) : quelques propriétés physiques et chimiques de sol utilisé dans l'expérience...37	
Tableau (4) : la classification des différents géotypes étudiés selon leur degré de résistance à la salinité.....	74
Tableau (5) :L'effet du stress salin sur la teneur en sels minéraux (% de matière sèche) au niveau des feuilles, chez les différentes variétés de blé dur (a) : Na ⁺ , (b) : K ⁺ , (c) : K ⁺ /Na ⁺	87
Tableau (6) : La chlorophylle totale chez les différents géotypes en fonction de stress salin (stade tallage).....	90
Tableau (7) : La chlorophylle totale chez les différents géotypes en fonction de stress salin (stade épiaison).....	90
Tableau (8) : Comparaison des croisements intergénériques blé dur × <i>H.bulbosum</i> et blé dur × <i>Zea mays</i>	116
Tableau (9) : Croisement intergénérique entre géotypes de blé dur et de maïs.....	116



Introduction générale

Introduction

En région méditerranéenne, la salinité constitue une contrainte dans beaucoup de périmètres de grandes cultures où la qualité de l'eau joue un rôle majeur et où la recherche de plantes adaptées à des seuils élevés de salinité devient un impératif pour la production agricole. La sélection variétale, nécessite la connaissance des mécanismes responsables de la tolérance du végétal à la salinité. La recherche de la variabilité génétique chez le blé dur a mis en évidence des variétés dont la nutrition minérale enregistre une meilleure adaptation aux milieux salés.

L'expression du potentiel génétique d'une plante, dépend des facteurs de l'environnement tels que, la salinité et la sécheresse. Cette dernière est le principal facteur limitant la croissance des plantes (Pellegrineschi 2004 ; Langridge et al. 2006). Les stress peuvent également affecter le fonctionnement de la plante en perturbant les flux ioniques (Knight et Knight 2001 ; Langridge et al. 2006) ou en altérant les parois ou membranes cellulaires (Zhu 2001 ; Wang et al. 2003 ; Verslues et al. 2006). Les plantes doivent alors mettre en place plusieurs mécanismes d'adaptation afin de limiter les dégâts engendrés par le stress (Verslues et al. 2006).

Les modifications génétiques développées dans les années 80 constituent une alternative stratégique. Elles ont permis de produire des plantes de céréales, capables de résister à des conditions climatiques défavorables, ou encore des plantes avec des valeurs nutritives améliorées.

Il est clair que la connaissance de la physiologie et de la qualité germinative des céréales en général, serait un moyen d'améliorer et de développer de nouvelles variétés capables de résister au stress notamment le stress salin afin de répondre à la demande mondiale croissante.

Pour améliorer cette production et la rendre plus stable, plusieurs voies ont été suivies dont la recherche et la création des nouvelles variétés plus adaptées et plus résistantes à de telles conditions. Cependant cette recherche nécessite l'analyse et la compréhension des différents modes de résistance développés par les plantes, afin d'identifier des critères de sélection qui peuvent être utilisés dans des programmes d'amélioration variétale, se caractérisent par une stratégie regroupant en même temps un ensemble des mécanismes d'adaptation.

La première partie de notre étude s'inscrit dans ce sens. La compréhension des événements biochimiques et morpho- physiologiques menant à la résistance de blé dur au sel est donc d'un intérêt agronomique majeur

Pour les tests de sélection précoce et résistance des plantes aux stress plusieurs critères sont étudiés, on peut distinguer deux catégories. Certains tests s'adressent au comportement de l'organisme entier, en général à un stade juvénile : aptitude à la germination ou à la croissance

végétative des plantules, utilisation des ions majeurs du milieu, etc. D'autres tests reposent sur le pari que certains traits précis de la biochimie et de la physiologie cellulaire sont directement corrélés à la tolérance aux stress : perméabilité cellulaire, accumulation de substances organiques caractéristiques des stress, induction de protéines spécifiques, perturbation des photosystèmes, etc.

La possibilité de faire acquérir la résistance au sel ou au stress hydrique par des cellules ou tissus en culture supporte l'hypothèse que ce comportement physiologique est sous la dépendance de paramètres cellulaires. Pourtant, un nombre d'études montrent que la faculté de supporter la salinité du milieu est associée à un schéma précis d'intégration des transports à l'échelle de la plante entière. Ceci suggère que les critères basés sur la mesure de paramètres cellulaires peuvent peut-être permettre de détecter des facteurs limitants élémentaires, conférant à eux seuls une forte sensibilité aux stress, mais qu'on ne peut attendre qu'ils identifient les meilleurs génotypes assurant l'optimisation des performances des plantes stressées.

L'amélioration des plantes peut se faire par la sélection généalogique qui permet d'éliminer efficacement les génotypes sans intérêt. Cette méthode est cependant problématique car elle oblige à réaliser de nombreux croisements destinés à fixer les caractères d'intérêt. Certains descendants peuvent exprimer des gènes de façon transitoire à cause des phénomènes de dominance et récessivité, ainsi que des interactions entre allèles et gènes différents. La descendance doit être examinée et étudiée pour ne retenir que les plantes les plus intéressantes. Un long travail d'épurations successives est donc nécessaire avant d'obtenir une nouvelle variété. La technologie des "haploïdes doublés" (HD), permet de diminuer la durée des cycles de sélection, en diminuant le temps nécessaire à la fixation des caractères et à la multiplication des génotypes intéressants. Elle permet l'obtention de plantes homozygotes pour l'ensemble du génome sans introduction de matériel génétique exogène (Jacquard, 2007).

Plusieurs techniques d'haplodiploïdisation sont utilisées dans le système de sélection de blé. Bien qu'étant une espèce récalcitrante à certaines techniques d'haplodiploïdisation, des travaux récents ont permis de dépasser, selon les génotypes, cet état par l'utilisation des croisement intergénériques (Chlyah et al., 1999 ; Bouatrous et al, 2009_b ; Bouatrous et al, 2010). Ces hybridations à savoir, croisement entre blé dur et maïs, blé dur *Hordeum bulbosum*, permettent l'obtention de plantes haploïdes.

Nous apportons dans la deuxième partie de ce travail notre contribution à l'optimisation de l'une des méthodes de production d'haploïdes *in vitro*, la méthode de culture *in vitro* des embryons

immatures issus de croisement intergénérique entre *Tritium durum* Desf × *Zea mays* L et *Tritium durum* × *Hordeum bulbosum*. Ce choix a été motivé par deux raisons.

- d'une part, le blé dur est l'une des espèces cultivées de la famille des Poacées la plus récalcitrante pour certaines techniques d'haplodiploïdisation, androgenèse par exemple.

- d'autre part la culture des embryons immatures chez le blé dur donne un nombre faible des embryons germés et au même temps un nombre faible des plantes vertes régénérées, pour cette raison, nous essayons d'optimiser le pourcentage de régénération de plantes chlorophylliennes.

En général ce manuscrit est divisé en six chapitres distingués :

- le premier est consacré à une synthèse bibliographique concernant le thème de travail
- le deuxième est réservé à une description détaillée du matériel génétique utilisé et les méthodes retenues.
- le troisième chapitre concerne l'effet de stress salin sur la germination des grains des différents géotypes étudiés
- le quatrième chapitre présente la réponse morphologique, physiologique et biochimique vis-à-vis la salinité dans les différents stades de développement (tallage et épiaison) chez le blé dur.
- Le cinquième chapitre touche la réaction cellulaire des différentes variétés de blé dur dans un milieu salé.
- Le sixième chapitre porte sur l'étude d'une technique d'amélioration des plantes « haplodiploïdisation » par croisement intergénérique entre le *Tritium durum* × *Zea mays* et le *Tritium durum* × *Hordeum bulbosum*.

Enfin une conclusion générale, portant sur les résultats obtenus à partir des différents chapitres réalisés.



*Chapitre 9 : Synthèse
Bibliographique*

I- Origine de blé dur

Les blés sauvages tétraploïdes sont largement répandus au Proche-Orient, où les humains ont commencé à les récolter dans la nature (Bozzini, 1988). Comparativement aux blés diploïdes, leurs grands épis et leurs gros grains les rendaient beaucoup plus intéressants pour la domestication.

On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (Feldman, 2001). Le blé dur est allotétraploïde (deux génomes : AABB), comptant au total 28 chromosomes ($2n=4x=28$), contenant le complément diploïde complet des chromosomes de chacune des espèces souches. Comme telle, chaque paire de chromosomes du génome « A » a une paire de chromosomes homéologues dans le génome « B », à laquelle elle est étroitement apparentée. Toutefois, durant la méiose, l'appariement des chromosomes est limité aux chromosomes homologues par l'activité génétique de gènes inhibiteurs. Les chercheurs ont identifié un certain nombre de gènes inhibiteurs, mais le gène *Ph1* situé sur le long bras du chromosome 5B est considéré comme le gène inhibiteur critique (Wall et al., 1971).

Les analyses cytologiques et moléculaires laissent croire que les sous-espèces de *T. turgidum* seraient issues de l'hybridation naturelle de *Triticum monococcum* L. subsp. *boeoticum* (Boiss.) (Synonyme : *Triticum urartu* : AA) avec une espèce de blé diploïde inconnue contenant le génome B (Feldman, 1976). Selon Kimber et Sears (1987), une ou plusieurs des cinq espèces diploïdes de la section *Sitopsis* du genre *Triticum* pourraient avoir fourni le génome B aux blés polyploïdes. D'après l'analyse moléculaire, le génome de *T. speltoides* s'apparente plus au génome B du blé dur et du blé tendre (Talbert et al., 1995; Khlestkina et Salina, 2001). En outre, l'analyse de l'ADN des chloroplastes montre que *T. speltoides* est probablement le donneur maternel du blé dur (Wang et al., 1999). Le résultat de cette hybridation naturelle est l'amidonnier sauvage (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* (Korn.) Thell) qui a été domestiqué plus tard sous la forme du blé amidonnier (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (Schrank) Thell), qui s'est répandu du Proche-Orient jusqu'aux grandes régions productrices de la Méditerranée et du Moyen-Orient, y compris en Égypte et en Éthiopie (Bozzini, 1988). Des milliers d'années de culture et de sélection ont abouti à la formidable variabilité des blés tétraploïdes issus de l'amidonnier sauvage. Un certain nombre de sous-espèces ont donc été caractérisées, principalement d'après les caractères morphologiques (Van Slageren, 1994) : *T. turgidum* ssp. *paleocolchicum*, *T. turgidum* ssp. *polonicum*, *T. turgidum* ssp. *turanicum*, *T. turgidum* ssp. *carthlicum*, *T. turgidum* ssp. *turgidum* et *T. turgidum* ssp. *durum*. Parmi tous les blés tétraploïdes cultivés, *T. turgidum* ssp. *durum* est de loin le plus important.

II- Biologie de la reproduction de *Triticum durum* Desf.

Le blé comprend surtout des espèces autogames. Durant la floraison, les fleurs demeurent généralement fermées (fleurs cléistogames), et les trois anthères éclatent et libèrent le pollen (anthèse). Les fleurs peuvent aussi s'ouvrir avant la libération du pollen. Selon DeVries (1971), les fleurs de blé demeurent ouvertes de 8 à 60 minutes selon le génotype et les conditions du milieu. Après la déhiscence des anthères, de 5 à 7 p. 100 du pollen est libéré sur le stigmate, de 9 à 12 p. 100 demeure dans l'anthère et le reste est dispersé. Le pollen de blé demeure généralement viable pendant 15 à 30 minutes. La floraison peut durer de trois à six jours, selon les conditions météorologiques. Elle débute habituellement juste au-dessus du centre de l'épi, puis se poursuit en s'étendant vers l'apex et la base de l'épi. Les fleurs non fécondées s'ouvrent habituellement, exposant le stigmate réceptif au pollen étranger. La durée de réceptivité du stigmate de blé dépend de la variété et des conditions du milieu, mais se situe entre 6 à 13 jours (DeVries, 1971). Une fois fécondée, l'ovaire grossit rapidement. Deux à trois semaines après la fécondation, l'embryon est physiologiquement fonctionnel et peut produire une nouvelle plantule (Bozzini, 1988).

Très peu de rapports portent sur l'évaluation du taux de croisement éloigné chez le blé dur. Le taux de croisement distant parmi les espèces principalement autogames peut atteindre jusqu'à 10 p. 100 et varie selon les populations, les génotypes et les diverses conditions du milieu (Jain, 1975). Ainsi, les populations de graminées ayant un taux de croisement éloigné inférieur à 1 p. 100 ont affiché un taux de 6,7 p. 100 certaines années (Adams et Allard, 1982). Harrington (1932) a mesuré ce taux; même s'il affirme que celui-ci ne dépasse pas 1,1 p. 100, certains ont rapporté des taux de 5 p. 100 (Bozzini, 1988). Pour le blé hexaploïde, le taux de croisement hétérogène moyen fluctue de 0 à 6,7 p. 100 selon le cultivar (Martin, 1990; Hucl, 1996; Hucl et Matus-Cadiz, 2001). Pour le blé de printemps hexaploïde, Hucl (1996) a démontré que les cultivars affichant les plus hauts taux de croisement éloigné tendaient à avoir un plus haut taux d'ouverture des épillets à l'anthèse. Cela pourrait aussi s'appliquer au blé dur. En ce qui concerne celui-ci, le taux de croisement distant dépend aussi des conditions du milieu. Ainsi, l'humidité favorise l'autofécondation, alors que la sécheresse accentue la pollinisation croisée (Bozzini, 1988).

III- Espèces étroitement apparentées à *Triticum durum* Desf

III-1-Hybridation des espèces et des genres

Il importe de comprendre le développement possible des hybrides issus de croisements interspécifiques et intergénériques entre les espèces cultivées et les espèces apparentées, lorsque l'on évalue l'impact environnemental possible de la dissémination en milieu ouvert de *T. turgidum* ssp. *durum* génétiquement modifié. Le développement d'hybrides pourrait entraîner l'introgession de caractères nouveaux chez les espèces apparentées, ce qui perturberait l'écosystème et accentuerait la nuisibilité de ces espèces.

Le blé dur et *T. turgidum* ssp. *paleocolchicum*, *T. turgidum* ssp. *polonicum*, *T. turgidum* ssp. *turanicum*, *T. turgidum* ssp. *carthlicum* et *T. turgidum* ssp. *turgidum* sont sexuellement compatibles et produisent des hybrides fertiles. Bien que l'hybridation entre le blé dur et les espèces apparentées puisse survenir (Kimber et Sears 1987).

III-2- Possibilité d'introgession de gènes des espèces apparentées dans *Triticum durum* Desf.

Le blé dur ne contient pas le génome D de *Triticum aestivum*. (Prazak, 2001) a signalé l'hybridation entre *Ae. cylindrica* et *T. turgidum* ssp. *durum*, mais celle-ci a donné des descendants stériles. On a aussi rapporté une hybridation naturelle entre *Ae. triuncialis* et *T. turgidum* ssp. *durum* en Turquie (Mamedov et al., 1996), mais ceci n'a pas été confirmé.

Les blés hexaploïdes et tétraploïdes ont fait l'objet de recherches considérables fondées sur des croisements interspécifiques et intergénériques (Sharma et Gill, 1983). Toutefois, ces travaux ont peu d'importance en milieu naturel, car seulement quelques espèces apparentées au blé sont indigènes au Canada. La stabilité de génome du blé dur est due aux gènes (Ph1 et autres) qui limitent l'appariement des chromosomes aux chromosomes homologues. De plus, des techniques de laboratoire, comme la pollinisation manuelle, le sauvetage des embryons et le doublement artificiel des chromosomes au moyen d'inhibiteurs de la méiose, sont nécessaires pour obtenir des descendants fertiles. Ainsi, en laboratoire, on a pu obtenir des hybrides entre *T. turgidum* ssp. *durum* et *Ae. cylindrica*, *Ae. triuncialis*, *Ae. crassa* et *Ae. ovata* (Knobloch, 1968; Prazak, 2001). Au Canada, la mauvaise herbe apparentée la plus commune est le chiendent (*Agropyron repens*), qui est présent dans tous les territoires et provinces. Il s'agit d'une graminée pérenne nuisible, fréquente dans les régions agricoles, en particulier dans les prairies, les champs cultivés, les jardins, les bords

de route et les terrains vagues (Alex et Switzer, 1976). En laboratoire, on a hybridé du blé tétraploïde avec d'autres espèces d'*Agropyron*, notamment *A. repens*, *A. elongatum* et *A. intermedium* (Knobloch, 1968; Schulz-Schaeffer, 1969). Selon (Schulz-Schaeffer, 1969), les chromosomes du genre *Triticum* ne s'apparient pas habituellement avec ceux d'*Agropyron*, ce qui laisse supposer que le flux génique naturel entre les deux genres, est peu probable. De plus, on n'a pas signalé la présence d'hybrides ou d'espèces naturelles issues de l'hybridation de *T. turgidum* ssp. *durum* avec le genre *Agropyron* (Knott, 1960). Parmi les autres espèces indigènes nuisibles apparentées en Amérique du Nord, citons *A. bakeri* (y compris *A. trachycaulum*, agropyre à chaumes rudes), *Hordeum californicum*, *Hordeum jubatum* (orgeagréeable), *Elymus angustus* (y compris *Leymus angustus*, élyme étroite), *E. canadensis* (élyme du Canada) et *E. virginicus* (élyme de Virginie). On n'a rapporté qu'une seule fois la production en laboratoire d'un hybride issu de *A. trachycaulum* et de *Triticum turgidum* spp. *Durum* (Knobloch, 1968). En outre, aucune mention d'un hybride naturel n'est faite dans les ouvrages scientifiques. On n'a pas non plus signalé d'hybrides naturels entre *Triticum turgidum* spp. *durum* et *H. californicum*, *H. jubatum*, *E. angustus*, *E. canadensis* et *E. virginicus*. Une combinaison intergénérique bien connue impliquant le blé est le triticales (Lukaszewski et Gustafson, 1987), qui est issu d'un croisement et d'amphidiploïdie entre le blé et le seigle (*Secale cereale* L.). Généralement, on obtient le triticales à partir du blé dur, même si l'on se sert aussi du blé hexaploïde (Bozzini, 1988).

III-3-Évaluation et caractérisation des transferts

Une introgression ne présente véritablement d'intérêt que si les sélectionneurs peuvent l'utiliser sans difficulté et l'introduire dans des variétés (Jahier et al.,1998). C'est pourquoi il est impératif de vérifier au préalable que :

- ❖ elle ne présente pas d'effets défavorables sur d'autres caractères que celui pour lequel elle a été sélectionnée. En effet, les introgressions concernent des segments chromosomiques "étrangers" plus ou moins longs. Il est évident que plus la quantité de chromatine transférée est conséquente, plus la probabilité d'introduction de gènes ayant un effet délétère sera grande.
- ❖ sa transmission par les gamètes est normale.
- ❖ le comportement méiotique et la stabilité des lignées recombinées ne sont pas affectés.

IV -Les contraintes abiotiques et leurs effets sur la plante

En milieux variables la plante est le plus souvent soumise à une série de contraintes de nature abiotique qui réduisent sa capacité de reproduction (Djekoun et Ykhlef, 1996). Les plus importantes de ces contraintes , suite aux rôles majeurs qu'elles jouent dans les fonctions essentielles de la plante, sont la variation de la précipitation , de la température , de l'humidité du sol et de l'air ambiant, de la salinité, certains stades végétatifs sont particulièrement sensibles à ces contraintes abiotiques donc les stress se traduisent chez les plantes par des changements morphologiques, physiologiques et moléculaires qui affectent leur croissance et leur productivité (Wangxia et al 2003).

IV-1-Le stress salin

La salinité représente une contrainte naturelle conditionne le développement de la production des végétaux dans des zones arides et semis arides (Vieira et al.,1990). L'aridité liée à une perte d'eau par évapotranspiration bien supérieure aux précipitations couvre en Algérie environ 95% des zones, (de 100 à 400 mm / an) (Halitim, 1985). Dans ces zones, l'apport d'eau par irrigation a entraîné une augmentation et une extension de la salinité des sols (Daoud, 1993) soumette les plantes à un stress permanent, baisse les rendements agricoles, limite la répartition des espèces cultivées voire même menacent d'extinction certaines modifier la fertilité et la stabilité structurale des sols (Vlentin, 1994).

La réponse à la salinité se manifeste généralement chez la plupart des plantes cultivées par un effet dépressif sur la croissance et le développement (Ykhlef , 1993 ; Munns et al., 1995 ; Chougui et al., 2004).

Cette réponse varie considérablement en fonction du genre, de l'espèce et même de l'écotype ou de la variété (Epstein et al., 1980). La diminution de la croissance est une réponse à la déshydratation ; elle contribue à la conservation des ressources en eau, ce qui permet la survie de la plante (Binzel et al 1988). Chez la tomate, la diminution de la croissance n'est pas considérée comme une conséquence des perturbations osmotiques, mais

comme une stratégie qui permet à la plante de limiter les pertes d'eau par transpiration et de maintenir ainsi une bonne valeur de l'efficacité d'utilisation de l'eau (Sing et al., 1989).

Les végétaux sont capables de supporter le déficit hydrique engendré par le stress salin, en ajustant plus ou moins rapidement leur potentiel osmotique avec celui du milieu extérieur, de manière à maintenir un gradient de potentiel hydrique entre la plante et le milieu salin (Greenway, Muns, 1980). Une fois que la plante s'est ajustée osmotiquement au milieu salin et que sa turgescence est restaurée, le déficit hydrique n'apparaît plus comme un facteur limitant la croissance sur milieu salin (Zhao et al, 1991).

La réduction de la croissance chez les glycophytes, soumises à un stress salin, semble être due au fait que ces plantes sont incapables de séparer les réponses spécifiques au stress hydrique de celles relatives au stress salin (Bressan R.A. et al., 1985) notent que les cellules de tabac adaptées au stress salin continuent de présenter une limitation de croissance, même quand leurs réajustements osmotiques sont réalisés ; les plantes régénérées à partir de cellules, adaptées au stress salin, continuent de montrer une croissance limitée, même en l'absence de stress salin (Iraki et al., 1989).

La diminution de l'expansion foliaire est soumise à un double contrôle, comprenant les équilibres hydriques et les signaux hormonaux provenant des racines.

Dans le cas de brusques variations environnementales d'humidité, de lumière ou de salinité, les relations hydriques sont les responsables des perturbations de la vitesse d'élongation. Alors que pour des stress hydriques ou salins, dont la durée est de l'ordre de quelques jours, ce sont les signaux hormonaux qui conditionnent le niveau de croissance ; cependant, à ce niveau, durant les périodes de forte transpiration, c'est l'état hydrique qui redevient le facteur limitant, malgré le contrôle exercé par les hormones (Munns et al., 2000).

Les pertes d'eau induites par les exigences atmosphériques sont régulées par les stomates ; mais c'est au niveau des racines que se situe le maillon faible de la chaîne du flux hydrique (Jackson et al., 2000).

À ce niveau, des canaux hydriques, ou aquaporines, induits en réponse à tout déficit hydrique, ont été mis en évidence (Johansson et al., 2000).

La plante, du fait de la diminution de la croissance de la partie aérienne, doit réguler plus strictement la pénétration des ions à travers les racines pour empêcher une accumulation trop rapide des ions au niveau aérien ; ceci conduit à une accentuation du déficit hydrique (Sing et al., 1989). La diminution de la productivité des plantes en déficit hydrique est due au fait que ces dernières, en

réduisant leur croissance, diminuent leurs surfaces foliaires, ce qui a pour conséquence une diminution de la capacité photosynthétique de la plante entière (Steduto et al., 2000).

Les halophytes n'utilisent pas la diminution de croissance comme un moyen de survie dans les conditions salines, mais continuent de puiser l'eau dans le sol, et les ions absorbés sont, soit éliminés par excrétion (Binet, 1982), soit dilués au niveau de la plante au cours de la croissance (Levitt , 1972).

IV-2- Les effets du déficit hydrique

L'eau constitue le milieu interne des plantes. C'est une véritable matrice vitale du fonctionnement cellulaire, à l'exception des grains mûrs, les différents organes de la plante renferment entre 80 et 90 % d'eau d'imbibition. Cette eau est nécessaire au fonctionnement de la plante.

L'eau d'imbibition qui s'évapore suite à la transpiration est renouvelée en permanence par l'eau absorbée par les racines. Lorsque l'absorption ne peut satisfaire la demande de la transpiration alors le stress hydrique s'installe (Levitt, 1980).

Sous stress hydrique la plante perd une partie de l'eau d'imbibition et ses processus physiologiques sont alors affectés. La transpiration dépend du rayonnement, de la température de l'air ambiant et des mouvements aérodynamiques de l'air (Levitt, 1980). La quantité d'eau transpirée est fonction aussi de l'indice foliaire et du degré d'ouverture, du diamètre et de la fréquence des stomates. Le rythme d'absorption est fonction de l'humidité du sol et du développement du système racinaire (Baldy et al., 1993).

Les besoins en eau de blé atteignent des valeurs très importantes, au regard des quantités de pluies que reçoit l'étage bioclimatique semi – aride.

Ces besoins sont fonction du type de variété, et variant de 450 à 600mm. Sous conduite pluviale et sur les hautes plaines orientales, ces besoins sont rarement satisfait suite à la faiblesse et à l'irrégularité des pluies (Baldy et al., 1993).

La phase critique pour l'eau débute avec le stade gonflement et se termine 20 jours après l'épiaison, date de réalisation du palier hydrique (Zhang et al., 1999).

L'effet du stress hydrique est différent selon les stades végétatifs. Au stade montaison, il provoque un arrêt de croissance des tiges, il s'ensuit une diminution du nombre de talles fertiles dont la conséquence est une réduction du nombre de grains /m². Au stade floraison, c'est la destruction des organes floraux qui prédomine et au cours de remplissage du grain, il y a une diminution du niveau et de la durée du palier hydrique, dont la conséquence est une chute de poids moyen du grain (Triboi et al., 1985).

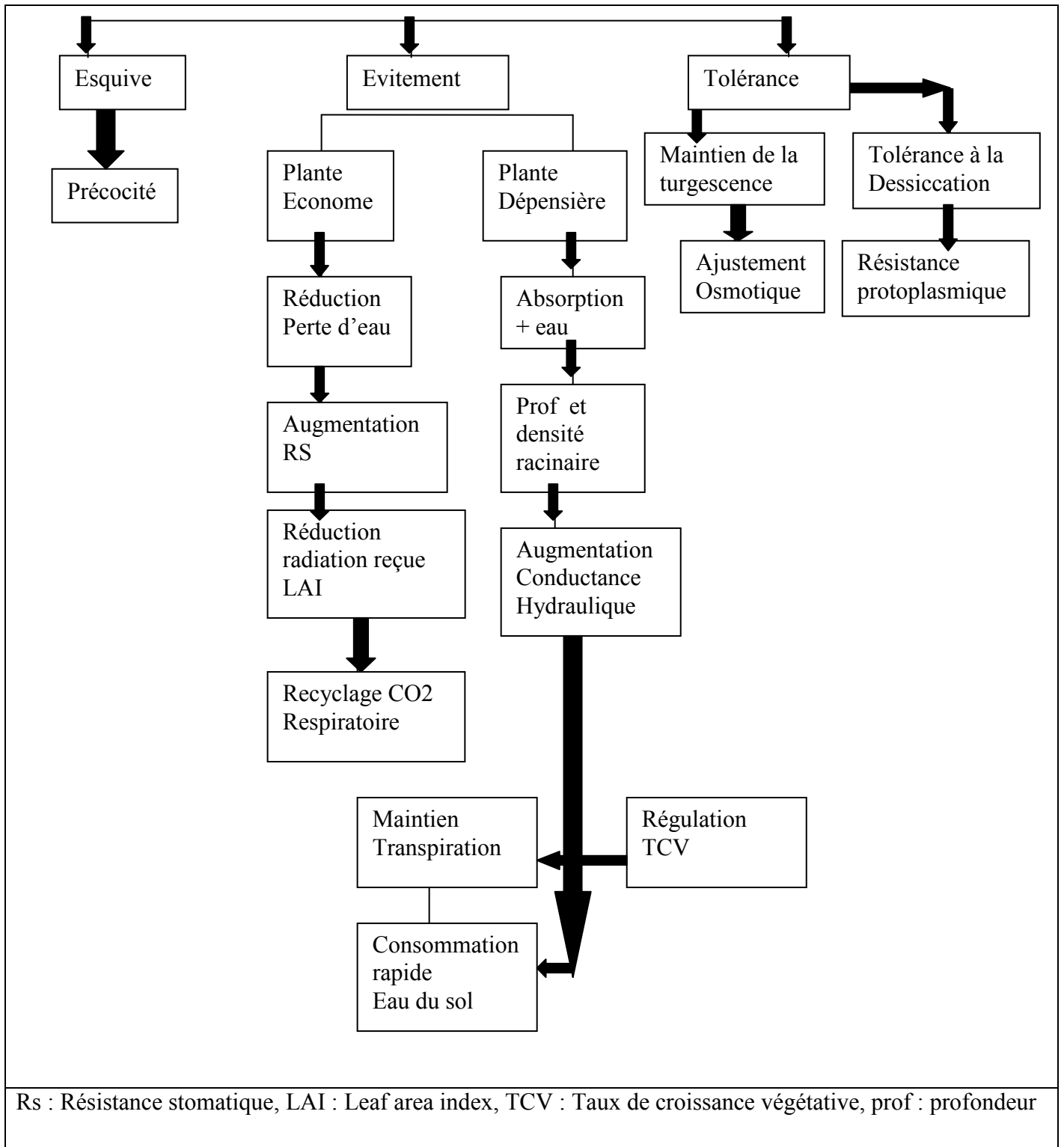


Planche (1) : Mécanismes de résistance des plantes aux stress abiotiques

(El-Jaafari et Paul, 1993).

La céréale est capable de compenser jusqu'à 20 % de pertes du peuplement épis, causées par le stress hydrique par une augmentation de la fertilité de l'épi ou bien par augmentation du poids moyen du grain (Ellis et al., 1997).

IV-3- Mécanismes d'adaptation aux contraintes abiotiques

En effet, selon le degré de salinité dans le milieu, les glycophytes en particulier sont exposées à des modifications de leur comportement morpho-physiologique (Bennaceur et al, 2001), biochimique (Grennan, 2006) et minéral (Martinez et al.,2007). Ainsi, les plantes réagissent à ces variations de la salinité dans le biotope, soit pour disparaître ou déclencher des mécanismes de résistance. Parmi ces mécanismes, l'ajustement osmotique joue un rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante à la contrainte (Munns, 2002). En effet, la tolérance, dans le cas d'un abaissement du potentiel hydrique, s'exprime par un maintien de la turgescence (Garg et al.,2002; Moinuddin et al.,2005) grâce au phénomène d'ajustement osmotique. Ce phénomène apparaît aujourd'hui comme un mécanisme majeur d'adaptation aux stress ionique et osmotique qui s'exprime par la capacité d'un végétal à accumuler, au niveau symplasmique et de manière active des ions tels que les K^+ et Na^+ (Parida et Das, 2005; Navarro et Rubio, 2006) et Cl^- (Munns et al, 2006; Teakle et al, 2007) ou de composés organiques tels les sucres solubles (Ottow et al, 2005) et certains amino-acides comme la proline, (Morant-Manceau et al, 2004). Il permet le maintien de nombreuses fonctions physiologiques (photosynthèse, transpiration, croissance...) (Grennan.,2006, Martinez et al, 2007) et il peut intervenir à tous les stades du développement du végétal, (Malasses,1996). L'osmorégulation permet une protection des membranes et des systèmes enzymatiques surtout dans les organes jeunes et la proline semble jouer un rôle dans le maintien des pressions cytosol vacuole et de régulation du pH (Ottow et al, 2005).

Pour lutter contre la contrainte abiotique, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives (Planche1) qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu, et la variété tolérante développe plusieurs mécanismes de résistances et pas un seul mécanisme (Bouatrous et al., 2009_a). La résistance d'une plante à une contrainte abiotique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité à survivre et à s'accroître et, du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles.

La résistance globale d'une plante aux contraintes abiotiques apparaît comme le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques et biochimiques qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de la production (Hsissou , 1994).

IV-3-1- Adaptations phénologiques

Pour éviter les périodes difficiles pour la croissance et le développement, certaines variétés accomplissent leur cycle de développement avant l'installation de la contrainte hydrique. La précocité constitue donc un important mécanisme d'évitement de la sécheresse de fin de cycle (Ben Naceur et al, 1999). Dans ces conditions, les paramètres phénologiques d'adaptation ou paramètres de précocité définissent le décalage du cycle vis-à-vis des contraintes environnementales. Dans les régions semi-arides, il est recommandé de semer l'orge durant la première quinzaine de novembre et le blé durant la seconde quinzaine. Néanmoins, si l'année est pluvieuse avec suffisamment de pluies pendant l'automne, l'agriculteur peut avancer la date de semis jusqu'à deux semaines. Cela permet à la céréale de mieux se développer avant l'entrée de l'hiver et d'arriver à maturité suffisamment tôt pour échapper, totalement ou partiellement, aux fréquentes périodes chaudes et sèches de la fin du printemps (Gonzalez, al 1999). La précocité assure une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau. En effet, en produisant la biomasse la plus élevée, les génotypes à croissance rapide et à maturité précoce utilisent mieux l'eau disponible et ils sont moins exposés aux stress environnementaux que les génotypes tardifs (Bajji , 1999).

Des recherches ont montré que, le rendement en grains est positivement corrélé à la précocité d'épiaison (Gonzalez et al, 1999). Selon les travaux effectués par Slama (2002), la variété la plus précoce a donné le rendement en grains le plus élevé ainsi que des grains plus volumineux. Le transfert des assimilats et le remplissage des grains semblent être plus efficaces chez cette variété. En effet, les variétés qui ont une vitesse de croissance élevée ont la capacité de mieux utiliser les sources nutritives à la fin du cycle de développement lorsque celles-ci deviennent limitantes (Poorter, 1989). La précocité de l'épiaison peut donc être utilisée comme critère de sélection pour améliorer les productions dans les zones sèches. C'est l'un des traits les plus importants dans l'adaptation des plantes au déficit hydrique terminal. Ainsi, en conditions méditerranéennes, la recherche d'une plus grande précocité a été, jusqu'en 1992, le moyen le plus utilisé pour éviter les effets négatifs sur le remplissage es grains du déficit hydrique et des hautes températures de fin de cycle (Ali Dib et al ., 1992).

IV-3-2- Adaptations morphologiques

L'effet de la sécheresse peut se traduire, selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou variété, par des modifications morphologiques pour augmenter l'absorption d'eau et/ou pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilats. Ces modifications affectent la partie aérienne ou souterraine par réduction de la surface foliaire et du nombre des tiges, enroulement des feuilles et/ou meilleur développement du système racinaire. Les travaux effectués par Slama A (2002) ont montré que la variété ayant le système racinaire le plus développé en conditions de déficit hydrique (Khar) a donné le rendement le plus élevé. En comparant trois variétés de blé dur, la variété ayant la barbe la plus développée sous contrainte hydrique présente le meilleur rendement (Salama, 2002). En effet, les barbes peuvent améliorer le rendement en conditions de sécheresse par augmentation de la surface photosynthétique de l'épi.

IV-3-3- Adaptations physiologiques

a- État hydrique de la plante

La diminution du potentiel hydrique du sol en conditions de sécheresse ou de salinité provoque une perte importante de la turgescence au niveau de la plante (Hench, 1987 ; Benderradji et al., 2010). L'augmentation de la production, dans ces conditions, dépend des mécanismes de tolérance qui assurent l'hydratation cellulaire et diminuent la perte en eau en maintenant un statut hydrique favorable au développement foliaire (Bouatrous et al., 2009_a). Le maintien d'un potentiel hydrique élevé est lié à l'aptitude à extraire l'eau du sol et à la capacité à limiter les pertes d'eau par transpiration (Sorrells et al., 2000 ; Bousba et al., 2009).

b- Fonctionnement stomatique

La réduction de la perte en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes à la sécheresse. En outre les résultats trouvés par (Djekoun et Ykhlef, 1996), montrent que le taux de la réduction de l'activité photosynthétique est en grande partie liée au degré de fermeture des stomates et celui de la réduction de l'activité des PSII (Ykhlef, 2001), mettant en valeur des aspects stomatiques et non stomatiques de l'adaptation photosynthétique chez les génotypes étudiés. Par ailleurs, les meilleures valeurs des activités photochimiques et

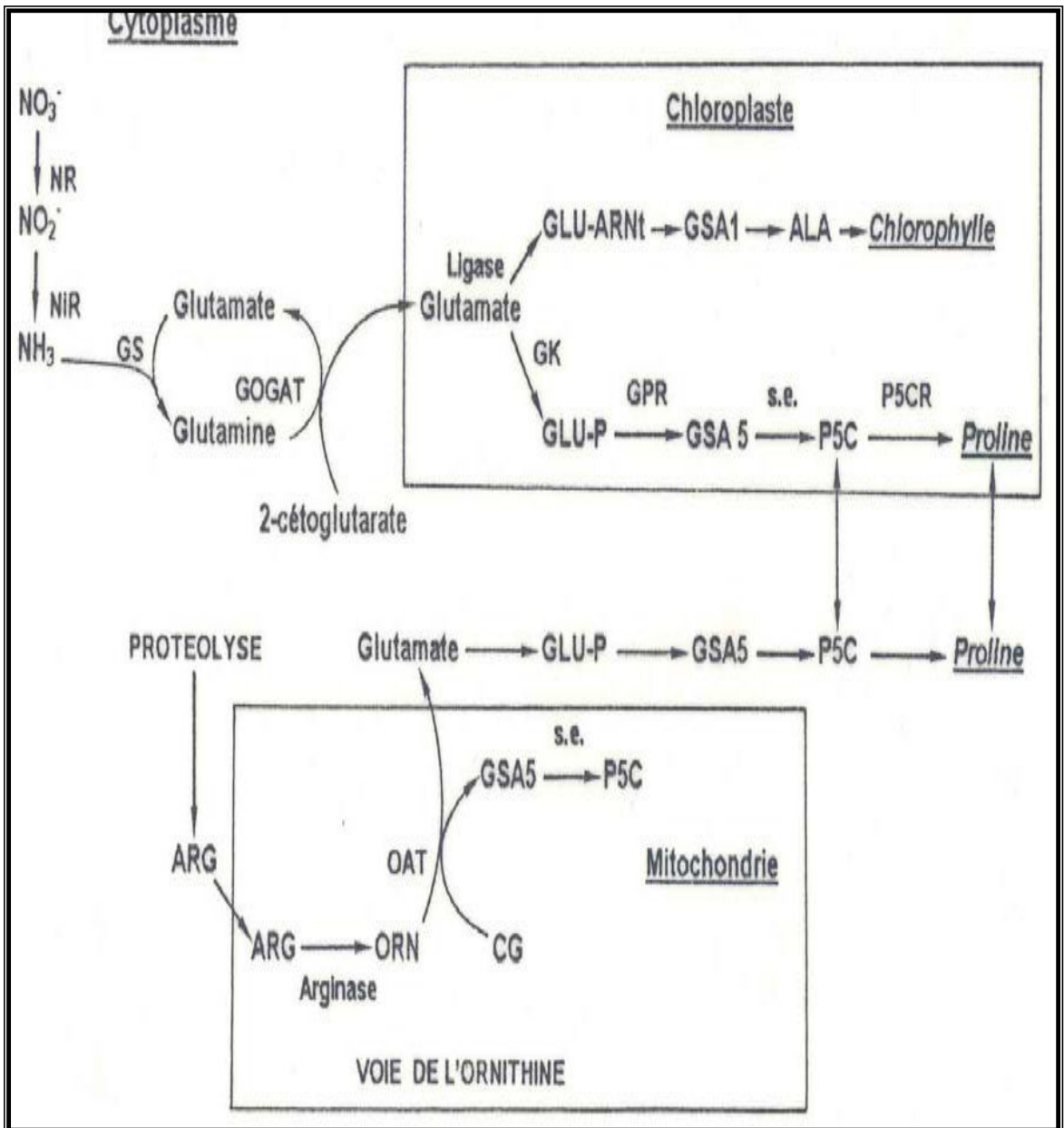


Planche (2) : Interconnexion des voies de biosynthèse de la chlorophylle et de la proline. ALA: Alanine, ARG: Arginine, CG: Cétoglutarate, GLU-P: Glutamyl phosphate, GLU-ARNt: Glutamyl-ARNt, GOGAT: Glutamate synthase, GS: Glutamine synthétase, GSA1: Glutamate 1-semialdéhyde, GSA5: Glutamate 5-semialdéhyde, ORN: Ornithine, P5C: Pyrroline 5- (El Hossin et al., 1998) Carboxylate, GK: Glutamyle Kinase, GPR: Glutamyle phosphate réductase, OAT: Ornithine-aminotransférase, P5CR: Pyrroline5-carboxylate réductase, NiR: Nitrite réductase, NR: Nitrate réductase, s.e: sans enzyme

photosynthétiques se trouvent chez les génotypes présentant les plus faibles valeurs du potentiel hydrique foliaire. Cette diminution de la transpiration peut engendrer une réduction de la photosynthèse. Ainsi, les génotypes qui ont la capacité photosynthétique intrinsèque la moins affectée par le déficit hydrique présentent une efficacité de l'utilisation de l'eau (photosynthèse/transpiration) plus élevée et une plus grande capacité de survie (Araus et al., 1991 ; Ykhlef et al., 1998). En agronomie de production, l'utilisation efficace de l'eau est le critère le plus utilisé pour évaluer tout apport d'eau. Ce paramètre est défini par le ratio de la matière sèche produite sur la quantité d'eau consommée (Bamouh , 2000).

L'augmentation du nombre de stomates par unité de surface pourrait être un des facteurs de résistance au déficit hydrique chez les céréales si elle est accompagnée par une bonne activité physiologique (Salama, 2000). L'accroissement de la densité stomatique peut augmenter l'assimilation nette du CO₂ et diminuer la perte en eau. En effet, un nombre élevé de stomates peut engendrer des stomates de petite taille et à fermeture rapide. Selon Slama (2000), la variété ayant le rendement le plus élevé et les grains les plus volumineux se distingue des autres variétés étudiées par une densité stomatique plus élevée au niveau de la barbe et de la feuille étandard. Ce résultat est en accord avec celui d'Erchidi et al. (2000) qui ont constaté que les variétés ayant une conductance et une densité stomatique élevées sont plus résistantes à la sécheresse en donnant le rendement en grains le plus satisfaisant.

IV-3-4- Ajustement osmotique

Le stress hydrique ou salin provoque la mise en place d'un état de régulation hydrique de la plante qui se manifeste par la fermeture stomatique et par une régulation du potentiel osmotique (Brisson et al., 1985). Parmi les osmorégulateurs les plus importants qui s'accumulent chez les céréales en conditions de déficit hydrique, ou stress salin on peut citer les sucres et un acide aminé, la proline (Planche 2).

Les sucres sont considérés par plusieurs auteurs comme de bons osmorégulateurs (Kameli , Lösel , 1995 ; Kameli , Lösel et al., 1998) qui peuvent jouer un rôle important dans l'ajustement osmotique et l'adaptation des plantes au stress salin et au stress hydrique (Morgan, 1984 ; Morgan et al., 1998).

L'accumulation de la proline constitue aussi un véritable mécanisme de tolérance à la salinité et la déficience en eau (Slama et al . 2004). En effet, la teneur en proline est plus élevée en cas de déficit hydrique et, en particulier, chez les génotypes les plus résistants à la sécheresse (Salama, 2000). La variété Razzak, qui accumule plus de proline dans ses différents organes et en

particulier au niveau de la barbe et de la feuille drapeau en conditions de déficit hydrique, donne le rendement le plus élevé et présente la capacité de remplissage de grains la plus importante (Salama , 2000). Par ailleurs, la variété ayant le rendement le plus faible et les grains les moins volumineux accumule moins de proline (Duriac). L'existence chez les céréales d'une variation intra-spécifique pour l'accumulation de la proline sous l'effet du déficit hydrique suggère la possibilité d'une sélection, sur la base de ce caractère, des génotypes qui auront une bonne capacité à survivre et un rendement en grains stable en conditions hydriques limitantes (Bergareche et al., 1992). Pour cette raison, certains auteurs (Bellinger et al., 1991) ont proposé l'accumulation de la proline comme technique de sélection des cultivars d'orge résistants à la sécheresse.

IV-3-5- L'Exclusion

La plante empêche le sel de remonter jusqu'aux feuilles. Une première barrière existe au niveau de l'endoderme, couche interne de cellule de la racine. Cependant, cette barrière peut être interrompue, en particulier lors de l'émergence des ramifications de la racine (Levent Tuna et al., 2007) ; d'autres mécanismes limitent le passage de sel des racines vers les feuilles mais les gènes qui gouvernent sont encore largement inconnus (Berthomieu et al., 2003).

IV-3-6- L'inclusion

La plante capte le sel, qui parvient aux feuilles, au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de pompe moléculaire. Les vacuoles sont des compartiments fermés au sein de la cellule. Le sel est ainsi isolé des constituants cellulaires vitaux (Berthomieu et al., 2003).

V- Amélioration de blé dur

Les sélectionneurs de blé dur mettent l'accent sur l'amélioration simultanée du comportement agronomique, de la résistance aux maladies et des caractères qualitatifs du grain. Les caractères agronomiques comprennent le rendement grainier, la tolérance à la sécheresse, la résistance aux maladies et aux insectes, la robustesse de la paille, la hauteur de la plante, la résistance à la verse et la récoltabilité. Les caractères qualitatifs du grain englobent des caractères qualitatifs physiques, tels que le poids spécifique, la grosseur du grain et le pourcentage de grains durs vitreux. De leur côté, les caractères qualitatifs requis à la transformation comprennent notamment la teneur en protéines, la concentration en pigment jaune, la teneur du grain en cadmium, la force du gluten, les propriétés meunières de la semoule, ainsi que la qualité culinaire et la couleur des pâtes alimentaires. La concentration en ions métalliques varie beaucoup dans le grain,

et l'on exploite actuellement cette variabilité pour sélectionner des cultivars à grains pauvres en cet élément (Clarke et al., 2002). Les sélectionneurs de blé dur tentent aussi de maintenir la résistance aux rouilles du blé et s'efforcent constamment d'intégrer une résistance stable aux taches foliaires, aux maladies transmises par les semences et à la fusariose de l'épi.

La majorité des variétés de blé dur cultivées sont des lignées pures obtenues, soit par des cycles répétés d'autofécondation, soit par haplodiploïdisation (Knox et al., 2002). Le processus de création d'une nouvelle variété commence par la production d'hybrides F1 par croisement de deux parents ou plus. Les sélectionneurs doivent veiller à ce que tous les parents servant au croisement possèdent collectivement la majorité des caractères recherchés pour la nouvelle variété.

Dans le cas des populations autogames, la génération F2 dérivée de l'autofécondation de sujets F1 affiche une grande variabilité génétique. La sélection des plantes possédant les caractères recherchés peut commencer à la F2 et se poursuivre pendant au moins deux générations, jusqu'à ce que les plants donnent une descendance génétiquement uniforme. Certains phytosélectionneurs choisiront de ne pas sélectionner en F2, mais plutôt en F3 ou en F4.

Habituellement, on procède à la sélection à ces stades précoces pour les caractères dont l'expression dépendra peu des conditions du milieu. La sélection pour des caractères complexes, comme le rendement grainier et la qualité du grain, commence habituellement en F6, quand une lignée généalogique est suffisamment uniforme.

Pour l'haplodiploïdisation, on soumet, soit l'ovaire, soit le grain de pollen en développement des plants de la F1, à la culture de tissus, afin d'obtenir un grand nombre de plantules haploïdes. Après avoir procédé au doublement des chromosomes au moyen d'inhibiteurs mitotiques comme la colchicine, les lignées généalogiques obtenues sont entièrement homozygotes. Après un ou deux cycles de multiplication des semences et une sélection visuelle, les lignées dihaploïdes sont avancées au cours d'essais répétés au champ en vue de l'évaluation du rendement et des caractères qualitatifs du grain.

Mais peu importe la méthode de sélection choisie, les données sur le rendement recueillies sur de petites parcelles servent à sélectionner les lignées qui seront avancées. De nombreux sélectionneurs suivront leurs travaux en pépinières d'hiver ou en serre pour produire deux générations par année et réduire ainsi le délai préalable à la commercialisation d'une variété de blé dur. Pour plus d'efficacité, les sélectionneurs de blé dur ont de plus en plus recours à la sélection à

l'aide de marqueurs moléculaires pour les caractères « difficiles à mesurer ». D'après les données sur le rendement de la F6 recueillies sur de petites parcelles, les chercheurs choisissent les lignées de blé pour les essais préalables à l'enregistrement. Ces essais, d'une durée habituelle de deux ans, ont lieu à quatre à six endroits par année.

Les lignées qui donnent des rendements égaux ou supérieurs aux variétés témoins actuelles sont ensuite avancées au cours d'essais d'enregistrement menés à 10 à 20 endroits pendant trois ans. Selon les résultats des essais d'enregistrement, les groupes administratifs, comme le comité de recommandation des Prairies pour le blé, le seigle et le triticales (CRPBST), appuieront ou non la demande d'enregistrement de la variété soumise par le sélectionneur. Dès que l'enregistrement d'un cultivar est approuvé, on distribue la semence de l'obteneur aux producteurs de semences qui la multiplieront. La semence de l'obteneur est multipliée jusqu'au stade des semences Fondation dont on tirera les semences enregistrées et/ou certifiées destinées à la production commerciale (Anonyme, 1994).

V-1 : Amélioration génétique et hybridation interspécifique

Stoskopf (1993) explique l'intérêt de recourir à l'hybridation interspécifique. Le principal objectif est d'améliorer une espèce en transférant des caractères qualitatifs spécifiques comme la résistance à un champignon ou un insecte, le froid, la sécheresse et à la salinité.

Quand les caractéristiques désirées ne peuvent pas être trouvées dans l'espèce à améliorer. Il est également possible d'atteindre des niveaux d'expression meilleurs d'un caractère grâce par exemple à l'action de gènes complémentaires. L'hybride peut alors être meilleur que les parents pour des caractères quantitatifs comme le rendement, la maturité et la résistance à l'hiver. L'hybridation interspécifique est aussi un moyen de produire de nouvelles espèces allopolyploïdes, ou bien des lignées de substitution, d'addition ou de translocation. Dans le cas d'études méiotiques, elle permet d'établir les relations entre les chromosomes des deux parents en observant les appariements. Enfin, elle est un outil de choix pour augmenter la diversité génétique afin de se protéger contre les risques biologiques et environnementaux.

Les ressources génétiques peuvent être réparties en trois groupes selon leur accessibilité, c'est-à-dire selon la difficulté du croisement et du transfert de gènes (Stoskopf, 1993).

PGI : pool génétique primaire qui comprend tout le matériel appartenant à espèce *T*.

aestivum et les autres espèces de génome ABD comme *T. spelta*;

PG2 : pool génétique secondaire dont font partie tous les autres blés (2x, 4x, 6x), les parents du blé tendre et les *Aegilops* qui possèdent au moins un génome commun avec le blé tendre;

PG3 : pool génétique tertiaire formé par les triticiées ne possédant pas de génome homologue de ceux du blé tendre, comme par exemple le seigle.

La difficulté commence au niveau du PG2 (difficultés de croisement, stérilité mais appariement homologue partiel) et devient sérieuse avec le PG3 (homéologie mais absence d'homologie).

De nombreuses hybridations entre le blé et des espèces sauvages ont été réalisées. Elles sont résumées par Sharma et Gill (1983) et par Jiang et al. (1994) pour les plus récentes. Ces auteurs font état de nombreux cultivars de blé possédant des gènes de résistance provenant d'espèces apparentées avec notamment de nombreuses résistances aux rouilles provenant d'*Agropyron intermedium* et *A. elongatum*. Les introgressions les plus représentées dans les variétés de l'Europe du Nord-Ouest sont la résistance à l'oïdium venant de *Triticum trimopheevi*, la résistance au piétin-verse venant d'*Aegilops ventricosa* et la translocation T1BL. 1RS.

Dans le cas du VJNO (Virus de la jaunisse nanisme de l'orge), il existe quelques gènes de résistance chez les espèces cultivées, mais les vraies sources de résistances sont rares. On recourt alors des parents sauvages de la tribu des Triticeae connus comme résistants au VJNO, et on réalise une série de croisements interspécifiques avec le blé. La résistance alors transmise au blé serait due à la présence d'un chromosome étranger ou à un transfert intergénérique de gènes résultant d'une translocation (Comeau et al., 1993_a).

Chez les interspécifiques, la recombinaison méiotique est le résultat d'un crossing-over entre deux chromosomes homéologues dans une cellule gamétique. La recombinaison peut concerner :

- des bras chromosomiques entiers comme la translocation blé/seigle T1BL. 1RS (Zeller, 1973);
- des portions de bras chromosomiques comme la translocation spontanée blé/*Agropyron elongatum* T3DS .3DL-Ae # 1L du cultivar « Agent » (Smith et al., 1966).

- Des translocations multiples comme dans le cas du chromosome zébré « z5A, constitué de 4 segments provenant du chromosome SA du blé alternant avec 4 segments issus du chromosome 1H^t d'*Elymus trachycaulus* (Jiang et Gill, 1993).
- Des microintrogressions détectables par des marqueurs RFLPs (Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction) (Jena et al., 1992).

D'un point de vue agronomique, le but est généralement de transférer des secteurs chromosomiques les plus petits possibles, c'est-à-dire de ne transférer au blé que le caractère désirable et non les gènes indésirables voisins (Gustafson et Dera. 1989). Mais il arrive parfois que l'on utilise une substitution complète. Zeller (1973) a identifié parmi des cultivars de blé allemands des substitutions blé/seigle IR (1B). Des lignées de substitution 2R (2D) sont également apparues par hybridation triticales x blé non contrôlée.

Pour le transfert de matériel génétique étranger, il existe vraisemblablement d'autres mécanismes d'échange que la recombinaison méiotique réciproque. En effet, Jena et al. (1992) ont détecté avec des marqueurs RFLPs des translocations très petites et très nombreuses à partir d'un hybride entre deux espèces diploïdes de riz (*Oryza sativa* et *Oryza officinalis*). Dont la F1 ne présentait que un à cinq bivalents à la méiose. Les segments introgressés étaient de même taille en BC2F3 et en BC2F8, alors qu'habituellement leur taille devrait diminuer d'une génération à l'autre par recombinaison et sélection contre les portions de segments introgressés portant des gènes pour des caractères indésirables. De plus, les portions introgressées sont extrêmement petites. si bien que deux crossing-overs auraient dû avoir lieu à 2 ou 3 cM l'un de l'autre, ce qui est peu probable. Les mécanismes de ces recombinaisons demeurent cependant inexplicables.

V-1 -1- Problèmes spécifiques à l'hybridation interspécifique

Le croisement entre le blé et l'espèce sauvage n'est pas toujours facile. Les premières barrières d'hybridation interspécifique sont de type pré-fécondation. Chez le blé, l'incompatibilité avec le seigle, *Hordeum bulbosum* et d'autres espèces est contrôlée par les gènes Krl, Kr2, Kr3, Kr4 (chromosomes 5B, 5A, 5D, 1A), qui agissent au niveau de l'ovaire en inhibant la germination du tube pollinique étranger. À l'état récessif (krkr), ils apportent par contre une très bonne aptitude au croisement (Luo et al., 1992). Le nombre chromosomique différent entre les deux parents peut également causer une incompatibilité au croisement (Cauderon, 1986). L'aptitude au rétrocroisement, indépendante de l'aptitude au croisement en F1, est contrôlée par d'autres gènes (Comeau et al., 1993a et b).

Une fois la fécondation réussie, le développement de l'embryon peut se heurter à des barrières post-fécondation. La première difficulté dans le transfert de gènes est de maintenir au moins temporairement le génome étranger introduit dans le blé. L'élimination des génomes peut en effet se produire à n'importe quel moment. Il s'agit de l'élimination de génomes entiers et non de la diminution du nombre de chromosomes étrangers par rétrocroisement. Ceci peut être dû par exemple à la désynchronisation des mitoses des deux génomes. Cette élimination est souvent souhaitable pour permettre un retour à la fertilité (Comeau *et al.*, 1993 a; 1993 b; Picard *et al.*, 1994).

Il faut bien sûr parvenir à transférer le gène ou le complexe de gènes de l'espèce étrangère au blé. En ce qui concerne la résistance au VJNO, la protection est polygénique, mais il n'est pas nécessaire de transférer le système polygénique complet pour avoir un résultat intéressant (Comeau *et al.* 1993b). Le transfert est souvent délicat car la fréquence des échanges intergénomiques est assez faible. En effet, les chromosomes appartenant à des génomes étrangers s'apparient rarement à la méiose. Ceci est dû aux gènes *Ph1* et *Ph2* (chromosomes 5B et 3D du blé), qui ne permettent qu'un appariement strictement homologue, mais empêchent l'appariement homéologue entre espèces apparentées.

Or, l'appariement homéologue est indispensable pour permettre l'échange de segments chromosomiques entre les deux espèces. L'allèle mutant récessif *ph1b* est une forme inactive de *Ph1* et permet un très bon appariement homéologue. D'autres allèles mutants, *ph1a* et *ph2a*, également récessifs. Permettent un appariement intermédiaire (Sears, 1981). De manière générale, le faible taux d'appariement oblige de travailler sur de grosses populations pour augmenter les chances d'observer les événements rares (Comeau *et al.*, 1987; 1993 a; 1993 b). La culture cellulaire ou tissulaire peut aussi être utilisée pour induire : des translocations (Lapitan, 1984).

Lorsqu'un gène étranger est effectivement introgressé dans le blé, il n'est pas garanti que son niveau d'expression sera acceptable au niveau agronomique. Dans un fond génétique de blé, le gène s'exprime parfois moins bien que dans son génome d'origine, ou bien ne s'exprime pas du tout (Gustafson et Dera, 1989). Par exemple, la tolérance à l'aluminium transmise au blé par le seigle est sous le contrôle complexe de 18 bras chromosomiques du blé qui agissent comme activateurs ou suppresseurs. Son niveau d'expression est très variable. Dans le cas du VJNO, la réaction des F1 est également variable.

Les gènes de tolérance à une maladie s'expriment souvent moins bien que les gènes de résistance. De plus, même les gènes de résistance à l'agent pathogène auront du mal à s'exprimer dans l'environnement du nouveau génome. Beaucoup d'hybrides seront donc inutilisables selon le test d'expression génétique de la F1 (Comeau et al., 1987).

L'obtention d'une lignée stable, viable et fertile n'est pas non plus chose simple. De nombreux problèmes sont liés au déséquilibre chromosomique. L'exemple du triticales permet de comprendre: pourquoi le nombre chromosomique des hybrides interspécifiques et intergénériques est dans une certaine mesure aléatoire. Wang et H. Hu (1985) ont réalisé le croisement entre le blé tendre (AABBDD) et le triticales (AABBRR). L'hybride F1 est de la forme AABBDR et les gamètes qu'il produit contiennent de 14 à 28 chromosomes (7 A, 7 B, 0 à 7 R, 0 à 7 D). En effet, les chromosomes des groupes D et R restent univalents à la méiose et sont distribués aléatoirement dans les gamètes. Ce phénomène cause généralement la stérilité et une forte aneuploïdie de la RC₁ (premier rétrocroisement au blé) (Mujeeb-Kazi et Bernard, 1982; Sharma et Gill, 1983). Ainsi les anthères de la F1 ne contiennent que de 0 à 10 % de grains de pollen viables selon un test à l'acétocarmin, ce qui fait qu'elles ne libèrent pas leur pollen (Comeau et al., 198 ; Zhuang et al., 1985) parlent également de microspores anormales. Quant aux gamètes femelles, ils sont fortement aneuploïdes et seraient même incapable de produire le stimulus nécessaire au déclenchement de la germination des grains de pollen. La F1 présente donc une forte stérilité mâle et femelle.

Les RC₁ et RC₂ le sont également un peu, comme parents mâles et femelles. Au-delà de la RC₃, les difficultés diminuent car le degré d'autofécondation et la proportion de pollen viable augmentent au fur et à mesure que l'équilibre génétique, c'est-à-dire la présence de génome(s) aussi complet(s) que possible, est rétabli (Comeau et al., 1993 a; 1993 b).

L'équilibre est donc rétabli par une série de rétrocroisements avec le blé suivis d'autofécondations.

La non viabilité ou le manque de vigueur de la F1 peuvent être causés par l'incompatibilité entre les génomes des espèces parentales, entre le génome d'une espèce et le cytoplasme de l'autre, ou entre les génotypes du zygote F1 et celui de l'endosperme (Maan. 1983; Sharma et Gill. 1983; Stoskopf. 1993).

Un autre problème est la nécrose hybride, qui désigne la dégénérescence prématurée de l'hybride. Elle survient quand les deux gènes complémentaires *Ne1* et *Ne2* (portés respectivement par les bras chromosomiques 5BL et 2BS) sont réunis dans le même génome (Tsunewaki, 1992).

V-1-2- Solutions pour franchir les barrières à l'hybridation interspécifique

Sharma (1995) estime que tout croisement devrait être possible sous réserve de développer une technique adéquate et il récapitule les différentes solutions imaginées.

Il existe d'abord plusieurs moyens pour réussir le croisement:

- l'utilisation de la variabilité environnementale: le croisement peut réussir ou non selon le climat.
- l'utilisation de la variabilité génétique: une même espèce se croise plus ou moins bien selon le centre d'origine d'où elle provient.
- Le croisement réciproque où le parent femelle est celui dont le nombre chromosomique est le plus petit.
- Les croisements intermédiaires utilisant des espèces « ponts » quand les parents sont génétiquement trop éloignés.
- Le doublement chromosomique d'un ou des deux parents, ou de la F1 qui permet d'obtenir des gamètes non réduits plus équilibrés.

Ensuite, différentes techniques permettent l'obtention d'une progéniture viable :

- La culture d'inflorescences immatures pour la propagation végétative d'hybrides stériles.
- Les traitements hormonaux post-pollinisation pour maintenir le développement de la graine jusqu'au sauvetage d'embryon.
- Le sauvetage d'embryon quand l'endosperme n'en pas viable.
- La culture d'embryons *in vitro* quand l'avortement de l'embryon est très précoce.
- Les rétrocroisements avec le blé pour restaurer l'équilibre chromosomique.

D'autres méthodes, comme la fusion de protoplastes, encore appelée hybridation somatique, permettent l'obtention d'hybrides. L'irradiation est également employée pour favoriser les chiasmas méiotiques.

VI- Haplodiploïdisation

La maîtrise de l'obtention et l'utilisation de lignées haploïdes doublées chez une espèce de grande culture comme le blé dur est un enjeu important pour les programmes d'amélioration variétale de cette espèce. L'Haplodiploïdisation est en effet une méthode de fixation rapide du matériel génétique après la méiose, permettant l'obtention de lignées homozygotes en une seule étape, alors que, dans les méthodes classiques, la fixation des lignées requiert plusieurs cycles d'autofécondation (De Buyser et al., 1987). On obtient alors en une étape de culture in vitro des Lignées complètement homozygotes, c'est-à-dire fixées. Ce qui équivaut à 10 générations d'autofécondation (Picard et al., 1994).

. Elle permet donc un gain de temps appréciable, également un gain en efficacité de la sélection et une diminution du coût de production des lignées pures (De Buyser et al., 1987).

Il existe diverses méthodes de production des plantes haploïdes, la méthode de croisement interspécifique ou intergénérique qui implique le phénomène de l'élimination chromosomique (Thom, 1992; Pickering et Devaux, 1992), l'androgenèse in vitro impliquant la culture des anthères ou des microspores isolées (Pickering et Devaux. 1992; Kasha et al., 1990; Ziauddin et al., 1992), la culture d'ovaires non fécondés ou de sacs embryonnaires, ou finalement celle impliquant la présence du gène «hap» (Prakash et Giles, 1987).

VI-1-Parthénogenèse

La parthénogenèse est une forme d'apomixie qui est considéré comme un mode de reproduction de certaines plantes au cours duquel l'oosphère se développe sans fécondation et produit une plantule haploïde parfaitement viable (Grossniklaus et al. 2001). Ce phénomène intervient spontanément chez quelques espèces comme le maïs, le pommier ou le citronnier (Koltunow 1993 ; Grossniklaus et al. 2001 ; Koltunow et Grossniklaus 2003). Cette technique conduit à l'amplification d'un individu particulièrement intéressant, sans reproduction sexuée et donc sans brassage génétique puisque seul le génome maternel participe à la formation des nouvelles plantules. La faible fréquence d'apparition d'embryons par cette technique la rend pour le moment inexploitable pour des programmes industriels de sélection (Koltunow et Grossniklaus 2003).

VI-2- Androgenèse

La culture d'anthers est une technique d'haplodiploïdisation réalisée depuis plus de vingt ans. Cependant, des difficultés subsistent quant à la production à grande échelle de nouveaux génotypes fixés par cette technique d'androgenèse *in vitro*. Les problèmes majeurs se manifestent surtout au niveau de la régénération de plantes vertes, en raison d'une mauvaise aptitude de certains génotypes à l'androgenèse *in vitro* (Pickering et Devaux, 1992). Chez le blé dur, le taux de production de plantes haploïdes et haploïdes doublées chlorophylliennes est souvent nulle et, lorsqu'il y a formation de plantes, elles sont souvent déficientes en chlorophylle, c'est à dire albinos. Ces problèmes retardent l'application de cette technologie à l'amélioration de *Triticum durum*.

Des recherches pour améliorer la technique de culture *in vitro* des anthers, ainsi que les milieux de culture *in vitro* sont impératives.

IV-2-1 : Les limites de l'androgenèse

a- Le cas des espèces récalcitrantes

Malgré les résultats parfois spectaculaires de l'androgenèse ou des microspores isolées, il existe des espèces qui restent récalcitrantes à l'androgenèse ou dont la réussite est partielle ou faible, voire nulle. C'est le cas par exemple du blé dur. Chez cette espèce, la phase d'induction et de production des embryons se passe en général comme chez les espèces non récalcitrantes tout au moins pour certains génotypes comme pour le cultivar Jennah Khetifa (Labrani et al., 2005) mais les problèmes apparaissent surtout pendant la phase de régénération où les embryons, pour la majorité des génotypes, ne régénèrent que des plantes albinos ou des racines. Par exemple, seules une ou deux plantes vertes avaient été obtenues par Foroughi-Wehr et Zeller, (1990) sur quatre variétés de blé dur.

Mihamou-Ziyyat (1992) sur une étude assez extensive (une collection de 127 lignées de blé dur), a montré qu'il n'existe néanmoins chez cette espèce qu'un petit nombre de lignées (environ 10 %) aptes à donner en androgenèse *in vitro* des plantes chlorophylliennes. Leurs performances sont alors tout à fait comparables à celles des génotypes de blé tendre embryogènes. Au total, plus d'une cinquantaine de plantes haploïdes vertes ont ainsi été produites. Mais avant que les méthodes d'androgenèse *in vitro* soient mises au point sur le blé dur, ce sont les méthodes faisant appel aux croisements intergénériques, notamment avec le maïs, qui permettront d'obtenir des haploïdes doublés chez cette espèce. Les premières études faites au laboratoire de Morphogenèse Végétale

Expérimentale Haploïde d'Orsay (MVEH) ont montré un faible taux de régénération de plantes chlorophylliennes (résultats non publiées) chez l'espèce blé dur. Mais plus récemment des travaux réalisés sur des cultivars de (*Triticum turgidum subsp.durum* (Desf) Husn.) par la méthode de culture *in vitro* de microspores isolées ont montré par contre qu'on peut obtenir des plantes haploïdes chlorophylliennes sous l'action des prétraitements. Sur 100 embryons mis en culture, cinq plantes chlorophylliennes sont régénérées. Leurs performances sont alors tout à fait comparables à celles obtenues par le cultivar modèle hexaploïde (Labrani et al., 2005).

b- Aptitude à l'androgenèse

Devant la variabilité génétique et spécifique de l'aptitude à répondre *in vitro*, des investigations ont été portées sur les possibilités de repérage à l'aide de marqueurs cytologiques ou moléculaires de cette aptitude. Ainsi Sangwan et Sangwan-Norreel (1987) ont montré que le caractère récalcitrant ou favorable à l'androgenèse des espèces peut être prévu par la différenciation plus ou moins précoce des proplastides en amyloplastides au cours de la gamétogenèse mâle. Les espèces connues comme favorables à l'haploïdie *in vitro* n'accumulent de l'amidon dans leur pollen qu'au stade bi-cellulaire, alors que ceci se passe très précocement chez les espèces récalcitrantes, les amyloplastides étant observables pendant toute la gamétogenèse.

Ces organites cytoplasmiques sont connus pour ne pas pouvoir se dédifférencier *in vitro*. Un autre exemple : chez le maïs, la corrélation entre la synthèse d'une protéine de 32 kd et l'aptitude à répondre en androgenèse a été mise en évidence (Vergne et al., 1993). Elle est induite par le prétraitement au froid des panicules avant leur mise en culture. Egalement, chez une variété de blé tendre connue pour ses bonnes performances androgénétiques et cultivée *in vitro* dans deux conditions, l'une favorable et l'autre défavorable à l'haploïdie, Reynolds et Kitto (1992) ont pu mettre en évidence, grâce aux techniques de screening différentiel de banques d'ADNc, des clones spécifiques des toutes premières étapes de l'androgenèse.

c- L'albinisme

Le problème de l'albinisme est un problème majeur en androgenèse. C'est le cas notamment chez les céréales et plus particulièrement le blé dur. Il a été démontré, chez le blé tendre et l'orge, que les plantes albinos issues de l'androgenèse présentent des délétions très importantes dans leur génome chloroplastique (Day et Ellis 1984, 1985). Dans le cas où les plantes sont chlorophylliennes, leurs génomes chloroplastiques ne sont pas affectés par le processus *in vitro*

comme cela a été démontré par Rode *et al.*, (1985) chez le blé ou par Charmet *et al.*, (1985) chez le triticale. Tuveesson et al., (1989) avaient montré par ailleurs, chez le blé tendre, que cet albinisme est sous contrôle de deux groupes de gènes nucléaires. Le premier est composé de gènes à effets principalement additifs contrôlant le pourcentage de régénérations chlorophylliennes à cause de leur effet sur l'aptitude globale du matériel à régénérer. Le deuxième groupe, composé de quelques gènes dominants ou à effets épistatiques, affecterait la fréquence à l'origine des structures chlorophylliennes.

La photosynthèse est contrôlée par une enzyme allostérique la Ribulose 1,5 bisphosphate carboxylase/oxygénase, ou Rubisco. C'est une protéine spécifique, contenue dans les plastes. Elle est constituée de 2 sous-unités: 1 grande et 1 petite, chacune en 8 exemplaires dans la protéine native. La grande sous-unité est codée par un gène plastidial; alors que la petite est codée par un gène nucléaire. Caredda *et al.*, (1999) ont identifiés chez l'orge par western blot la présence de 2 sous-unités de la Rubisco dans les plantules chlorophylliennes mais pas dans les plantules albinos. De même, les 2 protéines ne sont pas présentes dans les embryons de 21 jours dans le cv. Igri (cultivar régénérant des plantes vertes) et dans le cv. Cork (variété donnant 100% des plantes albinos). Ces chercheurs ont suggéré que le phénotype albinos est lié à une déficience en protéine d'origine plastidiale et nucléaire, et que la Rubisco n'apparaît que pendant la phase de régénération.

Chez l'orge, une altération de l'ADN plastidial et nucléaire a été identifiée chez les plantes albinos (Dunford et Walden, 1991), indiquant ainsi que chacun des génomes est impliqué dans l'apparition de l'albinisme.

Toujours, chez l'orge (Caredda et al., 2004) ont mené un travail fondamental sur les plastes de la microspore durant les différentes phases de l'androgenèse. Ces auteurs ont montré que chez le cultivar hiver Igri les plastes des embryons dérivés des microspores sont caractérisés par de nombreuses divisions, une différenciation des thylakoïdes, faible présence d'amidon et une forte teneur en ADN. Ces embryons donnant dans la plupart des cas des plantules vertes (88% de plantules chlorophylliennes régénérées). A l'inverse, au niveau des lignées de printemps testées, il y a peu de divisions et peu d'ADN dans les plastes des embryons dérivés des microspores. Ces derniers ont régénéré en plantes albinos (100% d'albinos régénérés). Les plastes des plantules albinos sont dépourvus de thylakoïde, mais contiennent un corps prolamellaire et de nombreux plastoglobules (Caredda et al., 1999). Dans la microspore, au stade de prélèvement, les plastes ne présentent dans le stroma qu'un thylakoïde en moyenne et un grain d'amidon en cours de formation. Ces auteurs ont montré qu'il y a une corrélation étroite entre le manque d'ADN plastidial et

l'absence de la division des plastes, entraînant ainsi une forte perturbation dans la physiologie des plastes des plantules androgènes albinos. Ces mêmes chercheurs ont suggéré que l'origine de l'albinisme androgénétique diffère selon les cultivars. Chez les cv d'hiver, une altération des plastes pourrait intervenir au moment de la phase de la régénération androgénétique. Au contraire, pour les cultivars d'orge de printemps, les plastes sont sérieusement affectés chez les microspores au moment de leurs mises en culture, ce qui pourrait expliquer que ces lignées ne régénèrent que des plantules androgénétiques albinos. Cette observation montre que l'albinisme n'est pas toujours initié au cours de la phase de régénération et qu'il pourrait très tôt s'installer pendant le processus de l'androgénèse. Cependant des études faites avant par (Mouritzen et Holm, 1994) toujours sur le cultivar d'orge d'hiver Igri, ont montré que l'altération du génome plastidial impliqué dans la formation des plantes albinos a eu lieu pendant la phase de régénération (Mouritzen et Holm, 1994).

Probablement, chez l'orge, l'albinisme androgénétique peut avoir plusieurs origines pour des cultivars d'hiver et de printemps. Durant l'embryogénèse androgénétique, lors de la régénération de plantules chlorophylliennes, ces plastes suivent une voie de développement comparable à celle observée durant le développement de l'embryon zygotique. Lorsqu'une plante albinos est régénérée, les plastes de la microspore demeurent indifférenciés durant tout le processus androgénétique (Caredda et al., 1999). En effet pendant le développement *in vivo* des grains de pollen, les plastes se différencient exclusivement en amyloplast, accumulant de l'amidon lors de la maturation des grains de pollen. Il y a mobilisation de réserves amyloplastiques pendant la croissance du tube pollinique

(Mogensen, 1996). Pendant la maturation des grains de pollen, il y a dégradation de l'ADN plastidial dans la cellule végétative issue de la division mitotique (Mogensen, 1996; Nagata et al., 1999a,b). Par ailleurs, Wang et al. (1999a) ont montré chez le cultivar Igri que la dégradation de l'ADN a eu lieu pendant le développement des microspores. Cette dégradation est stoppée par des prétraitements et l'ADN peut ainsi être restauré à la fin de prétraitement (Wang et al. 1999b). Ces chercheurs ont, par ailleurs, montré que le phénotype ou bien le caractère albinos est lié à une déficience en protéine d'origine plastidiale et nucléaire.

Chez les Poacées, la réussite de l'androgénèse est influencée par 3 facteurs contrôlés génétiquement (Knudsen et al., 1989): l'induction de cals ou d'embryons à partir des microspores; conversion des embryons en plantes et enfin formation de plantes androgénétiques chlorophylliennes. Chaque céréale étudiée répond différemment au processus androgénétique. Chez ces espèces le prétraitement appliqué ne permet pas de réorienter le programme génétique de la

microspore. D'autres ne sont pas en mesure de régénérer des plantes à partir d'embryons, comme chez certains cultivars du seigle (Rakoczy-Trojanowska et al., 1997). Enfin de nombreuses Poacées régénèrent par androgenèse *in vitro* une proportion significative de plantes albinos, hétérotrophe vis-à-vis du carbone et donc incapable de survivre.

L'albinisme constitue un obstacle et une limite certaine à l'exploitation de l'androgenèse chez les céréales en particulier (Jahne et Lorz, 1995). Afin de caractériser ce facteur, les chercheurs ont défini un rapport V/A (vertes / albinos) (ou «G/A») donnant la proportion de plantes androgènes chlorophylliennes et albinos. Ce rapport V/A varie suivant les espèces. Chez l'orge, le blé et le riz (Chu et al., 1990; Orshinsky *et al.*, 1990; Jahne et al., 1991) certains génotypes régénèrent jusqu'à 100% de plantes albinos en androgenèse *in vitro*.

VI-3- Gynogenèse

Pour produire des plantes haploïdes, la culture des ovaires non fécondés est actuellement utilisée chez plusieurs espèces végétales. Ceci a été réalisé chez le blé, l'orge, le riz et le tabac. Ce sont les éléments du sac embryonnaire qui donnent des embryons haploïdes. Chez l'orge, l'oosphère ou les antipodes se développent en embryon ; par contre, les synergides ne donnent que des proliférations qui se transforment en cals (Chih-ching, 1982).

La culture des ovaires peut se faire soit *in vitro* dans un milieu artificiel, soit *in vivo*. La production des haploïdes *in vivo* consiste à faire évoluer l'ovule non fécondé en embryon sans l'extraire de l'ovaire. Ceci peut être obtenu par les traitements suivants :

- pollinisation retardé
- pollinisation avec du pollen irradié
- utilisation du pollen d'une autre espèce
- utilisation de choc de température
- utilisation des gènes induisent la parthénogenèse

Dans la plupart des cas, le taux d'induction des haploïdes de cette façon est assez faible, cette méthode est moins utilisée. Elle est souvent utilisée chez les espèces qui sont récalcitrantes à l'androgenèse car ce processus ne donne qu'un très faible taux de régénération albinos, du fait que les plantes haploïdes régénérées sont d'origine uniquement maternelle.

VI- 4- Hybridation interspécifique ou intergénérique

Une des méthodes actuellement utilisée pour l'amélioration des blés est l'haplodiploïdisation. Cette méthode suscite un très vif intérêt parmi les sélectionneurs, car elle permet de raccourcir la période de sélection aboutissant à la production de lignées pures par comparaison aux méthodes classiques de sélection (De Ruyser, Henry Y 1986). Le maïs, *Zea mays* L., peut fertiliser le blé tendre *Triticum aestivum* L., (Laurie, Bennett, 1986). Le zygote issu de croisements entre le blé et le maïs contient une combinaison de 21 chromosomes de blé et 10 chromosomes de maïs, et l'albumen est soit absent, soit fortement anormal (Laurie DA, Bennett MD 1988). Les 10 chromosomes de maïs montrent des centromères qui présentent une faible affinité pour le fuseau achromatique, ce qui entraîne leur élimination rapide au cours des trois premières divisions cellulaires et la formation d'un embryon haploïde avec des chromosomes en provenance du parent blé (Laurie, Bennett 1988). Les deux gènes du blé, Krl et Kr2, empêchant le croisement avec le seigle, (Jalani, Moss, 1980), et avec *Hordeum bulbosum* (Snape et al., 1979) n'ont pas un effet significatif sur le croisement « blé x maïs » (Laurie, Bennett 1988). Les gènes Kr inhibent la croissance du tube pollinique étranger au niveau du style et sa pénétration à l'intérieur de l'ovaire. Par l'étude des lignées de substitution chromosomiques, on peut identifier des chromosomes porteurs de gènes correspondant à un caractère de façon plus fiable que par la voie des aneuploïdies (Schmidt et al., 1966) ;

L'haplodiploïdisation comporte deux phases. Il faut d'abord obtenir des plantes haploïdes puis doubler leur nombre de chromosomes pour obtenir des plantes diploïdes homozygotes (doublement chromosomique). Le doublement chromosomique peut être obtenu de deux façons. L'état haploïde est instable et il se produit souvent un retour à la diploïdie ou plus par endomitose et fusion des noyaux dans les cultures de cals. Il s'agit alors d'un doublement spontané (Bajaj, 1990). Le doublement peut également être artificiel à l'aide de la colchicine, un alcaloïde d'origine végétale inhibiteur de la formation des fuseaux achromatiques lors des mitoses (Jahier, 1992).

VII- Utilisations des haplodiploïdes

Bajaj (1990) dresse un bilan des avantages des haploïdes doublés. L'intérêt majeur est l'obtention en une génération de l'homozygotie complète et cela même dans des cas difficiles comme l'auto incompatibilité. Par l'utilisation des gamètes d'un hybride F1, on élimine des générations d'autopollinisations normalement nécessaires pour obtenir des lignées fixées.

Cela permet un raccourcissement de 3 à 4 générations d'autofécondations du blé. De plus, grâce à l'homozygotie des haplodiploïdes, les caractères désirables ne sont pas perdus par ségrégation des loci hétérozygotes dans les générations suivantes. Les caractéristiques et recombinaisons (obtenues après croisement) récessives ne sont exprimées qu'à l'état homozygote. La probabilité d'expression de ces gènes récessifs est deux fois plus élevée avec la méthode des haploïdes doublés qu'avec un croisement entre deux diploïdes. Enfin, en situation mendélienne, pour « n » paires de gènes indépendants, le modèle de ségrégation de la F1 est $(2^n)^2$. Pour les gamètes, ce modèle est de 2^n puisqu'il n'y a qu'un parent. Comme il y a moins de combinaisons possibles, la sélection est alors facilitée.

Des cultivars ont été obtenus par doublements des haploïdes issus de la culture d'anthers de F1. Chez le maïs, le riz ou même le triticales, on a obtenu des haplodiploïdes ayant des caractéristiques de rendement, de résistance aux maladies ou aux stress identiques ou meilleures que celles de diploïdes classiques (Bajaj, 1990). Historiquement, deux cultivars de blé sont importants, puisque pour la première fois l'androgenèse est intégrée dans un schéma de sélection. En 1982, le cultivar « Jinghua no. 1 » fait son apparition en Chine.

Seulement six années ont été nécessaires à sa création, incluant la production de la F1, l'androgenèse sur cette F1, le doublement chromosomique à la colchicine des plantes obtenues et quatre années combinant évaluation, sélection et multiplication (Hu, 1986). En France, le cultivar Florin, inscrit au catalogue par les établissements Desprez, a été obtenu selon le même schéma. Sept années se sont déroulées entre le croisement initial et l'enregistrement final. Le gain de temps a été estimé à 4 ans (De Buyser et al., 1987). Ces schémas de sélection sont valables aussi bien pour des caractères monogéniques que polygéniques, mais seulement si les parents de la F1 sont relativement semblables (Fouroughi-Wehr et Wenzel, 1990).

Quand les parents sont éloignés, comme dans le cas de cultivars primitifs ou d'espèces sauvages, et que l'on cherche à transférer un caractère quantitatif et donc polygénique. La situation est beaucoup plus complexe. Fouroughi-Wehr et Wenzel(1990) ont développé une technique de sélection récurrente, en alternance avec des étapes d'haplodiploïdisation. L'haplodiploïdisation permet une sélection en toute sécurité puisque les gènes sont tous à l'état homozygote. La sélection récurrente garantit le maintien de la variabilité et le retour à un génotype proche du parent récurrent. Le degré de parenté entre les deux parents détermine le nombre de rétro croisements nécessaires.



Chapitre II: Matériel et méthodes

Chapitre II- Matériel et méthodes

II-1 : Matériel végétal

Le choix du matériel végétal est effectué sur un ensemble de géotypes ayant fait l'objet de plusieurs travaux de l'équipe Biotechnologie et amélioration des plantes du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), à chaabt arssas (Université Mentouri Constantine). Les grains des géotypes retenues pour ce travail provient de ITGC Elkhroub-Constantine.

Pour étudier la réponse de germination des grains des différents géotypes utilisés sous des niveaux progressifs de stress salin, sept géotypes de blé dur et une espèce sauvage (*Aegilops*) sont choisis (Tableau 1).

Tableau (1) : Origine des géotypes étudiés

Géotypes		Origine
<i>Triticum durum</i> (Desf)	Oued Zenati ^(a,b,c,d)	Algérie : Guelma 1936
	Bidi 17 ^(a,b,c,d)	Algérie : constantine
	Hedba 03 ^(a,b,c,d)	Algérie
	Djenah-Khetifa ^(a,b,c,d)	Tunisie
	Belikhe 2 ^(a,b,c,d)	Syrie
	Haurani ^(a,b,c,d)	Syrie
	Waha ^(a,b,c,d)	ICARDA .I sélection ITGC Khroub
<i>Aegilops geniculata</i> Roth	<i>Aegilops geniculata</i> ^(a,b)	Algérie
<i>Zea mays</i> L	Guich ^(d)	Maroc
	Elbdia ^(d)	Maroc
<i>Hordeum bulbosum</i> L.	<i>Hordeum bulbosum</i> ^(d)	/

a,b,c,d : les géotypes utilisés dans les quatre expérimentations.

a,b : les géotypes utilisés pour la première et la deuxième expérimentation

d : les géotypes utilisé pour la quatrième expérimentation seulement

I- Première expérimentation : Effet du milieu salin sur la germination des grains de différents génotypes étudiés

I-1- Conduite de l'essai

a- Mise à germination

Les grains sont désinfectés à la solution d'hypochlorite de sodium à 0,5% et rincés plusieurs fois à l'eau distillée, puis la mise en germination dans des boîtes de pétri, chaque boîte est tapissée par trois couches de papier filtre. Les grains choisis sont déposés dans chaque boîte à trois répétitions par génotype et par traitement au sel

b- Stress appliqué et paramètres mesurés

Des solutions salines à base NaCl sont préparées allant de 5 g/l à 18 g/l NaCl avec le témoin (sans sel)(Tableau 2). Nous avons ajouté 10 ml d'eau distillée pour les témoins et 10 ml de solution saline pour chaque concentration. Enfin les boîtes pétri sont déposées à l'obscurité pendant 15 jours à la température ambiante, différents paramètres sont mesurés quotidiennement durant tout le stade de germination (précocité de la germination (en %), le taux de grains germés (en %), le taux de germination après récupération dans l'eau distillée (%), la durée de germination (en jour) réparti entre le premier et le dernier grain germé, la longueur de l'épicotyle, la longueur de la radicule et la vitesse de germination %).

Tableau 2 : La composition de la solution saline

Solution NaCl	T	N1	N2	N3	N4	N5	N6
g/L	0	5	10	15	16	17	18
Meq/l	0	85,47	171	256,41	273,5	290,59	307,69

II- Deuxième expérimentation : Effet de la salinité sur le développement des différents génotypes étudiés

II-1- Matériel végétal

On a utilisé dans cette expérimentation les mêmes génotypes de la première expérimentation

II-2-Conduite de l'essai

a- Préparation du sable :

Le sable est préalablement lavé puis rincé abondamment à l'eau ordinaire pour éliminer les chlorures et les carbonates et ensuite séché à l'air ambiante et mélangé avec le sol. Après la

préparation du sol il faut préalablement mesurer la conductance électrique (Tableau 3) du sol mélangé avec le sable.

Tableau 3 : Quelques propriétés physico - chimiques du sol utilisé dans l'expérience

BICARBONATE MEQ /L	CEC MEQ/L	CE 25°C DS /M	PH	MATIERE ORGANIQUE %	ARGILE%	LIMON%	PROFIL DU SOL
2	0,135	1,38	7,8	2,38	67	20	Argileux lumifère

b- Préparation des grains

Les grains de blé dur et celles de l'espèce *Aegilops* ont été pré germés en boîtes de Pétri à la température ambiante (25 °C environ) et à l'obscurité. Les plantules ainsi obtenues sont repiquées en fin de novembre par 6 plantules dans des pots de 5 kg environ contenant un mélange de sol et de sable (2/3, 1/3 respectivement). Ces pots sont placés ensuite sous serre et irrigués à leur capacité de rétention (0.52 l) chaque deux jours avec de l'eau ordinaire.

II-3- Stress appliqués et paramètres mesurés

Dans cette expérimentation on applique le stress salin par irrigation avec quatre niveaux (0, 5, 10,15 g/l) pendant deux stades différents stade tallage et stade épiaison, des nombreux paramètres sont mesurés , morphologiques (hauteur de la plante cm, taux de croissance %, surface foliaire cm²), physiologiques (teneur relative en eau% , résistance stomatique, accumulation du K⁺ et Na⁺ au niveau des feuilles), biochimiques (dosage des sucres totaux solubles par la méthode Dubois et al.1956, dosage de proline selon Torll et Lindsely,1955).

III- Dispositifs et principes des méthodes de mesure

- 1- La hauteur de la plante (cm) est mesurée par une règle chaque deux jour durant la période de stress.
- 2- La vitesse de germination exprimée en pourcentage (%) par la relation suivante selon Kotowski (1926) :

$$VG (\%) = \frac{N1+N2+N3+\dots+Nn}{N1T1+N2T2+N3T3+\dots+NnTn} \times 100$$

N1 = nombre des grains germés au temps T1

N2 = nombre des grains germés entre T1 et T2

3- Le taux de croissance relatif (TCR) est calculé selon la formule :

$$\text{TCR} = \text{TC}_H \text{ sel} \times 100 / \text{TC}_H \text{ témoin}$$

$$\text{TC}_H = \text{Longueur finale (LF)} - \text{Longueur initiale (LI)}$$

4- La surface foliaire (cm²)

La mesure de la surface foliaire, qui est un indice nécessaire pour la détermination de la croissance est réalisée selon la méthode de Paul et al., (1979). Cette méthode consiste à reproduire la surface d'une feuille sur du papier (dans notre cas la feuille est à été photocopié). Ainsi, la surface de la feuille est estimée à partir du poids de la feuille en papier par rapport au poids d'une surface de 1 cm² du même papier. Après reproduction des feuilles. Les mesures sont effectuées chaque semaine pendant la période de stress.

5- La teneur relative (TRE %)

La teneur relative en eau est déterminée par le pourcentage d'eau présenté dans les feuilles excisées avec la mesure de leur poids avant (poids frais) et après trempage dans l'eau distillée pendant 48 heures à l'obscurité (poids de turgescence), de même elles seront pesées après les avoir mises dans une étuve (90°C) pendant une durée de 48 heures (poids sec). La TRE est ainsi calculée par la formule suivante :

$$\text{TRE} = (\text{PF} - \text{PS}) / (\text{PT} - \text{PS}) \times 100 \quad \text{selon Ladigues (1975)}$$

TRE = Teneur relative en eau, PF= poids frais, PS= poids sec,
PT= poids de turgescence

6- Mesure de conductance électrique du sol

La détermination de la salinité de sol est fondée sur le principe de l'extraction d'un électrolyte dont on mesure la concentration en éléments dissous par diverses méthodes (résidus sec, bilan ionique). La physico-chimie des solutions d'électrolytes fournit les éléments nécessaires au calcul de la conductivité électrique d'une solution à partir de sa composition chimique, on considère notamment la conductivité molaire équivalente des ions (Robinson et Stokes, 1970).

Cependant cette approche nécessite une analyse chimique complète de la solution ainsi que de nombreux calculs. On préfère mesurer directement la capacité d'électrolytes à conduire le courant électrique, propriété qui d'autant mieux exprimée que la concentration ionique de l'électrolyte et plus élevée la mesure de conductivité électrique est aisée et s'effectue grâce à une cellule de mesure que l'on plonge directement dans l'électrolyte (photo 2). Un étalonnage préalable est nécessaire et la mesure est rapportée à une température standard en générale 25°C.

6-1-L'extraction de l'électrolyte

Au laboratoire, l'électrolyte est extrait sous vide (par l'utilisation d'une pompe) à partir d'un échantillon de sol préalablement séché à l'aire, tamisé à 2mm et porté à une teneur d'eau donnée (1 :1) ou (1 sol / 5 eau) ou même l'utilisation de pâte saturée, dans cette étude on utilise la proportion (1 sol : 1 eau) puisque c'est la technique banale quand l'échantillon de sol est limité.

6-2-Mesure de la conductivité électrique du sol

Avant la lecture de la conductivité électrique de l'extrait il faut préalablement confirmer la précision de l'appareil, par l'utilisation de KCl (0,01N) qui donne une conductivité de 1,413 dS/m à température de 25°C. Puis on prend la lecture par en plongeant la cellule de l'appareil dans l'extrait, la lecture s'effectue à une température de 25°C, l'unité de mesure est deci- siemens par mètre (dS /m).

7-La chlorophylle totale (Unité SPAD)

La chlorophylle totale est mesurée par un SPAD, le lecteur SPAD est un chlorophyllemètre qui fonctionne par transmittance. Il évalue la transmission de la lumière émise d'un *Light Emitting Diode* (LED) (ou DEL pour diode électroluminescente) au travers de la feuille. Les longueurs d'onde utilisées sont 650 et 940 nm, soit dans le rouge et l'infrarouge (Minolta Co. Ltd 1989). L'appareil a la forme d'une pince qui tient dans la main (voir la photo 1). Un côté de la pince émet la lumière alors que l'autre côté soutient un récepteur de 2x3 mm. La lumière transmise au récepteur est convertie en signaux électriques analogiques puis en valeurs numériques. Il suffit de fermer la pince vide sur elle-même pour étalonner l'instrument. Par la suite, une feuille introduite dans la pince donnera une valeur de transmission régie par sa teneur en chlorophylle.



(a)



(b)



(c)

Photo (1) : Les différents appareils utilisés dans cette étude à gauche la conductivité mètre (a), à droite chlorophylle mètre (SPAD) (b) ; en bas poromètre (c)

8- La résistance stomatique ($S \text{ m}^2 / \text{mol}$)

La résistance stomatique qui traduit le degré d'ouverture des stomates, est mesurée par la méthode porométrique à diffusion de vapeur d'eau, plus sa valeur est élevée plus ils sont fermés. L'étalonnage de l'appareil, type AP4 (photo 1) est réalisé dans le lieu de développement des plantes et les mesures sont faites sur la partie médiane et seulement la face supérieure de la feuille (Beaumot, 1995).

9- Dosage de sodium (Na^+) et potassium (K^+) (% de matière sèche)

Au stade 4^{ème}, 5^{ème} feuille, un gramme de matière sèche (après séchage à l'étuve 80 C° pendant 48 heures) a été broyé et incinéré à 450°C pendant 4 heures. Après refroidissement, la cendre obtenue a été dissoute dans 5 ml d'HCl (2N), chauffée pendant 10 min puis filtrée et le volume est amené à 100 ml. A partir de cette solution, les dosages de Na^+ et K^+ sont effectués par photométrie de flamme les valeurs obtenues sont converties en teneur de Na^+ et K^+ à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 3).

10- Dosage de proline (mg/g de matière sèche)

La méthode utilisée pour doser la proline est celle de (Troll et Lindsley, 1955) modifiée par (Dreier et Goring, 1974) et ensuite par (Monneveux et Nemmar, 1983).

Elle consiste à prendre 100 mg du matériel végétal (feuilles), puis ajouter 2 ml de méthanol à 40 %le tout est chauffé à 85°C dans un bain - marie pendant 60mn. Après refroidissement, on prélève 1ml d'extrait auquel il faut ajouter :

- 1ml d'acide acétique (CH_3COOH)
- 25mg de ninhydrine ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$)
- 1 ml de mélange contenant :
 - 120 ml d'eau distillée
 - 300ml d'acide acétique
 - 80 ml d'acide orthophosphorique (H_3PO_4)

Le mélange est porté à ébullition durant 30mn, la solution vire au rouge, après refroidissement, 5ml de toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée, deux phase se séparent (une phase supérieure et d'autre inférieure).

Après avoir éliminer la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée et déshydratée par l'ajoute d'une spatule de sulfate de sodium Na_2SO_4 anhydre.

On détermine la densité optique à 528nm. Les valeurs obtenues sont converties en teneur de proline à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 1).

11- Dosage des sucres totaux solubles (mg/g de matière sèche)

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leur dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode de (Dubois et al. 1956).

Elle consiste à prendre 100mg de matériel végétal (feuilles) dans des tubes à essai, on ajoute 3ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres, à température ambiante pendant 48 heures. Au moment de dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool.

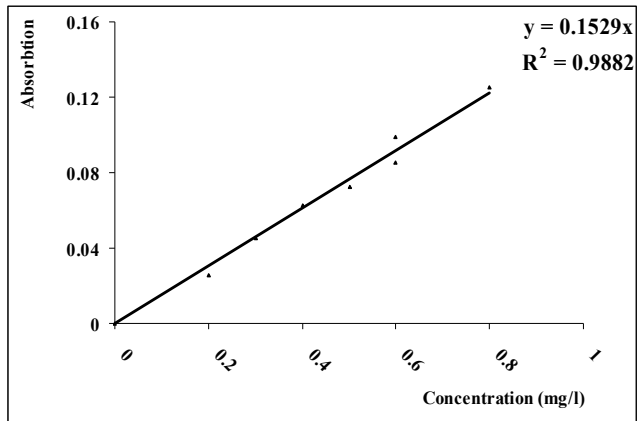


Figure (1) : La courbe d'étalonnage pour calculer la teneur en proline (mg/g de matière sèche)

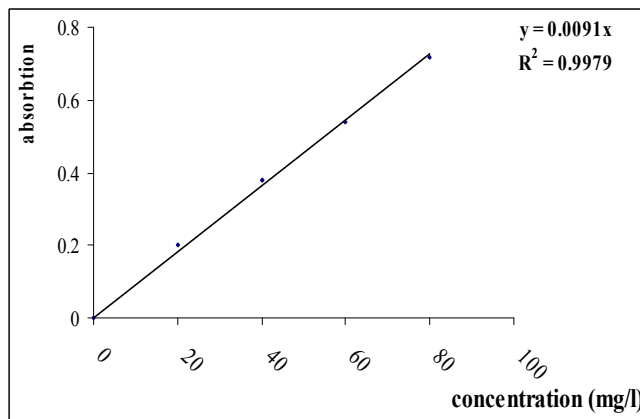


Figure (2) : La courbe d'étalonnage pour calculer la teneur en sucres totaux solubles (mg/g de matière sèche)

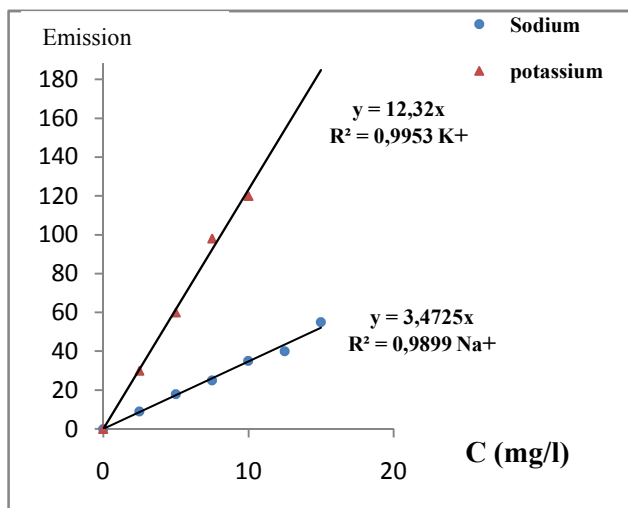


Figure (3) : La courbe d'étalonnage pour calculer la teneur en Na^+ et K^+ (% de matière sèche)

Dans des tubes en verre propres, on met 2ml de la solution à analyser, on ajoute 1ml de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique concentré 96% tout en évitant de verser de l'acide contre les tubes.

On obtient une solution jaune orange à la surface, puis à l'aide d'un vortex la solution est agitée pour homogénéiser la couleur, puis placée au bain marie pour 10 à 20mn à température de 30°C.

La teneur est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 2).

IV- Troisième expérimentation : La réponse cellulaire du blé dur à la salinité

IV-1- Matériel végétal

On a utilisé dans cette expérimentation des grains matures de sept variétés de blé dur qui sont indiquées dans le tableau (1).

IV-2 - Dispositif expérimental et conduite de l'essai

IV-2-1- Désinfection des caryopses matures

Les caryopses sont plongés dans l'éthanol à 70 % en agitant fortement afin de dissoudre les substances cireuses pouvant imprégner leur tégument, ils sont ensuite débarrassés de l'éthanol par lavage à l'eau distillée stérile.

Les caryopses égouttés sont immergés dans une solution d'eau de javel commerciale à 12° diluée deux fois pendant 20 minutes sous une hotte à flux laminaire, en agitant fortement, suivi de 5 rinçages successifs à l'eau distillée stérile.

Après avoir subi l'action de l'hypochlorite, les grains sont transportés au moyen d'une pince stérile, dans des boîtes de pétri stériles contenant du papier filtre imbibé d'eau distillée stérile.

Les boîtes sont ensuite placées à l'obscurité à une température ambiante de 25°C environ, afin de provoquer le gonflement de caryopses.

IV-2-2-Préparation d'un milieu de culture

Les embryons zygotiques ont été cultivés sur une multitude de milieux comme le milieu B5 (Gammborg et al., 1968) et LS (Linsmaier et Skoog., 1965) ce dernier est fréquemment utilisé pour la culture d'embryons matures du maïs et du blé, mais le milieu MS (Murashige et Skoog., 1962) est de loin le plus utilisé lorsqu'il s'agit de callogénèse. Nous avons ainsi adopté le milieu de Murashige et Skoog (1962) de façon à assurer la survie et la croissance des embryons matures.

Un milieu de culture est constitué principalement d'eau, de sels minéraux (macroéléments, micro-éléments, fer), d'éléments organiques (vitamines, sucre, parfois des acides aminés etc.) de

phytohormones ou de régulateur de croissance. Cette solution aqueuse est souvent solidifiée au moyen d'agar (substance extraite des algues marine que l'on appelle agar-agar ou gélose. La gélose est facilement dissoute à 100°C, on doit donc atteindre le point d'ébullition afin de l'incorporer au milieu de manière uniforme, c'est pourquoi l'on parle de la « cuisson » des milieux.

Certains composés comme les micro-éléments ou oligoéléments (B, Mn, Cu, Ni, Co, Mo, Al, Fe), certaines vitamines et régulateurs de croissance sont requis en des petites quantités qu'il est impossible de les peser. On doit donc les concentrer préalablement sous formes des solutions -mère. Par la suite, on pourra puiser à même ces solutions -mères la quantité requise d'agent actif pour chacune des formulations de milieu recommandé.

Comme il peut être long et fastidieux de peser des solutions où tous les ingrédients sont incorporés.

IV-2-2-1- Préparation du milieu MS pour un volume de 1000 ml

- Verser approximativement les deux tiers de la quantité d'eau requise (soit environ 600 ml) dans un bécher de 2 litre. L'eau utilisée doit avoir été distillée.
- Un à la fois, les composés (mis à part le sucre et l'agar) sont ajoutés à l'eau dans l'ordre prévu sur l'annexe (III) (macro, micro, fer, vitamine, régulateurs). Ne pas chauffer.
- Ajuster le pH du milieu avec NaOH ou du HCl tout en agitant la solution à 5.7
- Compléter le volume de la solution à 1000 ml à l'aide d'un ballon volumétrique. La solution doit être à la température ambiante.
- Verser à nouveau le milieu dans le bécher de 2 litre recouvert d'un papier aluminium
- Le déposer sur une plaque chauffante : chauffer et agiter.
- Ajouter graduellement le sucre, attendre qu'il soit complètement dissout.
- Ajouter l'acide 2,4 dichlorophénoxyacétique (2-4D 3.5 mg/l régulateur de croissance) qui est déjà dissoudre dans l'éthanol puis diluer progressivement avec de l'eau.
- Ajouter graduellement l'agar en neige fine en prenant soin de ne pas saupoudrer les parois internes du bécher. Continuer de chauffer la solution jusqu'à ébullition et dissolution de toutes les particules d'agar. L'agar est complètement dissout lorsque la solution redevient claire.
- Transférer le milieu chaud dans des tubes à essai puis les boucher par un coton stérile et recouvrir par un papier aluminium.
- Stériliser les contenants à l'autoclave (121°C, 30 minutes)

- Garder le milieu au réfrigérateur (la température est varier entre 4°C et 5°C) jusqu' à son utilisation.

IV-2-2-2-La stérilisation

L'asepsie constitue un élément très important qui conditionne la réussite de la culture d'embryons, car certaines irrégularités des résultats, concernant notamment la surie, semblaient dues à des différences dans les conditions de stérilisation (Monnier., 1971) cette importance a suscité la prise en considération d'un certain nombre de mesures.

a -Stérilisation à pression du milieu

La stérilisation du milieu de culture, est assurée par l'autoclave à une température de 120°C et une pression de 15 psi pendant 20 minutes. La technique de culture in vitro exige cette température de stérilisation ou plus pendant 15 à 20 minutes, afin de s'assurer de la destruction des bactéries endosporulantes. La présence d'une seule bactérie dans un tube à culture donnera naissance au moins d'une ou deux semaines à une colonie de bactéries visible à l'œil nu.

La durée de stérilisation est très importante et doit varier en fonction du volume des milieux de culture contenus dans les récipients.

Dans le cas des tubes renfermant de 10 à 20 ml de solution nutritive, on peut se contenter d'une durée de 15 minutes. Par contre, des ballons ou des erlenmeyrs contenant 3 à 4 litres doivent séjourner à l'autoclave pendant 40 minutes et même pendant une heure s'il s'agit de milieux gélosés car ceux-ci ne s'échauffent que lentement.

b- Stérilisation de la hotte

La hotte à flux laminaire doit être préparée de préférence 30 minutes avant son utilisation. Avant chaque manipulation, la hotte doit être nettoyée avec l'eau de javel (12°) puis on vaporiser à l'alcool (70%) de l'intérieur des parois verticales (à l'exclusion du filtre) et la surface de travail ainsi que tout le matériel de travail et les instruments nécessaires.

La stérilisation est complète en lavant les autres paillasses, sol...etc., on allume par la suite le bec bunsen et la hotte pendant 30 minutes avant manipulation.

c- Stérilisation des instruments

Tous les instruments métalliques (pince, pointe, bistouri) ou verreries (Becher, boîte de pétri) sont enrobés avec du papier aluminium, et sont mis à l'étuve pour une stérilisation à sec à une température de 170 °C pendant deux heures du temps avant chaque manipulation. On évite ainsi le contact des instruments avec l'humidité lors de l'utilisation de l'autoclave, car durant la stérilisation sous pression, une portion de l'eau dans l'autoclave est vaporisée, ce qui implique l'oxydation des instruments métalliques.

d- Stérilisation à l'alcool

Au cours des manipulations, les instruments sont plongés dans l'alcool, le passage à la flamme ne sert qu'à éliminer l'alcool (on garde l'instrument stérilisé toujours dans la boule stérile).

IV-2-3-Condition de travail

Les techniques de culture in vitro, sont assez proche des techniques chirurgicales, elles exigent, comme celle-ci beaucoup de soin dans le maintien des conditions d'asepsie car la présence d'une seule bactérie ou champignon suffit à envahir un milieu de culture c'est pourquoi il vaut mieux respecter le maximum de règles nécessaire de veiller à ce que tous les instruments stérilisés soient déposés dans la sphère stérile, de façon à avoir le moindre geste à faire au cours des manipulations et dans l'air stérile.

Les mains seront frottées souvent à l'alcool (70 %), tout au moins systématiquement après qu'elles aient été en contact avec du matériel non stérile même sous la hotte à flux laminaire (Boulay., 1993)

Généralement le travail se fait près du bec bunsen, afin d'assurer une atmosphère stérile.

IV-2-3-1- Préparation des échantillons

a- Dissection des grains matures

Les grains matures stériles et gonflés sont subis à la dissection sous la hotte à flux laminaire et sous une loupe binoculaire nettoyée à l'alcool à 70 % et après séchage elle est placée près du bec de bunsen.

L'incision est réalisée au niveau de la face dorsale du côté opposé à la brosse à l'aide d'une pince et d'un bistouri stérile, le capuchon du tube doit être maintenu de façon à ne pas le poser sur la paillasse.

L'incision fait ressortir les constituants de l'albumen (amidon), l'embryon se trouve nettement (par ce que c'est un embryon mature), il est tout de suite récupéré à l'aide d'une autre pince stérile et déposé sur le milieu de culture approprié de façon à ne pas endommager.

Les tubes à essai contenant les embryons matures sont placés dans une chambre de culture et maintenues à une température de 25°C environ avec une photopériode de 16 heures.

b- Repiquage des cultures

b-1 : Premier repiquage

Le premier repiquage a pour but d'éliminer les embryons n'ayant pas induit de cals et ne garder ainsi que ceux qui ont développés des cals.

La conduite des manipulations doit toujours être guidée par le souci de ne pas transporter dans les milieux neufs les germes qui peuvent contaminer certaines parties ou la totalité de cal, il est donc nécessaire de respecter toutes les conditions de stérilisations décrites précédemment.

Durant la phase d'induction les plumules allongées profitent mieux des composantes du milieu et inhibent la croissance des cales, ces inhibiteurs sont supprimés durant le premier transfert pour que les cals reprennent leur croissance avec une bonne activité.

b-2 : Deuxième repiquage :

On procède le repiquage sur un milieu frais, afin d'éviter les nécrose dues à l'épuisement des substances nutritive contenues dans le milieu, et aussi pour entretenir la prolifération de masse cellulaire, il suffit de transférer les embryons produisant des cals.

Chaque transfère dure un mois, en totalité les cals ont été initiés à partir des embryons matures et cultivés pendant deux mois sur le milieu MS avant d'être soumise au stress salin pendant un mois.

b-3- Troisième repiquage :

Les cals développés sont transférés dans des milieux de cultures MS contenant des différentes concentrations de NaCl (0, 5, 10, 15, 20 g/l) durant 30 jours les cals sont disposés de part et d'autre à raison de deux cals par boîte de pétri afin d'éviter tout risque de contamination.

A l'issue de cette période de stress, une partie du matériel a été transférée sur un milieu dépourvu de NaCl et la culture a été poursuivie pendant 30 jours.

b-4- Les paramètres mesurés

A la fin de chaque période (stress ou récupération), les poids frais(PF) des cals, et ainsi que leurs poids sec (PS) ont été enregistrés. La teneur en eau des tissus a été calculé à l'aide de la formule $(PF-PS)/PS$. Le suc tissulaire des cals a été récolté après un cycle de congélation/décongélation et centrifugation ; ses teneurs en proline (Troll et Lindsley,1955) et en sucres solubles (Dubois et al., 1956) ont été estimés.. Les expériences ont été répétées 3 fois avec des résultats similaires. Pour chaque période (stress ou récupération) et pour chaque type de variété un minimum de 3 répétitions a était réalisé.

On a estimé dans cette expérimentation les mêmes paramètres au niveau foliaire (les plantes stressées sous serre), pour faire une comparaison entre le comportement cellulaire et celui au niveau de plante entière chez les différentes variétés de blé dur.

V- Quatrième expérimentation : L'haplodiploïdisation chez le blé dur (*Triticum durum* Desf

V-1- Matériel végétal

On a utilisé dans cette partie d'étude les sept variétés de blé dur plus deux variétés de maïs et une espèce sauvage d'orge (Tableau 1).

V-2- Méthodes

V-2-1- Installation de l'essai

Les grains ont été stérilisés pour éviter toute contamination fongique ou bactérienne qui empêcherait une bonne germination. La stérilisation durait 25 minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium diluée à laquelle étaient ajoutées quelques gouttes de savon liquide pour un meilleur contact avec le grain. Elle était suivie de trois rinçages de 5 minutes chacun à l'eau distillée. Les grains étaient ensuite placés sur un papier filtre humide dans une boîte de pétri. La prégermination se déroulait à température ambiante (environ 25°C) et à l'obscurité.



Photo (2) : Les deux pollinisateurs de blé dur à gauche ; maïs, à droite ; l'orge sauvage



Photo (3) : La méthode de castration des épis de blé dur

Les plantules de blé dur ainsi obtenues sont repiquées en trois date de semis par 5 dans des pots de 5 kg environ contenant un mélange de sol et de sable (2/3 :1/3 v/v). Ces pots sont placés ensuite sous serre et irrigués à leur capacité de rétention (0.52 l) chaque trois jours avec de l'eau ordinaire. Les grains de maïs après désinfection comme les grains de blés sont prégermés devant un chauffage car le maïs est une culture de printemps donc nécessite la température pour la germination.

L'expérimentation de cette partie se déroule durant trois ans successifs, durant l'année 2004-2005 on a fait le croisement entre le blé dur et l'orge sauvage (Photo2) on a utilisée trois dates de semis afin que les stades de floraison puissent synchroniser plus quatre répétitions de chaque variété. L'expérimentation de l'année précédente est répétée une autre fois pour l'année 2005-2006

L'année 2006-2007 nous avons fait le croisement entre le blé dur et deux variétés différentes de maïs (photo 2) avec aussi trois dates de semis pour le blé et le maïs, quatre répétitions de chaque variété.

L'année 2007-2008 nous avons suivi la croissance et le développement des plantes haploïdes trouvées.

Un traitement phytosanitaire a été appliqué contre les pucerons avec du carbamate à raison de 1 ml par litre d'eau.

V-2-2- La castration des épis de blé dur

La réalisation d'un croisement nécessite la synchronisation des floraisons des deux parents, ce qui est dans la nature n'est généralement pas le cas.

La préparation des épis femelle est classique, après avoir enlevé la fleur centrale des épillets, les glumes sont raccourcies pour faciliter l'extraction des trois étamines de chaque fleur sans faire endommager le stigmate (voir photo 3). Les deux épillets basale ainsi que le derniers sont enlevés, afin d'être sûr qu'ils ne seraient pas autofécondés.

Pou éviter les autofécondations indésirables, chaque fleur de l'épi de blé est préalablement castrée avant la déhiscence des anthères, ainsi la castration est réalisée avant le dégagement total de l'épi de la gaine.

Après la castration chaque épi est couvert seul par un sachet en papier dont l'extrémité inférieur est fermée à laide d'une épingle pour assurer le maintien du maximum d'humidité et éviter la pollinisation accidentelle.

V-2-3- La pollinisation

Les épis de blé sont pollinisés de 1 à 7 jours après l'émasculature, selon les conditions climatiques qui affectent directement la disponibilité du pollen. Selon Jensen (1977) la période

idéale de la pollinisation est deux jours après l'émasculature, mais elle dépend de certains facteurs du milieu et du génotype qui peuvent largement affecter le taux de réussite.

1 à 4 jours avant l'anthèse, les épis sont castrés et ensachés (photo 3) quand l'ovaire est gonflé les stigmates sont plumeux, du pollen fraîchement collecté de maïs ou d'orge sauvage (photo 4_a) est soigneusement déposé à l'aide d'un pinceau (photo 4_b).

V-2-4-Traitement hormonal des épis pollinisés

Le traitement des épis par les régulateurs de croissance avant et après la pollinisation du blé, permet de surmonter les barrières d'incompatibilité interspécifique et intergénérique. Les traitements par l'acide gibbérellique (GA3) (Larter et Chaubey, 1965) et 2-4 D (acide 2-4 dichlorophénoxyacétique) (Kruse, 1974) ont été appliquées pour réaliser une bonne régénération des embryons intergénériques. Selon Pickering (1992) les fleurs non traitées par les hormones tendent à dégénérer beaucoup plus rapidement que celles traitées.

Dans la présente étude, 24 heures au plus tard, une solution de 2,4 dichlorophénoxyacétique (2,4 D à 100 mg/l) est injectée dans le dernier entre-nœud et une goutte de la même solution est déposée sur chaque fleur puis 48 heures après la pollinisation, une pulvérisation par l'acide gibbérellique (75 mg/l) est réalisée sur les épis. 10 à 20 jours après la pollinisation, les ovaires formés sont stérilisés dans l'hypochlorite de sodium (3%), avant l'excision des embryons et leur culture aseptique sur le milieu B5 additionné d'AIA (1mg/l), de Kinitine (0.25 mg/l) et de saccharose (2%). Les boîtes de pétri sont maintenues dans l'obscurité jusqu'à la germination des embryons qui sont ensuite transférés dans des tubes à essais sur le même milieu. Après un développement suffisant, les plantules sont transférées en sol stérile dans des pots maintenus dans la salle de culture.

V-2-5- Le sauvetage des embryons

V-2-5-1-Prélèvement de caryopse

Le stade optimum de prélèvement des caryopses pour la culture d'embryon varie selon les conditions de culture et le génotype. Il est nécessaire de prélever les caryopses avant leur dessèchement. Cependant la variation considérable du stade optimum du prélèvement est due principalement selon Jensen (1977) aux :

- Différence de la nutrition des embryons et des fruits de l'épi.
- Position du caryopse sur l'épi en relation avec la distance de la source lumière.
- Différences génotypiques du développement du caryopse et des embryons

Cependant, plusieurs auteurs ont signalé que les embryons qui restent trop longtemps dans les grains s'infectent facilement et les caryopses qui se dessèchent trop deviennent difficiles à inciser.

Deux procédures sont utilisées pour le croisement entre blé dur maïs, l'une nécessite la présence des épis sur les plantes mères (in situ) pendant 10 à 20 jours après la pollinisation, l'autre est basée sur l'utilisation des épis qui sont coupés après 1- 5 jours de pollinisation et sont maintenus dans une solution de 2-4 D (100mg/l), saccharose (40g/l) et éthanol (10ml/l) dans une chambre de culture (photopériode 16h, l'humidité 80%, la température 20°C).

Le prélèvement des caryopses pour le croisement blé × orge sauvage dans cette expérimentation est réalisé entre le 10^{ème} et le 20^{ème} jours après la pollinisation.



Photo (4) : La collection des grains de pollen de maïs



Photo (5) : La pollinisation des épis castrés de blé dur par les grains de pollen de maïs

V-2-5-2- Prélèvement d'embryons

La mise en culture des embryons doit être faite en condition aseptique. La dissection du caryopse est faite sous une loupe binoculaire nettoyée à l'alcool éthylique et après son dessèchement elle est placée devant une flamme mise sous une hotte à flux laminaire stérile.

Les caryopses sont déposés dans un couvercle stérile d'une boîte pétri, à l'aide d'une pince et un scalpel stérile, une légère incision du tégument est réalisée sur la face dorsale du caryopse, elle fait ressortir les constituants liquides du caryopse. L'embryon se trouve suspendu dans ce liquide, il est prélevé à l'aide du scalpel et déposé sur sa face ventrale sur la surface d'un milieu de culture gélosé et coulé dans des boîtes pétri stériles (photo 5). Il est important de ne pas endommager les embryons et de les placer correctement de sorte qu'ils soient au contact avec le milieu par leur scutellum (Norstog, 1965).

Les embryons sont disposés à raison de 3 par boîte afin de minimiser les pertes dues aux infections, les boîtes sont ensuite scellées avec du parafilm et placées dans une chambre de culture à l'obscurité et à température de 25 °C jusqu'à la germination des embryons qui sont ensuite transférés dans des tubes en verre de 75mm de longueur et de 25 mm de diamètre contenant le même milieu de culture

V-3- Milieu de culture

L'aspect le plus important de la culture d'embryons est le choix du milieu de culture qui assure un bon développement des embryons. Le milieu de culture utilisé dans cette expérimentation est le milieu B5 solidifié, additionné de (Kinétine) et de (AIB) (Acide Indole Butyrique) les différents constituants du milieu B5 sont présentés dans (Annexe IV).

V-3-1- La stérilisation

La culture in vitro nécessite l'emploi de conditions aseptique pour ne pas gêner le développement des embryons par la présence des micro-organismes. 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, les différentes procédures de stérilisation sont mentionnées dans la troisième expérimentation.

V-4- Le développement des embryons

Les boîtes pétri contenant les embryons ont été placées dans une chambre de culture à l'obscurité et à 25°C jusqu'à la germination de l'embryon (photo6), avec l'apparition des racines et de coléoptile (Pickering ; 1992).

Par contre, d'autres auteurs ont démontrés que la lumière peut stimuler une germination précoce chez les embryons bien différenciés (Jensen, 1977), mais en générale, le début de croissance nécessite une faible intensité lumineuse (200 à 1000 lux) et une photopériode de 12 à 16 heures.

Cependant, la durée de germination des embryons varie entre 15 jours à 30 jours, selon le volume de l'embryon et son stade de différenciation, ainsi que les conditions physiques de l'environnement, notamment la température, et aussi le milieu de culture spécialement l'équilibre hormonale entre la kinétine et AIB.

Après la germination, les plantules obtenues en boîtes pétri sont repiquées dans des tubes contenant environ 6 ml du milieu B5 avec les mêmes concentrations en AIB et Kinétine (1mg/l et 0.25mg/l respectivement). Ces tubes sont placés dans une chambre de culture à 25C° avec une photopériode de 16 heures / jour.

V-5 -Le transfert des plantules en sol

Au bout d'environ deux semaine à 20 jours après repiquage en tubes ; les plantes vertes atteignant un développement suffisant (photo 7), bon enracinement et extrémités des feuilles atteignant le bouchon du tube (stade 2^{ème} feuille), elles sont repiquées dans des pots individuels (une plante par pot) contenant un mélange stérile de sol et sable, le premier arrosage est assuré par une solution stérile du milieu B5 contienne les macro – éléments ; les micro- éléments et le fer avec des concentration réduites en moitié.

Ces pots sont maintenus dans la chambre de culture à la même température 25°C et en condition de saturation en humidité relative assurée par la mise des pots dans un dessiccateur, contenant de l'eau au dessous du niveau de support qui porte les pots et fermé par son couvercle.

Cette phase d'acclimatation consiste à adapter progressivement les plantules aux conditions qui prévalent à l'extérieur des tubes. Les parties aériennes sont maintenues dans un environnement qui avoisine les 100 % d'humidité relative.

Pour éviter les risques de dessèchement qui sont très élevés ; les pots sont maintenus dans les mêmes conditions jusqu'au développement, de nouvelles feuilles fonctionnelles (Jensen, 1977). Par ailleurs, un bon système racinaire donne pratiquement une bonne adaptation.

La structure haploïde des jeunes plantes est vérifiée par dénombrement chromosomique. Le dénombrement des chromosomes se fait à partir de leur observation dans des cellules en division des méristèmes racinaires.

Le doublement chromosomique a été obtenu par trempage des Plantes (stade 3-4 feuilles) dans une solution de colchicine à 0.1 % pendant 5 heures suivi d'un rinçage à l'eau courante.

V-6- Technique cytogénétique

Selon Jahier et al (1992), le dénombrement chromosomique se déroule en 9 étapes.

1-Prélevement des extrémités racinaires

Le matériel d'étude est constitué de l'extrémité racinaire qui est obtenues à partir des graines germées pour les plantes diploïdes, et à partir des jeunes plantes haploïdes avant leur trempage dans la colchicine pour doubler leur stock chromosomique.

2-Le prétraitement

Les extrémités racinaires de 1 à 2 cm de longueur sont mises dans un agent mitoclassique qui a pour effet de :

- ❖ Bloquer les divisions mitotiques au stade métaphasique
- ❖ Contracter les chromosomes

L'agent utilisé dans notre travail est la colchicine.

3- La fixation

Le fixateur détruit toute la vie cellulaire par une action rapide assurant un blocage de toute évolution des divisions cellulaires avec la conservation de l'intégrité structurale des chromosomes. Le fixateur utilisé est l'acide acétique à 90 % et à température ambiante pendant 30 minutes.

4-Le stockage

Les échantillons sont conservés au réfrigérateur dans l'alcool éthylique à 70° après avoir effectué à deux rinçages dans l'éthanol 95°, 5 minutes chacun. Ce matériel peut être conservé pendant plusieurs mois dans l'éthanol jusqu'à un an à 5°C.

5-La réhydratation

Elle se fait dans l'eau ordinaire à l'aide de 3 rinçages successifs de 5 minutes chacun.

6- L'hydrolyse

L'agent habituel employé pour le ramollissement des tissus est l'acide chlorhydrique (HCl) 1N à 60 °C dans un bain -marie pendant 10 minutes, mais dans notre travail on a utilisé la pectinase et la cellulase à raison de la solidité des cellules racinaires qui sont conservées dans l'éthanol pendant un an. Cette étape est généralement nécessaire pour obtenir un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lame et lamelle.

7- Le rinçage

La phase finale consiste à mettre les racines dans l'eau distillée pendant environ 10 minutes

8-L'écrasement

La zone méristématique hydrolysée, déposée sur une lame dans une goutte de carmin acétique de Belling à 0.5 % et écrasée entre lame et lamelle pour assurer la dissociation des cellules. Cette dissociation est plus difficile si les tissus ont été préalablement stockés dans l'alcool pendant une longue durée comme le cas de notre travail. Il faut éviter un écrasement trop violent car il risque d'y avoir un éclatement des cellules et donc une observation des cellules incomplètes.

9- L'observation des chromosomes

Les cellules en division sont repérées rapidement au microscope photonique à l'aide d'un objectif de faible grossissement ($G = 10$).

L'observation des chromosomes est faite à un grossissement supérieur ($G=40$ ou 100), le plus souvent, les combinaisons (oculaire \times objectif) utilisées donnent les grossissements compris entre 1000 et 1500. Les photographies sont réalisées sur un photomicroscope. Les plaques métaphasiques photographiées sont rigoureusement sélectionnées en fonction de leur bonne dispersion.

VI- Etude statistique

Le programme Minitab (2000) « logiciel d'analyses statistique » a été utilisé pour réaliser toutes les analyses de la variance, la comparaison des moyennes et les corrélations. Pour étudier l'impact du stress salin sur les différents génotypes étudiés et aussi l'effet de différents facteurs qui agissent la réussite de l'haplodiploïdisation.

Chapitre III: *Effet du milieu salin sur la germination
des grains de différents géotypes étudiés*

I- Introduction

La graine est un organe complexe de réserves, qui permet la multiplication de l'espèce et le passage des saisons défavorables. La graine est constituée d'un embryon et de tissus de réserves qui varient beaucoup d'une espèce à l'autre. En ce qui concerne la graine de blé dur autrement appelé caryopse, elle est composée d'ébauche de racines et de feuilles embryonnaires dont le cotylédon.

Lors de la formation d'une graine, le développement de la plante est stoppé car la matière sèche produite est essentiellement destinée à l'élaboration des réserves. Durant la phase de maturation qui suit, la teneur en amidon de la graine augmente progressivement et la teneur en eau diminue considérablement. L'acquisition de la tolérance à la dessiccation, nécessaire après une telle déshydratation, est associée à la synthèse de protéines spécifiques et l'accumulation de saccharose et d'oligosaccharides assurant la protection des structures cellulaires (Côme et Corbineau, 1998). Lorsque la teneur en eau devient très faible, l'activité respiratoire est extrêmement réduite, le métabolisme est ralenti. Cette vie ralentie ou quiescente confère à la graine la faculté de résister pendant de longues périodes à des conditions extrêmes de température, de sécheresse, de radiation. La transition entre la quiescence et la reprise du métabolisme est assurée par la balance hormonale au niveau de l'acide abscissique (ABA) et des gibbérellines (GA) ainsi que par le potentiel hydrique cellulaire.

La germination est une phase physiologique qui correspond à la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase de développement de la plantule. Le processus de germination commence dès que la graine sèche est hydratée. La cinétique de prise d'eau permet de caractériser la germination en trois phases (Phase d'imbibition, phase de germination au sens strict, phase de croissance poste germination) (Bewley, 1997).

Or l'étude du comportement de la céréale au champ est essentielle pour faire face aux défis d'adaptation de la plante aux contraintes abiotiques et à la demande croissante du marché mondial en céréales. La qualité germinative concerne entre autres la capacité du grain à germer plus ou moins rapidement et à résister aux stress environnementaux. La première caractéristique peut avoir une influence directe sur les rendements des cultures par l'augmentation du taux de grain germés lors d'une culture céréalière. La résistance du grain aux stress environnementaux permet de limiter les chutes de rendements induits par des conditions climatiques défavorables pour cette raison on va étudier dans ce chapitre l'effet de la salinité sur la germination de quelques variétés de blé dur et une espèce apparentée au blé l'*Aegilops*.

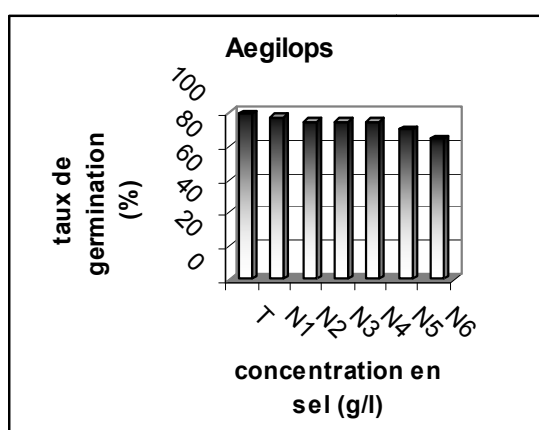
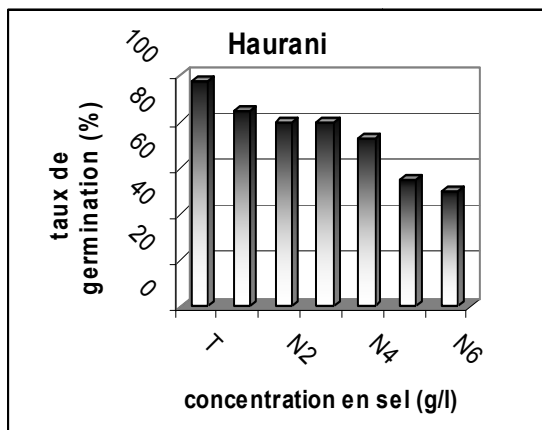
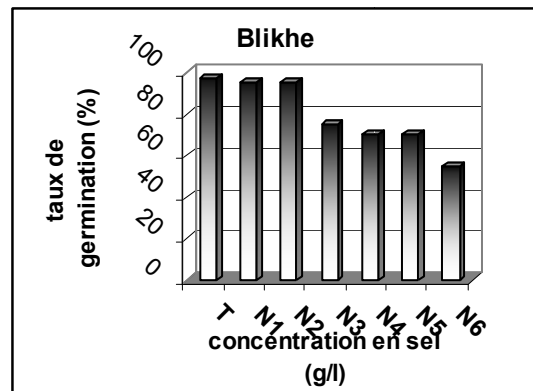
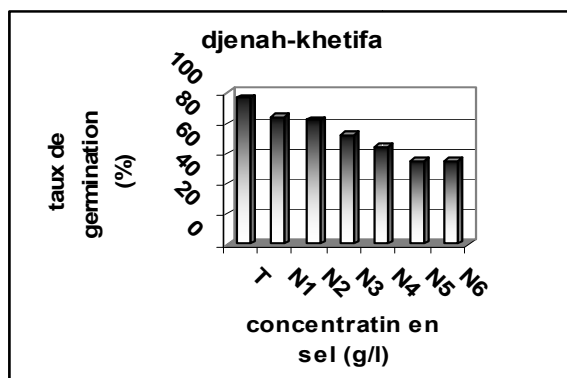
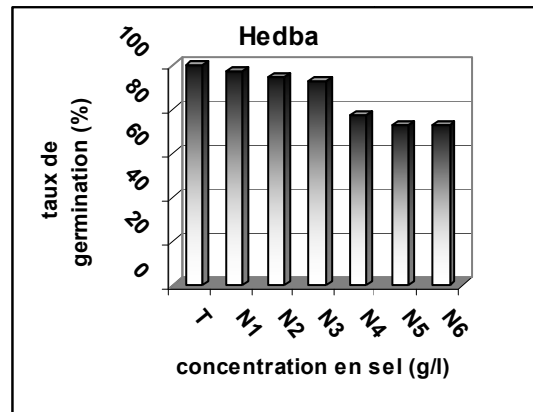
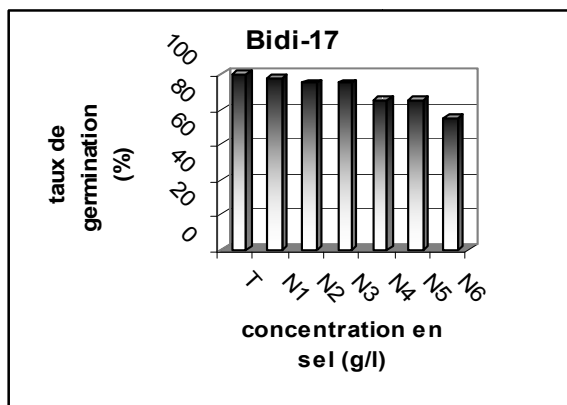
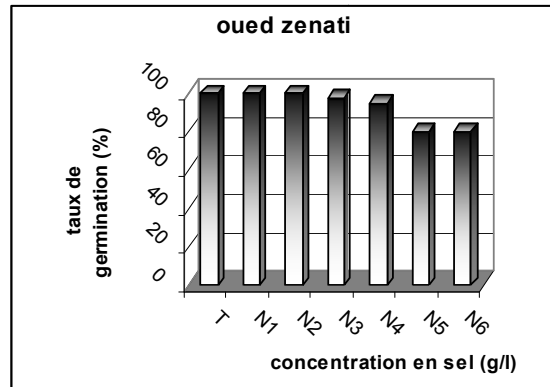
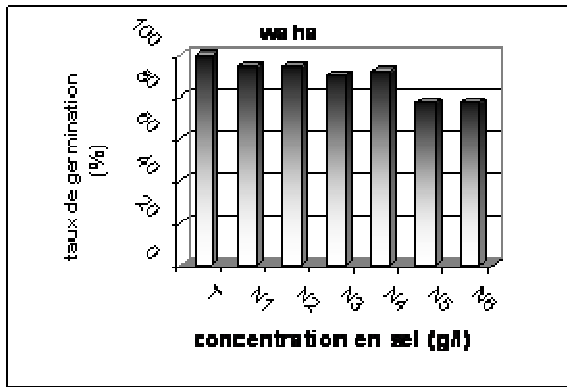


Figure (4) : Taux de germination (en %) des grains de différentes variétés de blé dur et une espèce apparenté (Aegilops)

II-1- Taux de germination

Le taux final de germination est indiqué par la figure (4) pour chaque traitement, les mesures sont obtenues une semaine après les premières germinations. Il faut noter qu'au-delà de cette période, les grains restant dans les boîtes de pétri n'ont manifesté aucun signe de germination pendant toute la durée de l'essai.

L'analyse de variance à deux facteurs (voir annexe III) montre qu'il existe un effet hautement significatif de la salinité sur les différentes variétés de blé dur et aussi sur l'espèce apparentée au blé (*Aegilops*) avec une sensibilité différente d'une variété à l'autre vis-à-vis le stress salin.

Le traitement des grains à l'eau (témoin) induit une forte germination puisque les taux avoisinent 100%, cependant des modifications résultant de l'effet des concentrations de sel, avec une observation générale que le seuil de 50% est atteint pour tous les types des grains et dans toutes les conditions de l'expérience.

Selon l'intervalle de confiance (annexe III), les géotypes étudiés sont classés en trois groupes différents, l'*Aegilops* dans un groupe éloigné des autres groupes puisque celui-ci manifeste un taux de germination élevé dans les concentrations élevées de sel (N4, N5, N6); le deuxième groupe comprend les variétés (Hedba, Oued Zenati, Waha) et présente un taux de germination moyen dans les fortes doses de sel, les autres variétés sont groupées dans le dernier groupe et manifestent un taux de germination faible.

Après la période de stress, les grains non germés dans les différents niveaux de stress salin sont transférés dans un milieu sans sel (eau distillée), puis on détermine le nombre des grains germés dans les nouvelles conditions (figure 5).

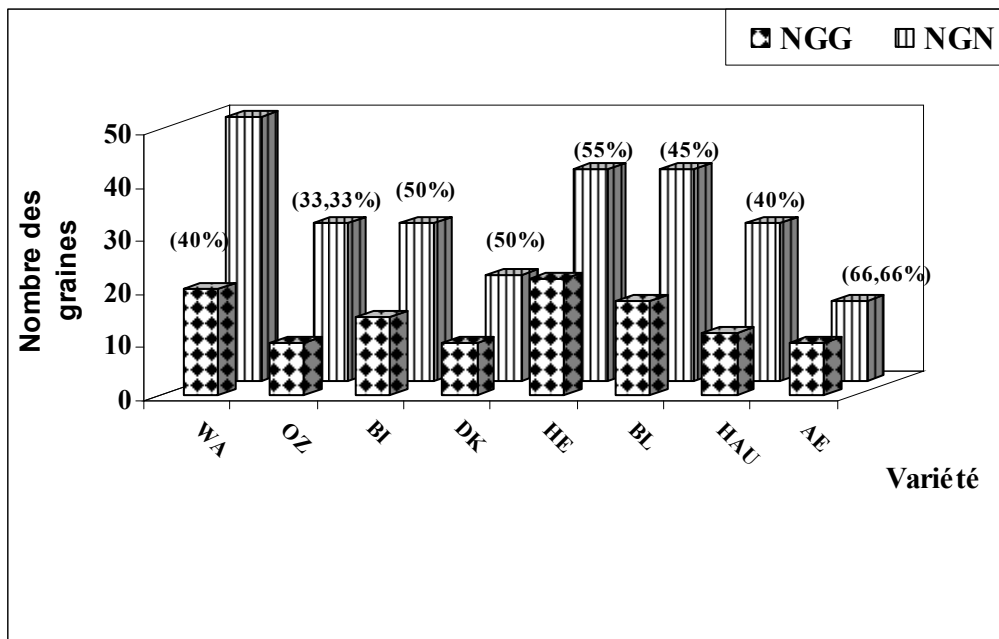


Figure (5) Taux de germination (%) des grains stressés qui sont transférés dans un milieu sans sel pour les différents génotypes étudiés

On a observé selon la figure (5) que quel que soit le génotype étudiés les grains non germés dans les différents niveaux de stress, sont germés dans l'eau distillée avec un taux de germination différent d'un génotype à l'autre, l'espèce Aegilops présente un taux élevée (66.66%), par contre Oeud Zenati présente le taux le plus faible (33.33%).

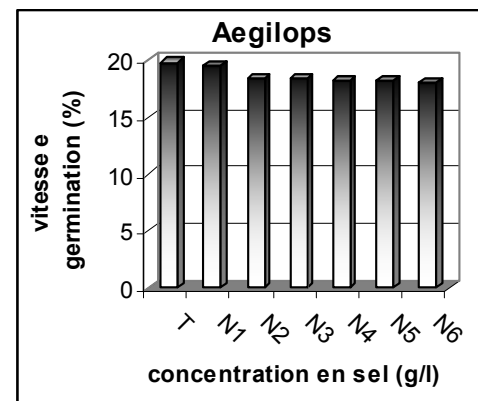
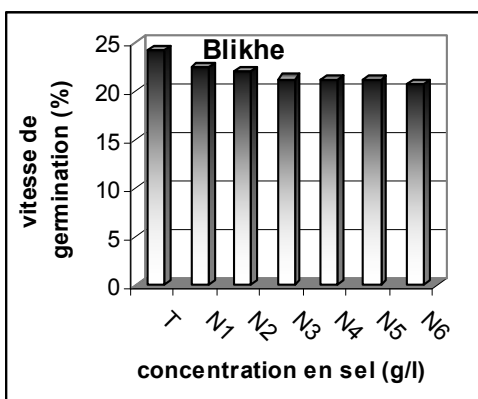
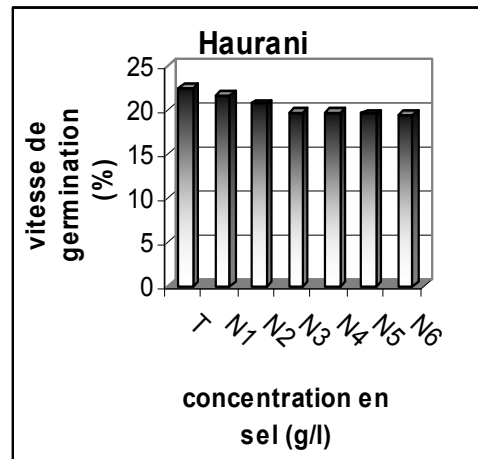
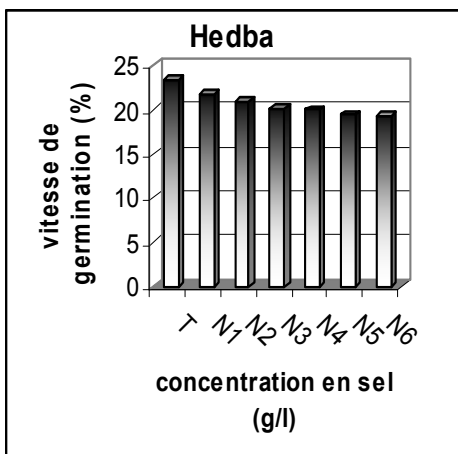
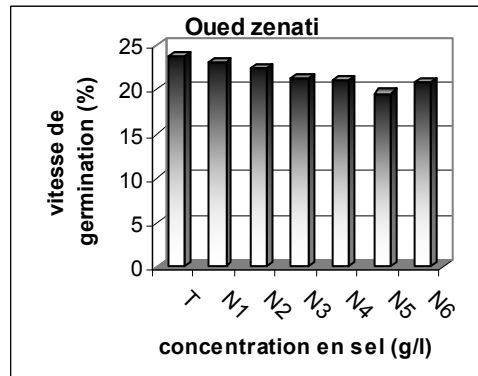
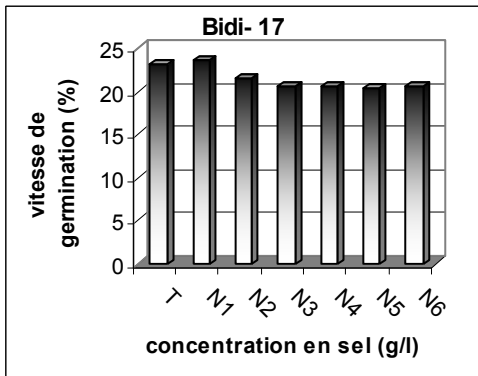
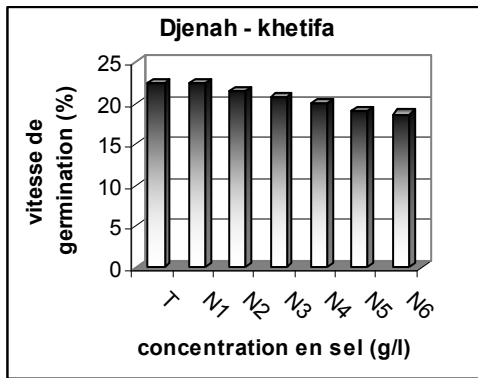
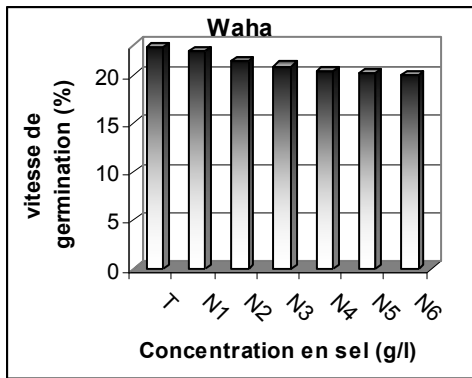


Figure (6) : Vitesse de germination (%) des grains de différents génotypes selon la concentration en sel

La figure (6) montre l'évolution de la vitesse de germination des grains exprimée en pourcentage. Ce paramètre semble varier avec le traitement en particulier à des concentrations élevées.

Dans l'ensemble, les grains séjournant dans l'eau évoluent rapidement quelque soit la variété avec l'observation des différences entre les variétés, selon l'analyse de variance (annexe III), la variété (Blikhe) montre la haute vitesse 24,22 % par contre l'Aegilops présente la baisse vitesse 19,83 %.

L'adjonction de la solution saline à 5g/l (N1) ne modifie pas cette vitesse puisqu'elle évolue avec un rythme voisin à celui du témoin observé pour la plupart de variétés.

À 10 g/l (N2) et 15 g/l (N3), le sel provoque un ralentissement significatif de la vitesse de germination comparé au témoin et ce ralentissement augmente successivement avec l'augmentation de la concentration saline (figure 6).

Selon le tableau de l'intervalle de confiance on a observé un classement des génotypes selon la vitesse globale de la germination, l'Aegilops présente toujours un groupe séparé des autres classements avec une vitesse de germination (18,65 %) par contre les autres variétés de blé dur sont situées entre 20,48 % à 21,95 % donc les taux observés présentent une analogie dans le rythme de germination chez toutes les variétés de blé dur qui sont issues de la même espèce par contre l'Aegilops présente un rythme plus lent.

II-3- La durée de germination

Selon l'analyse de variance (annexe III), la durée de germination est différente d'un génotype étudié à l'autre et au sein du même génotype, des différences sont observées entre les différents niveaux de stress salin.

La figure (7) indique que la durée de germination dans le milieu témoin est la même (2jours) pour la plupart des génotypes à l'exception de la variété Djenah khetifa et l'Aegilops (3jours), elle se poursuit jusqu'au 3^{ème} jour dans le milieu N1 à part les deux variétés Djenah khetif (4jours) et Haurani (5jours), par contre, elle s'étale significativement jusqu'au 7^{ème} jour dans le traitement 18g/l (N6) pour la plupart de variétés à l'exception de la variété Haurani (5 jours) et l'Aegilops (4jours).

La durée de germination enregistrée dans le tableau de l'intervalle de confiance (annexe III) distingue les génotypes Haurani et Aegilops par une régularité de la germination des grains soumis à la salinité. Cette caractéristique ne s'identifie pas chez les grains des autres variétés puisque la durée de germination augmente avec la concentration en sel.

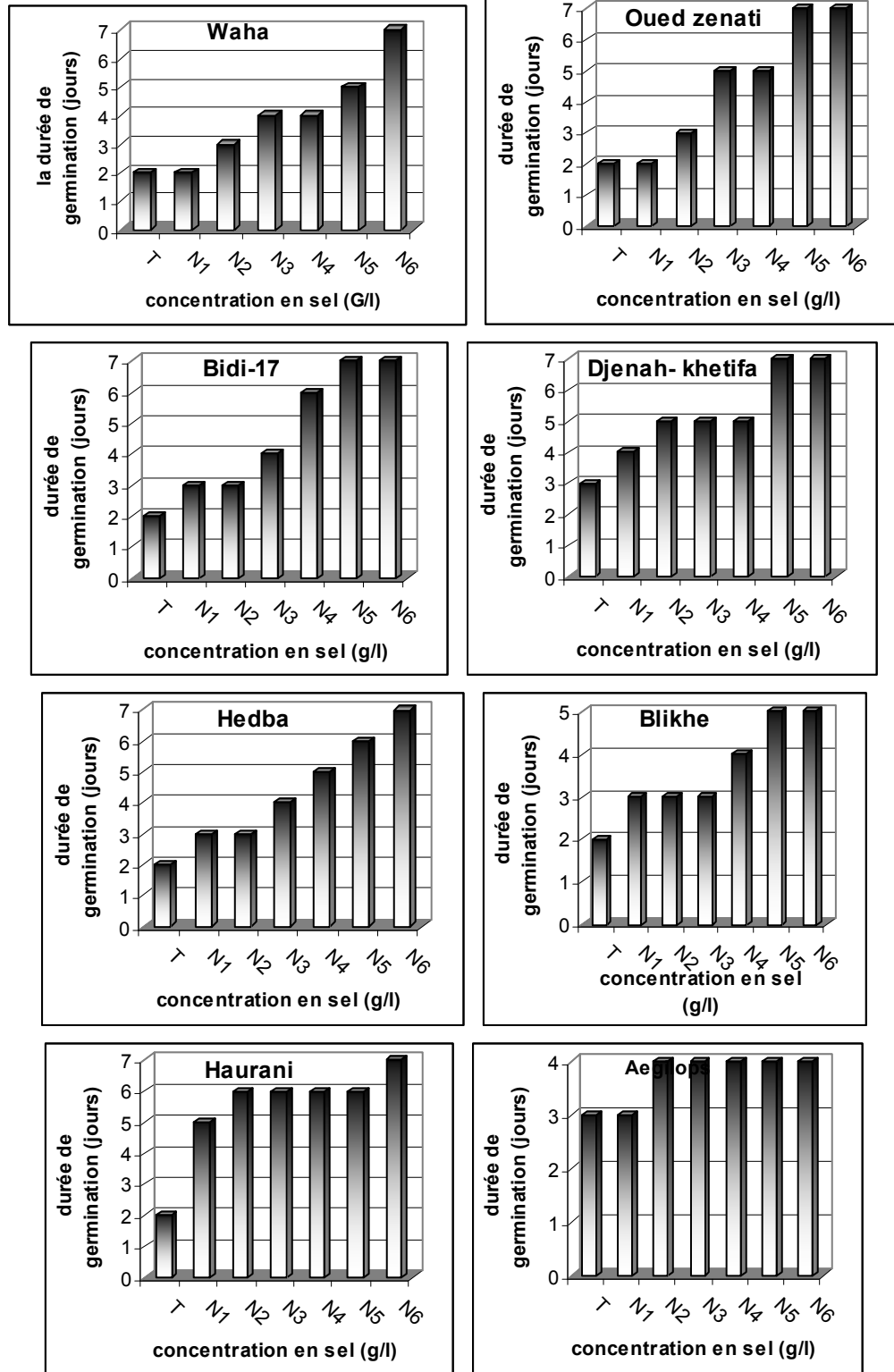


Figure (7) : Effet du stress salin sur la durée de germination (jours) des grains de différents génotypes étudiés

II-4- La longueur de l'épicotyle

Sur le paramètre élongation de la partie aérienne, le stress salin modéré n'affecte pas sérieusement la longueur de l'épicotyle des génotypes testés (Figure 8). Cependant lorsque le stress est sévère, la discrimination entre variétés est très nette. Cette discrimination est appuyée par une analyse de variance à deux facteurs dont le résultat est illustré dans (annexe III). Cette analyse montre des différences significatives entre les quatre traitements (Témoin, 5, 10, 15 g/l). Par ailleurs, le test de la longueur de l'épicotyle (Figure 8), sous stress sévère, montre que les génotypes Waha et Aegilops sont significativement les meilleurs de tous les génotypes étudiés (annexe III), elles sont suivies des variétés Blikhe, Djenah – khetifa, Haurani, Hedba qui constituent une classe homogène différente des autres. En revanche, la variété Bidi- 17 se situe en bas de l'échelle.

II-5- La longueur de la racicule

Le résultat du système racinaire est illustré par la figure (8). Cette figure montre que, en condition de stress salin toutes les variétés sont affectées, par contre on a observé des comportements différents entre les génotypes vis-à-vis les différents niveaux de stress par exemple la variété Waha et Aegilops présentent dans le stress très sévère (N4, N5, N6) une petite racicule par contre chez les autres génotypes cette racicule presque est annulée. Ce comportement particulier serait une forme de tolérance au stress salin.

II-6- La cinétique de croissance

D'après la figure (9) on a observé que la cinétique de croissance de l'épicotyle est sous forme de sigmoïde dans tous les génotypes au milieu témoins, par contre l'allure de cette forme est changée selon le niveau de traitement pour la même variété, cependant des différences sont observées entre les génotypes pour le degré de répétition de forme sigmoïde dans les différents traitements, selon la figure (9) on a trouvé que l' Aegilops présente la forme sigmoïde dans tous les niveaux de stress par contre la variété Waha garde cette forme seulement pour le témoin et le traitement (N1), la variété Haurani présente la forme sigmoïde pour le témoin, niveau 1 (N1) et le niveau 2 de stress, ce comportement particulier de différents génotypes est corrélé avec le degré de résistance à la salinité.

II-7- La corrélation entre les paramètres étudiés

D'après la matrice de corrélation (annexe III) et les graphiques de régression (Figure 11), on a trouvé qu'il existe une corrélation négative entre la vitesse de germination et la durée de germination, quand la vitesse est augmentée la durée tend à diminuer et vice versa,

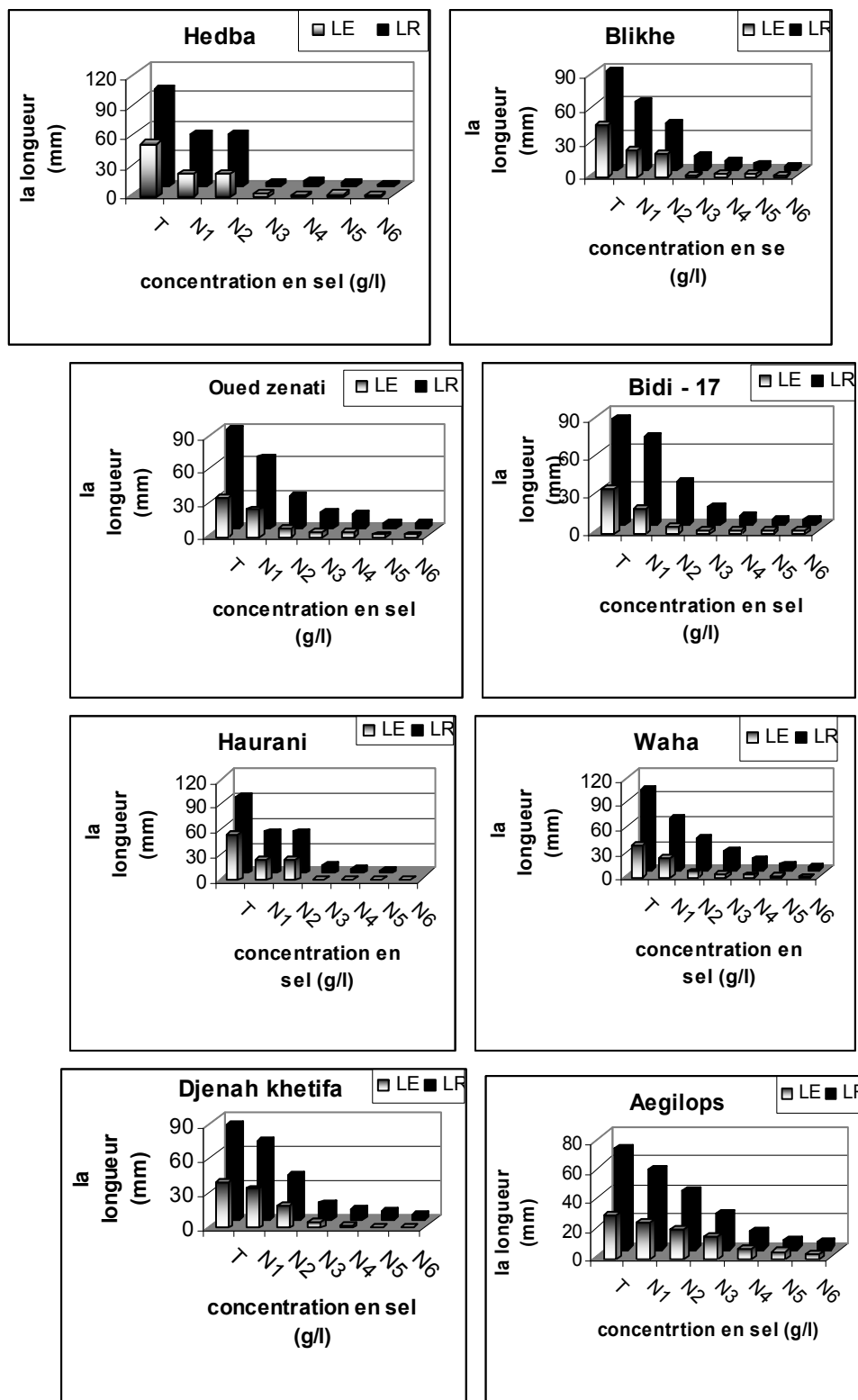


Figure (8) : Variation de la longueur de l'épicotyle (LE) et de la radicule (LR) des grains germés de différents génotypes en fonction de la concentration en sel

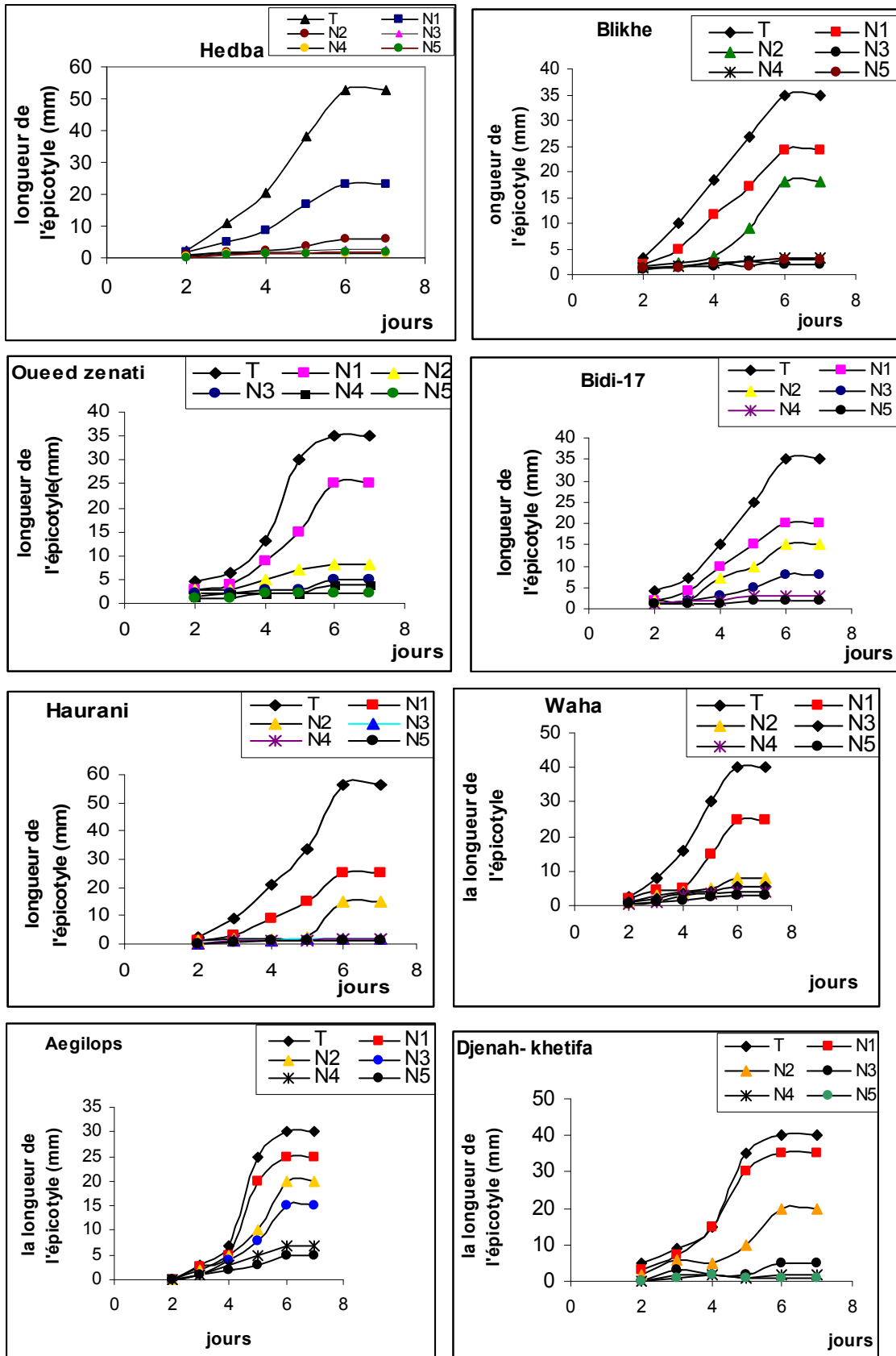


Figure (9) : Effet de la salinité sur la cinétique de croissance de l'épicotyle des grains germés de différents génotypes

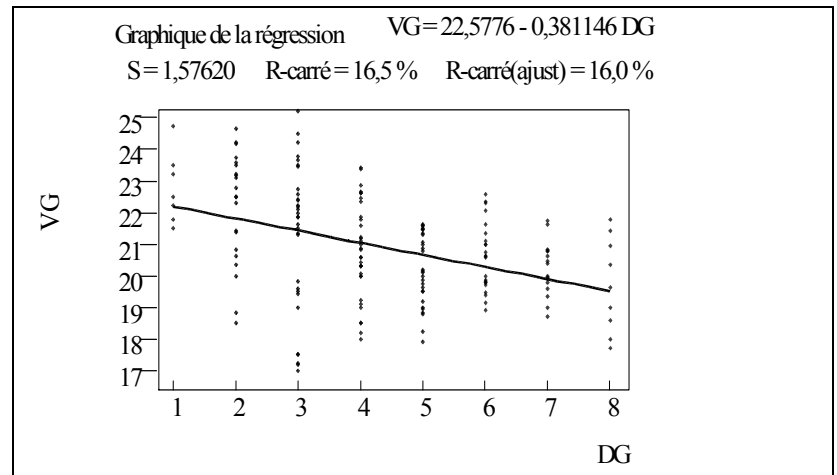
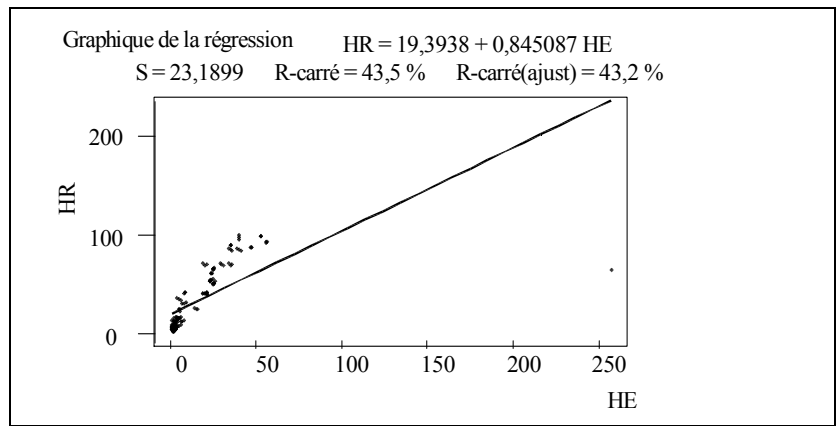
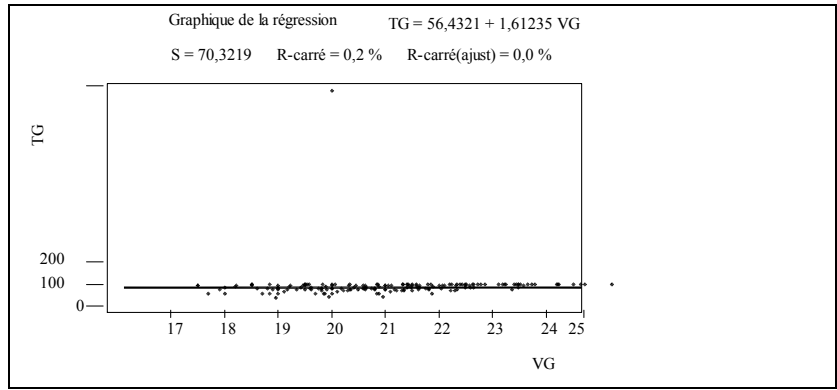


Figure (10) : Les graphiques de régression pour les différents paramètres étudiés

pour la longueur de l'épicotyle et de la radicule le coefficient de corrélation est positif, donc l'augmentation de la longueur est rythmique pour les deux paramètres.

La longueur de la radicule est corrélée positivement avec la vitesse de germination, aucune corrélation entre le taux de germination et la durée de germination et aussi entre le taux de germination et la vitesse de germination, cette observation est indiquée par une ligne parallèle à l'axe des abscisses (figure 9).

III- Discussion

L'effet de la salinité sur la germination de blé dur est bien étudié par Azmi et Alam (1990) et Guerrier (1983). En général la salinité occasionne une diminution de l'absorption d'eau des graines à cause de stress osmotique créé par les concentrations élevées de NaCl dans les milieux de germination, mais cet effet de stress salin n'est pas permanent, par ce que le sel à l'inverse des autres substrats osmotiques (PEG) peut pénétrer à l'intérieur de tissus de la graine (Huang Redman, 1995 ; El- Sayed et EL-Haak, 1991 ; Cholamu Roza et Khayatnezhed, 2011). L'accumulation des sels notamment le NaCl entraîne une toxicité des tissus et celle-ci empêche la sortie de radicule indispensable pour l'approvisionnement en eau nécessaire à la croissance (Marambe et Ando, 1995 ; Johanna A. F 2006). Pour cette raison on a observé dans notre travail que la longueur de la radicule et de l'épicotyle est affectée d'une façon significative dans les hautes concentrations en sel.

Dans notre travail, les grains stressés qui nous avons transférés dans un milieu sans sel sont germés, mais pas d'une façon complète, pour cette raison on peut conclure, que l'effet de sel sur la germination des grains de blé dur est basé en majorité sur l'effet osmotique car celui-ci abaisse le potentiel osmotique du milieu de germination (à cause de la concentration élevée en sel), mais on peut dire que au moins une partie des effets de stress salin a été occasionné par la toxicité ionique.

Par contre Redmann (1974) rend l'effet de la salinité sur la germination seulement sous l'effet de la toxicité ionique sans prendre en considération l'effet osmotique, celui-ci qui nous avons trouvé dans cette étude le principal facteur de la diminution du taux de germination.

Pour le taux de germination plusieurs auteurs comme (Mallek et Maalej, 1998 ; Johanna A. F 2006) ont utilisé ce paramètre comme critère de la sélection pour la résistance à la salinité puisque la variété tolérante donne un taux raisonnable de germination dans les concentrations élevées.

À l'étape finale de germination, l'inaptitude des graines à germer semblent signifier qu'avec l'augmentation de la concentration en sel, l'effet de toxicité domine, suite à l'accumulation du Na⁺

dans l'embryon (Guerrier, 1983), installant une inhibition osmotique (Bliss et al., 1986). Cette toxicité serait influencée directement par le Na^+ (El-neimi et al., 1992) ou conséquente à une carence minérale comme K^+ (Guerrier, 1984) et au caractère hormonal de l'inhibition (Ackerson, 1984) par exemple l'acide abscissique composé métabolisé sous l'action de Na^+ , à propriété identique à celle du NaCl. Cet ABA inhibe notamment la synthèse des enzymes (ou d'acide nucléiques) spécifiques de la germination (Black, 1983), limite l'absorption d'eau et contrôle la régulation de la pression osmotique cellulaire (Lepage-Degivry et Bulard, 1988). Ces remaniements ionique et hormonal présument que l'embryon à l'état de quiescence, exprime une incapacité à déclencher des fonctions métaboliques en présence des hautes concentrations en sels pour utiliser les produits de dégradation venant des réserves de l'albumen. Ces métabolites, en priorité des composés glucidiques (Bourdu, 1983) et azotés fonctionneraient comme des régulateurs osmotiques potentiels ors d'un stress salin (Kayani et al., 1990 ; Chunhui Wu et al., 2011). Ce fonctionnement marquant les premières manifestations embryonnaires, suite à une entrée d'eau, impliquerait le passage d'un développement embryonnaire à celui germinatif (Misra et al, 1984) et le contrôle des mécanismes cellulaires et membranaire mis en jeu dans la germination.

En outre, le déroulement de la germination montre que la vitesse des graines à germer est d'autant plus lente que la salinité du milieu est augmentée. La plupart des auteurs admettent l'existence de cette relation chez les halophyte et les glycophytes et concluent que la durée de processus de germination est grandement affectée (Grouzis et al., 1976), on a trouvé le même résultat qui est illustré dans la matrice de corrélation entre la vitesse de germination et la durée de germination ($r = - 0,75$).

L'évolution de la croissance (cinétique de croissance) au cours du temps peut être traduite en courbe de croissance, qu'il est utile de réduire à des modèles mathématiques simples (Heller R et al., 1990), permettant de dégager de paramètres facilitant la comparaison, la vitesse de croissance et le taux de prolifération cellulaires sont des caractères limitent la longueur de l'épicotyle et de la racicule et sont affectés par le stress salin, donc l'utilisation de cinétique de croissance selon le résultat de notre étude, pour la sélection de génotype tolérant est utile mieux que les autres paramètres classiques.

La relation de la germination avec la salinité reste un phénomène toutefois fort complexe, hormis la caractérisation que nous venons d'établir à partir des quelques paramètres classiques, en raison de l'intervention possible d'autres facteurs telle qu'une dormance embryonnaire (Mairone et Geslot, 1987 ; Fougi Atra, 2007), renforcée par la présence des sels, qui n'est d'ailleurs pas à exclure.

Les premiers résultats sur la germination ne suffisent pas à concevoir une hiérarchie de comportement du matériel végétal étudié vis-à-vis de la salinité. La tolérance au stress salin demeure la résultante de nombreux mécanismes adaptatifs fonctionnels durant la vie de la plante. Il est reconnu par certains auteurs que cette tolérance change avec le stade. Pour Chunhui Wu et al., (2011) elle varie dans le même sens pendant la germination et la croissance de la plante mais (Guerrier, 1983 ; Cholamu Roza et Khayatnezhed, 2011) trouve que la sensibilité des végétaux comme le pois et l'haricot à la salinité est plus grande pendant la phase de développement, et devient plus faible lors de la germination à forte teneurs en sels, par contre pour Sheikh et Mahmoud (1986) et Johanna A. F (2006) la tolérance est plus grande durant la phase adulte.

De nos résultats et des controverses que nous venons de citer, nous essayerons d'expliquer dans la suite de ce travail (chapitre IV) la réaction de notre matériel végétal avec les différentes concentrations en NaCl durant la phase adulte.

Conclusion

Dans cette étude, nos résultats montrent un effet dépressif de sel sur les différents paramètres de germination, confirmant ainsi d'autres travaux de (Garcia- Legaz MF et al., 1993, Johanna A F, 2006) qui a montré un effet similaire du stress salin sur la germination et la croissance de nombreuses espèces végétales.

La germination des grains stressés transférés dans un milieu sans sel nous a permis de conclure que l'effet de la salinité au stade de germination résulte de l'intervention des effets osmotiques avec les effets toxiques de NaCl.

Le classement des géotypes étudiés selon leur degré de résistance à la salinité nous a montré que la variété tolérante au stress garde une diminution faible pour la majorité des paramètres étudiés (Tableau 4).

Tableau (4) : La classification des différents génotypes étudiés selon leur degré de résistance à la salinité

G/P	TG			VG			DG			LE			LR		
	ME	MO	F	ME	MO	F	ME	MO	F	ME	MO	F	ME	MO	F
Ae	*			*			*				*			*	
Bidi	*			*				*				*		*	
HE		*		*				*			*			*	
BL		*		*				*			*				*
Hau			*		*				*		*				*
OZ		*		*				*				*		*	
DK			*		*				*		*			*	
Wa		*			*		*			*			*		

*Chapitre 50: Effet de la salinité sur le développement des
différents génotypes étudiés*

I- Introduction

La salinisation enregistrée dans les écosystèmes aride et semi aride résulte de forte évaporation d'eau à partir du sol (Munns et al, 2006 ; Kiani A. R. ; S. M. Mirlatifi ,2012.) et d'une irrégulière et insuffisante pluviométrie (Mezni et al.,2002). Cette salinisation provient aussi de l'irrigation le plus souvent mal contrôlée (Bennaceur et al, 2001). Chaque année, les surfaces perdues à cause de la salinité des sols varient autour de 20 millions d'ha dans le monde. Ainsi, ces surfaces sont passées de 48 millions à 265 millions d'ha de terres agricoles touchées par la salinité et aujourd'hui, les surfaces agricoles affectées dans le monde seraient de 340 millions d'ha soit 23% des terres cultivées dans le monde, (Cheverry, 1995). De ce fait, ces changements imposent la réflexion sur les stratégies à entreprendre pour comprendre les mécanismes mis en jeu par les plantes afin de s'adapter aux nouvelles conditions de l'environnement et de maintenir leur croissance et leur productivité (Belkhodja et Bidai,2004; Trinchant et al, 2004).

En effet, selon le degré de salinité dans le milieu, les glycophytes en particulier sont exposées à des modifications de leur comportement morpho-physiologique (Bennaceur et al, 2001), biochimique (Grennan, 2006) et minéral (Martinez et al.,2007). Ainsi, les plantes réagissent à ces variations de la salinité dans le biotope, soit pour disparaître ou déclencher des mécanismes de résistance. Parmi ces mécanismes, l'ajustement osmotique joue un rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante à la contrainte (Munns, 2002). En effet, la tolérance, dans le cas d'un abaissement du potentiel hydrique, s'exprime par un maintien de la turgescence (Garg et al.,2002; Moinuddin et al.,2005) grâce au phénomène d'ajustement osmotique. Ce phénomène apparaît aujourd'hui comme un mécanisme majeur d'adaptation aux stress ionique et osmotique qui s'exprime par la capacité d'un végétal à accumuler, au niveau symplasmique et de manière active des ions tels que les K^+ et Na^+ (Parida et Das, 2005; Navarro et Rubio, 2006) et Cl^- (Munns et al, 2006; Teakle et al, 2007) ou de composés organiques tels les sucres solubles (Ottow et al, 2005) et certains amino-acides comme la proline, (Morant-Manceau et al, 2004). Il permet le maintien de nombreuses fonctions physiologiques (photosynthèse, transpiration, croissance...) (Grennan.,2006, Martinez et al, 2007) et il peut intervenir à tous les stades du développement du végétal, (Malasses,1996). L'osmorégulation permet une protection des membranes et des systèmes enzymatiques surtout dans les organes jeunes et la proline semble jouer un rôle dans le maintien des pressions cytosol vacuole et de régulation du pH (Ottow et al, 2005).

Dans ce chapitre on va étudier les variations morphologiques, physiologiques et biochimiques en fonction de régimes salins croissants pour l'évaluation des réponses physiologiques et biochimiques chez sept variétés de blé dur et une espèce apparentée.

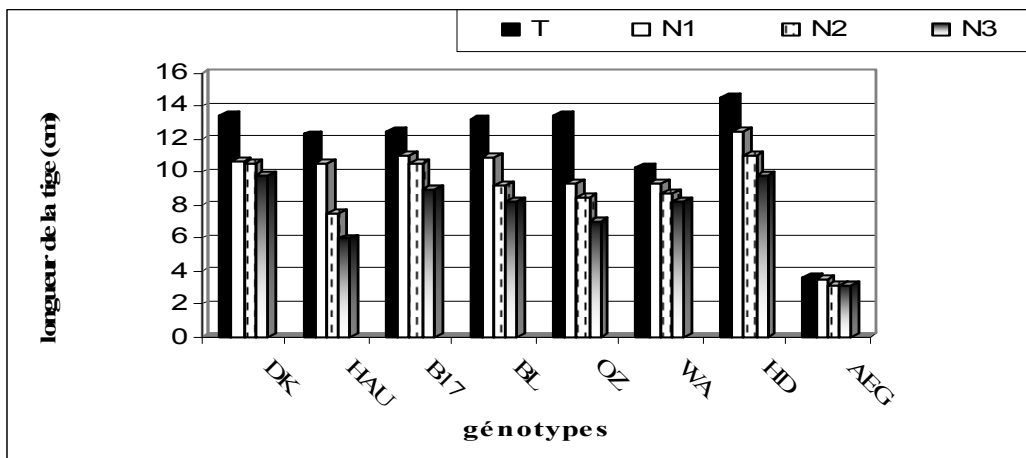


Figure (11) : Variation de la hauteur des tiges, en fonction de l'intensité du stress salin, chez les différents génotypes étudiés (stade tallage).

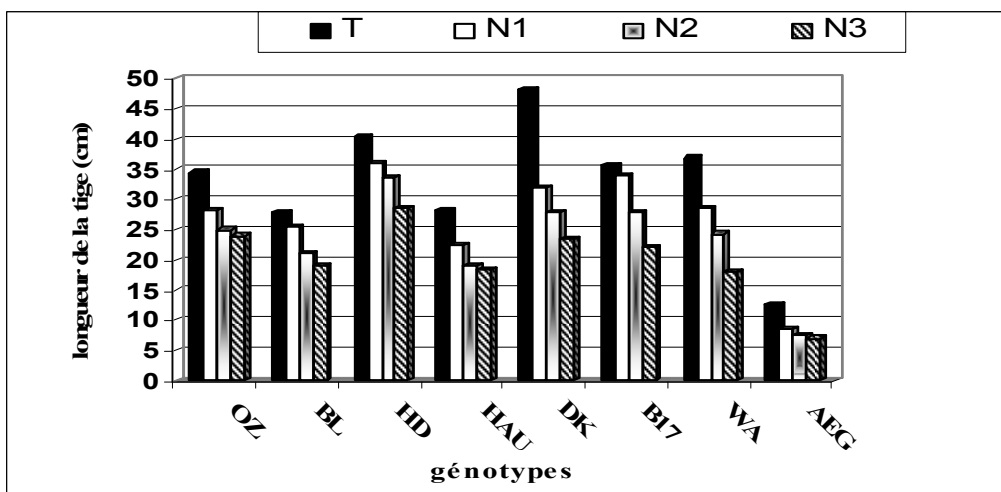


Figure (12) : Variation de la hauteur des tiges, en fonction de l'intensité du stress salin, chez les différents génotypes étudiés (stade épiaison).

II : Résultats

II-1 : Les paramètres morphologiques

II-1-1- La hauteur de la tige

➤ Stade tallage

D'après l'analyse de variance (annexe IV) on a montré que la salinité a un effet dépressif sur la hauteur de la tige au stade tallage (4^{ème} 5^{ème} feuille), mais cet effet est différent d'un génotype à l'autre.

Les génotypes étudiés sont classés en trois groupes selon leurs résistances au stress salin (Figure 11) le premier groupe comprend l'Aegilops, est éloigné des autres groupes par ce que ce génotype préserve presque la même hauteur de la tige en comparant du témoin dans les différents traitements en sel.

2^{ème} groupe porte les génotypes suivants (Bidi-17, Waha, Djenah khetifa), qui présentent des différences significatives entre le témoin et les traitements salins par contre aucunes différences entre les différents traitements en sel.

3^{ème} groupe comprend les génotypes restant (Haurani, Blikhe, Oued zenati) qui sont montrés des différences significatives entre les témoins et les différents niveaux de stress salin et entre les différents traitements entre eux.

➤ Stade épiaison

L'analyse de variance a montré un effet hautement significatif de stress salin sur la hauteur de la tige (stade épiaison) des différents génotypes étudiés avec un comportement différent d'un génotype à l'autre (annexe IV).

L'Aegilops reste toujours un génotype distingué des autres variétés de blé dur par leur persistance de garder des différences faibles entre les différentes concentrations en sel.

Les variétés (Blikhe, Hedba, Oued zenati) sont classées comme un groupe moyen vis à vis la résistance à la salinité (Figure 12), les autres variétés restantes (Haurani, Djenah Khetifa, Bidi-17) sont groupées comme des génotypes affectés par la salinité à ce stade de développement.

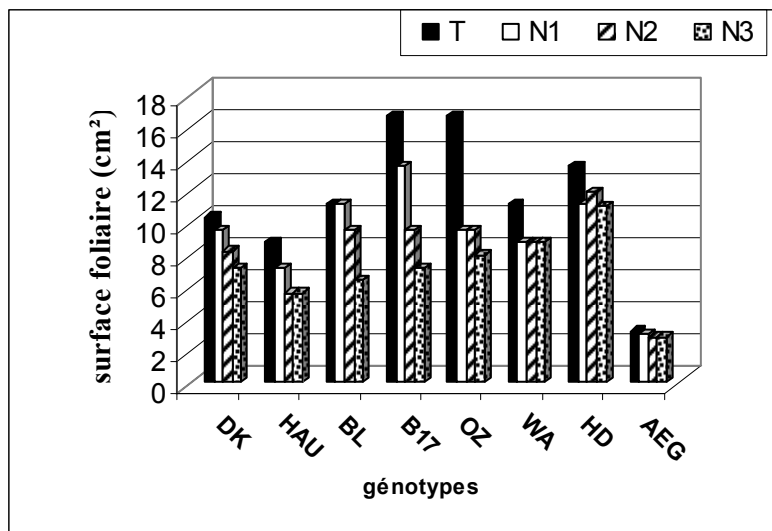


Figure (13) : variation de la surface foliaire, en fonction de l'intensité de stress salin, chez les différents génotypes étudiés (stade tallage)

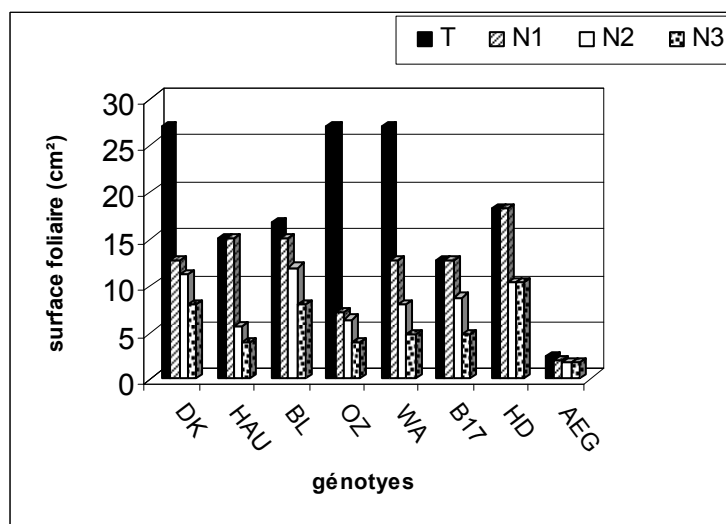


Figure (14) : variation de la surface foliaire, en fonction de l'intensité de stress salin, chez les différents génotypes étudiés (stade épiaison)

II-1-2- La surface foliaire

➤ Stade tallage

La surface foliaire est aussi affectée par le stress salin (annexe IV), selon la figure (13) et l'analyse de variance on a observé des différences significatives entre les différents géotypes, et au sein de même géotype d'un niveau de traitement à l'autre.

Les variétés Oued zenati et Bidi-17 présentent une grande diminution de la surface foliaire dans le milieu salin N1 (5g /l) par rapport au témoin, Oued zenati est diminuée par une moyenne de 42,87 %, bidi-17 par moyenne de 19 %, chez la variété Blikhe aucune diminution de la surface foliaire dans le niveau 1 (N1) de stress salin, l'abaissement de la surface foliaire est observé dans le milieu (N2) et (N3).

Pour la variété Djenah khetifa la réduction foliaire est petite (7,85 %) chez tous les niveaux de stress en comparant avec le témoin, la variété Waha présente la même surface foliaire pour les trois niveaux de stress salin avec une diminution de 21,51 % par rapport au témoin, l'Aegilops montre la moindre différence (4,98 %) entre tous les niveaux de stress et le témoin, et presque aucune différence entre les trois niveaux de stress salin, Hedba est diminuée par une valeur de 17,65 % dans le milieu N1, puis cette surface foliaire est augmenté dans le milieu N2 par une moyenne de 6,63 % par rapport au milieu N1.

➤ Stade épiaison

Au stade épiaison on a observé que la salinité continue son effet réducteur sur la surface foliaire, mais toujours il existe une grande diversité entre les géotypes étudiés.

Pour les géotypes Haurani, Bidi 17, Aegilops aucune différence entre le témoin et le premier niveau (N1) de stress salin, mais la différence est apparaît à partir de deuxième niveau de salinité pour les deux premier géotypes, mais l'Aegilops reste sans différence significative entre les trois niveaux de stress.

Les variétés Oued zenati, Waha, Djenah khetifa sont caractérisées par une grande réduction (73,57%, 47,07%, 47 % respectivement) de la surface foliaire au niveau 1(N1) du milieu salin. Blikhe présente au premier niveau de stress une surface foliaire proche de celle du témoin, mais la sérieuse diminution est apparaît à partir de deuxième niveau (10g/l).

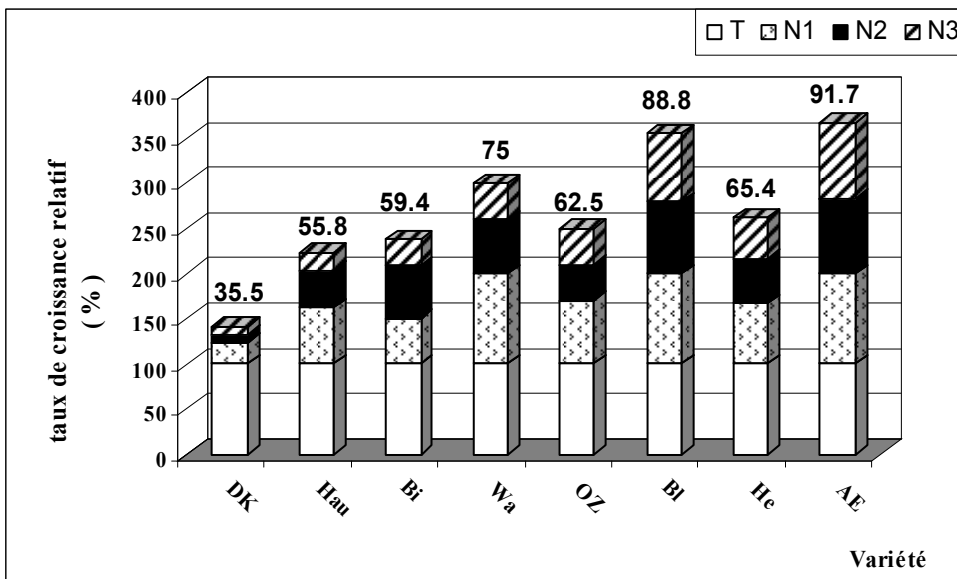


Figure (15) : Le taux de croissance relatif (%) en fonction de la salinité chez les différents génotypes étudiés au stade tallage

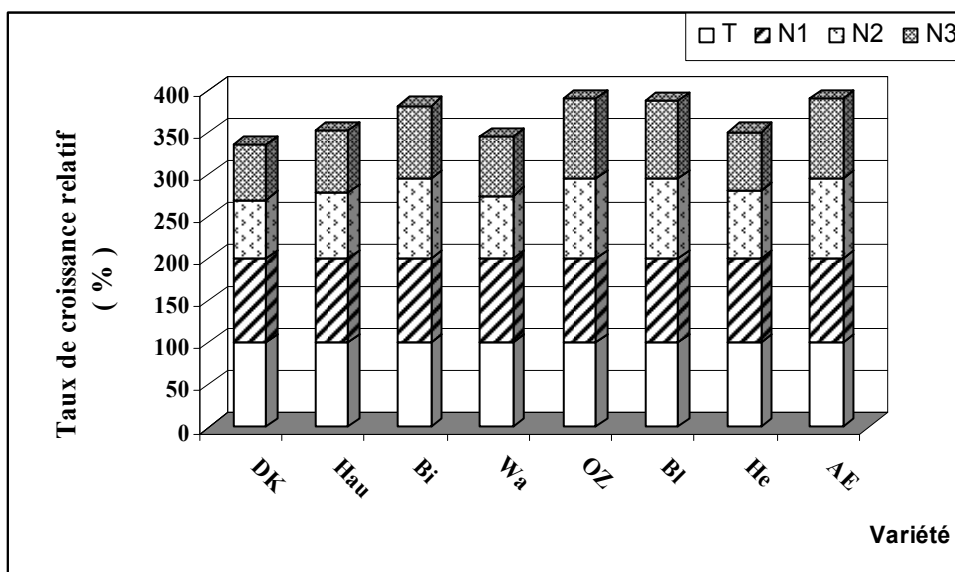


Figure (16) : Le taux de croissance relatif (%) en fonction de la salinité chez les différents génotypes étudiés au stade épiaison

II-1-3-Le taux de croissance

➤ Stade tallage

D'après l'analyse de variance à deux facteurs (annexe IV) on a observé un effet significatif de la salinité ($F=24.07$) sur le taux de croissance pour tous les génotypes étudiés. Quelque soit la variété, le taux de croissance pour le témoin (sans stress) est plus loin par rapport aux différents traitements salin, la dégradation de croissance est en fonction du stress la diminution du taux de croissance entre le témoin, N1, N2, N3 est de l'ordre 28.5 %, 28.7% et 10.1 % respectivement. , d'un autre coté le comportement de chaque génotype est différent de l'un à l'autre.

Selon la figure (15) et l'intervalle de confiance (annexe IV), on a démontré que l'espèce apparenté *Aegilops* garde un taux de croissance élevé par rapport aux autres génotypes de blé dur, et même le changement entre les différents niveaux de stress est constant, aussi la variété Blikhe présente un comportement comparable à celui d'*Aegilops* donc ils sont compris dans le même groupe, par contre la variété Djenah khetifa est caractérisée par le taux de croissance le plus faible (35.5%)

➤ Stade épiaison

Pour le stade épiaison et selon l'analyse de variance ($F=16$), on a montré un effet significatif de la salinité sur le taux de croissance quelque soit la variété étudiée, mais cet effet est moins accentué par rapport au stade tallage, la différence entre le témoins et le niveau 1 est nulle, et celle entre le niveau 2 et le niveau 3 est 4.3 %, d'après la figure (16), on a observé aussi que les classements des génotypes sont étroits à raison que le comportement presque semblable d'un génotype à l'autre.

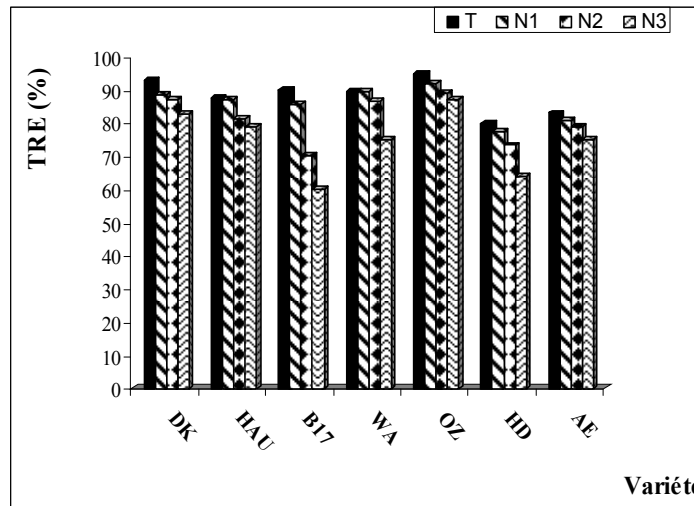


Figure (17) : Variation de la teneur relative en eau (TRE), en fonction de l'intensité de stress salin chez les différents génotypes étudiés (stade tallage)

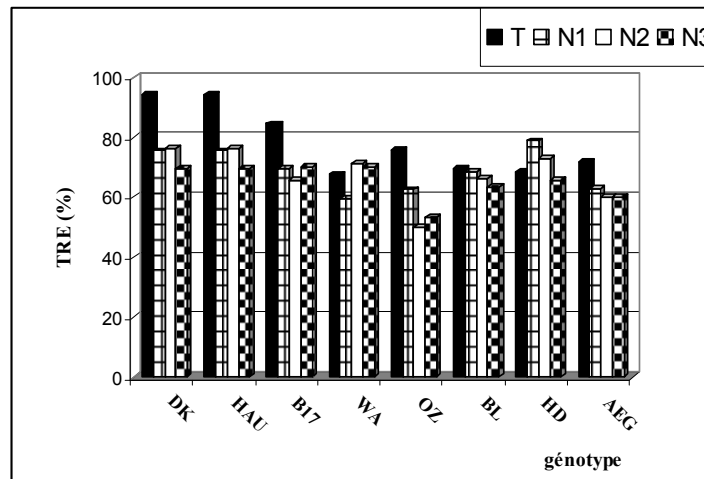


Figure (18) : Variation de la teneur relative en eau (TRE), en fonction de l'intensité de stress salin chez les différents génotypes étudiés (stade épiaison)

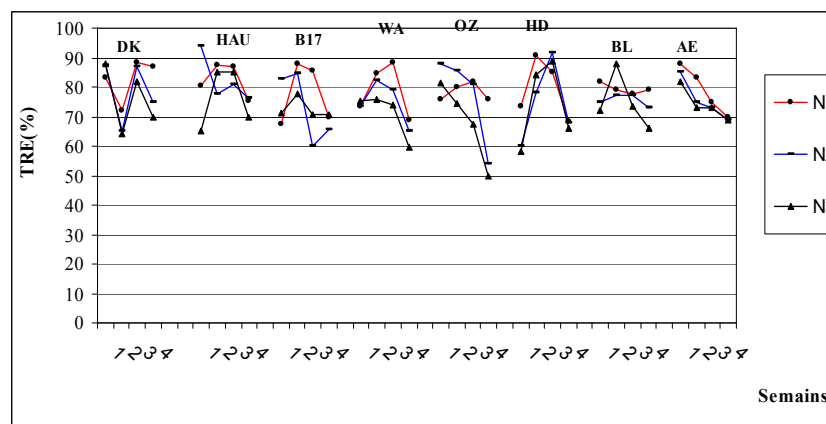


Figure (19) : L'évolution de la teneur relative en eau en fonction de la durée et l'intensité de stress salin chez les différents génotypes étudiés

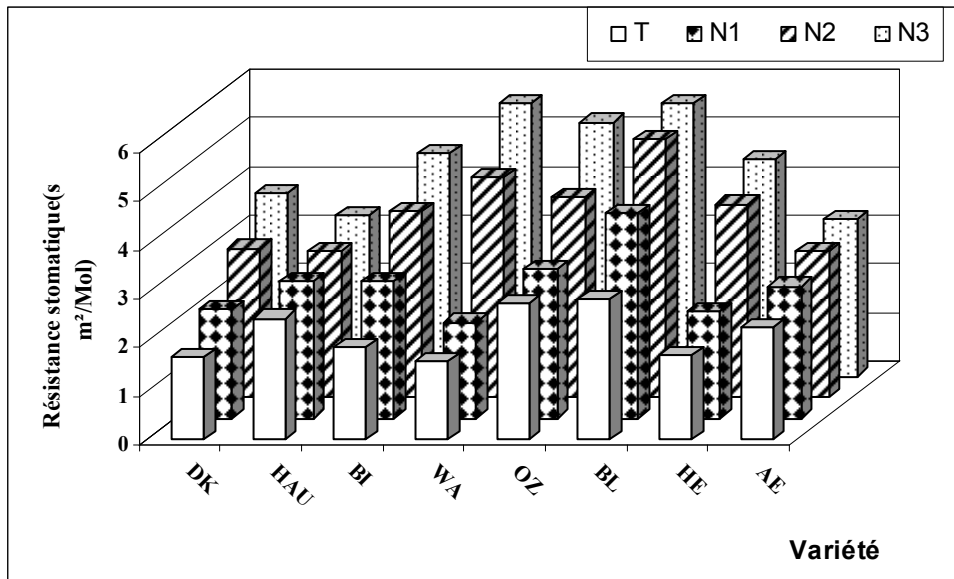


Figure (20) : Variation de la résistance stomatique en fonction de l'intensité saline chez les différents génotypes étudiés au stade tallage

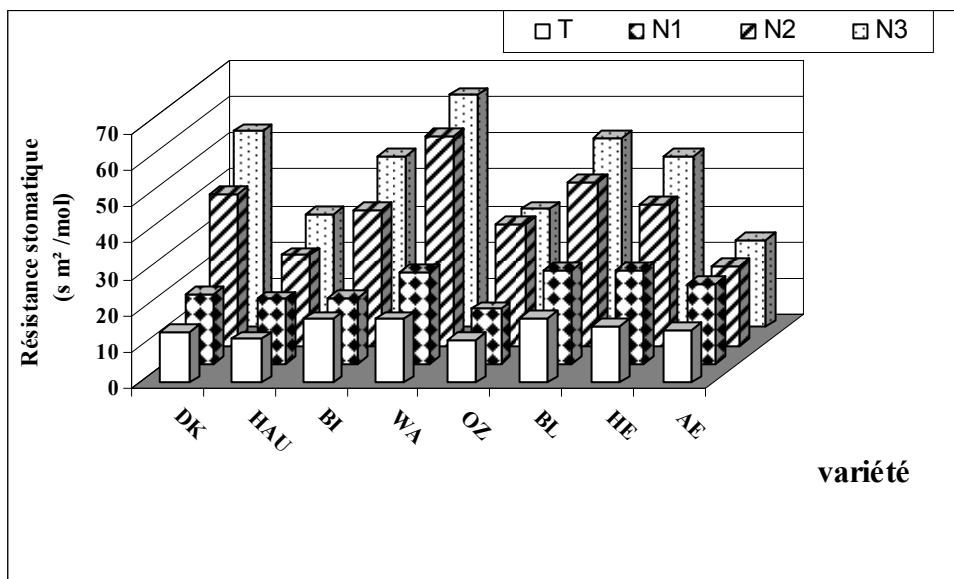


Figure (21) : L'évolution de la résistance stomatique sous l'effet du stress salin chez les différents génotypes étudiés au stade épiaison

II-2 : Les paramètres physiologiques

II-2-1- La teneur relative en eau (TRE)(%)

➤ Stade tallage :

D'après l'analyse de variance (annexe IV), on a trouvé que la salinité n'a aucun effet significatif sur la teneur relative en eau au stade tallage quelque soit le génotype étudié, cependant un effet de la variété apparaît entre les génotypes de notre essais, l'intervalle de confiance nous a permis de classer les génotypes en cinq groupes distingués.

Le 1^{er} groupe (Djenah khetifa, Blikhe) avec TRE (88 %, 87,6 % respectivement)

2^{ème} groupe (Haurani, Waha) avec TRE (86,1% ; 85,8 % respectivement)

3^{ème} groupe (Oued zenati) avec TRE (82,1 %)

4^{ème} groupe (Aegilops, Hedba) avec TRE (78,7% ; 77,9 % respectivement)

5^{ème} groupe (Bidi-17) avec TRE (76,4 %).

➤ Stade épiaison :

Selon l'analyse de variance (annexe IV) et la figure (18), on a montré un effet significatif de la salinité sur la teneur relative en eau à ce stade, la différence entre le témoin et le niveau1 de stress est élevée pour la plupart des génotypes, des différences modérées sont observées entre les trois niveaux de stress salin quelque soit le génotype étudié (intervalle de confiance de la salinité annexe IV).

La durée du stress aussi présente un effet significatif sur la teneur relative en eau (Figure 19), quelque soit le génotype et le traitement salin, mais le rythme d'évolution est varié selon le génotype et l'intensité du stress.

II-2-2-La résistance stomatique (sm^2/mol)

➤ Stade tallage :

D'après l'analyse de variance (Annexe IV), on a observé un effet significatif de la salinité sur la résistance stomatique quelques soit le génotype étudié, mais le comportement de chaque génotype vis-à-vis le stresse salin est différent de l'un à l'autre.

Selon l'intervalle de confiance (annexe IV) et la figure (20), on a observé que la résistance stomatique est augmentée successivement selon l'intensité du stress, mais le taux d'augmentation reste en corrélation avec le génotype en question.

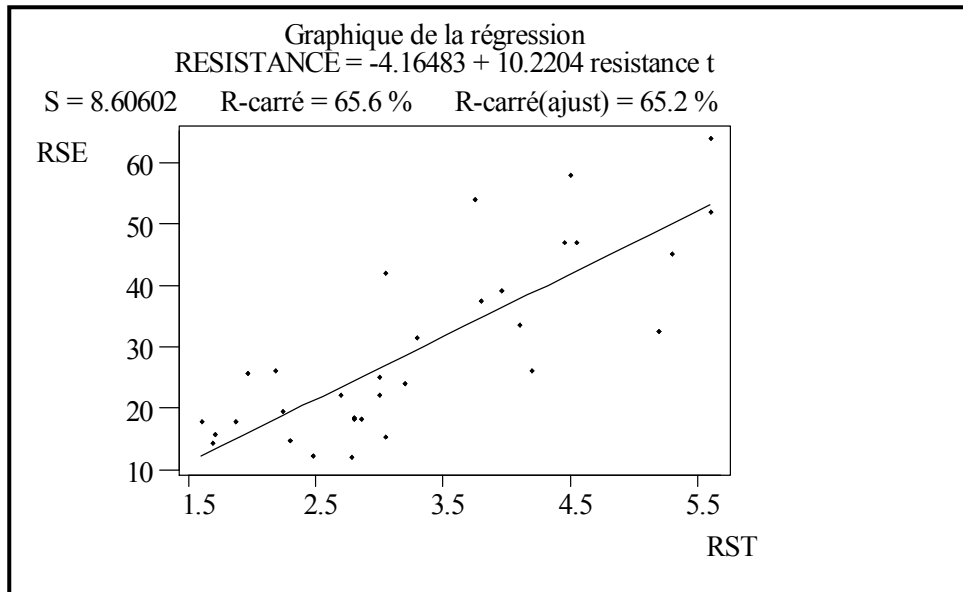


Figure (22) La relation entre la résistance stomatique au stade tallage (RST) et celle au stade épisaison (RSE)

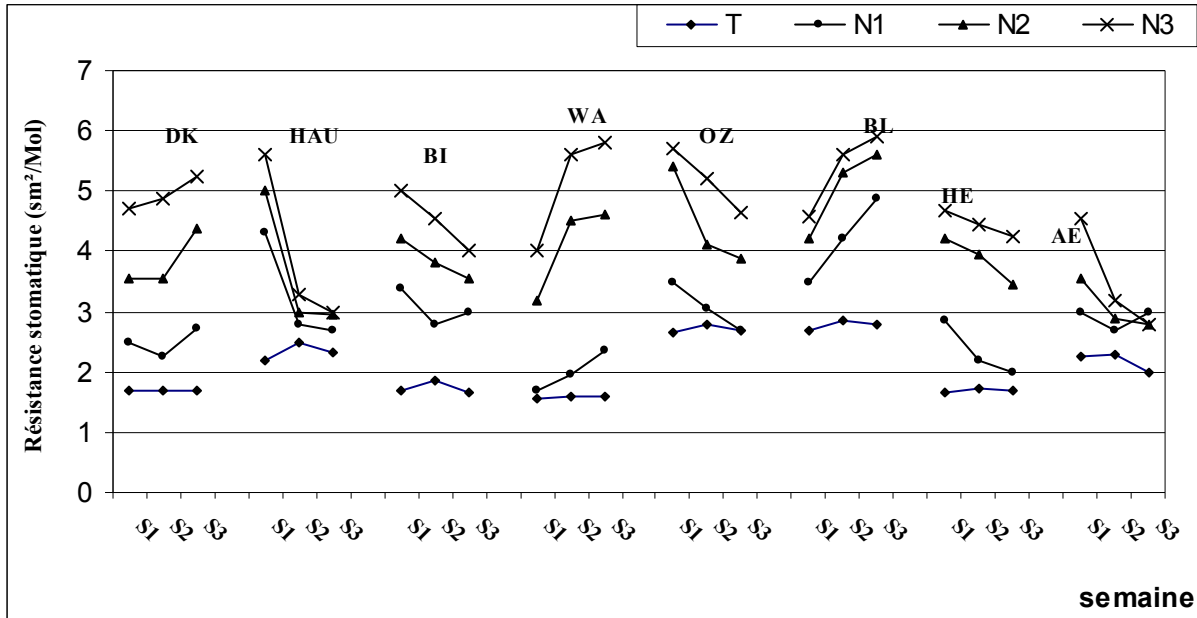


Figure (23) : Evolution de la résistance stomatique (sm^2 / Mol) en fonction de la salinité et la durée du stress chez les génotypes étudiés

➤ **Stade épiaison**

L'analyse de variance à deux facteurs (annexe IV) nous a permis de dire que la salinité a un effet significatif sur la résistance stomatique au stade épiaison, quelque soit le génotype étudié, la résistance stomatique observée est corrélée avec la concentration saline, pour le témoin on a observé la résistance la plus faible (15.18 s/cm²), N1 (21.32 s/cm²), N2 (37.75 s/cm²) ; N3 (43.97 s/cm²)

L'augmentation de la résistance stomatique est plus élevée par rapport à celle au stade tallage, cette augmentation n'empêche pas la corrélation qui existe entre les deux stades (Figure 22).

La figure (23) montre que cette augmentation d'un niveau du stress à l'autre diffère selon le génotype étudié.

La durée du stress a aussi un effet significatif sur la résistance stomatique, d'après la figure (23) on a observé que quelques génotypes (OZ, HAU, AE, BI, HE)) abaissent leur résistance stomatique dès la deuxième semaine du stress et quelque soit l'intensité de sel, par contre chez les autres variétés (DK, WA, BL) la résistance stomatique est augmentée en fonction de la durée du stress.

II-2-4-La teneur foliaire en Na⁺ et K⁺ (% de matière sèche)

D'après l'analyse de variance on a trouvé que la salinité a un effet hautement significatif sur la teneur en Na⁺ et celle en K⁺ (Annexe IV), avec une interaction entre la variété et le stress salin, selon l'intervalle de confiance, le témoin toujours plus loin par rapport aux autres traitements. Pour les témoins on a observé que la teneur en Na⁺ est moins concentrée par rapport au K⁺. Le sel favorise une augmentation du Na⁺ au niveau foliaire en fonction de l'intensité saline mais cette augmentation reste corrélée avec le génotype en question (Tableau 5 a), le K⁺ est diminué en fonction du stress salin mais cette régression est faible pour certains génotypes que les autres (Tableau 5 b).

On a trouvé aussi dans ce travail une corrélation négative ($r=-0.62$) entre la teneur en Na⁺ et celle en K⁺ (Figure 24).

Le rapport K⁺/Na⁺ diminue aussi selon la concentration en sel (Tableau 5 c), mais cette diminution est restée faible chez certains génotypes (AE, OZ).

Tableau (5) : L'effet du stress salin sur la teneur en sels minéraux (% de matière sèche) au niveau des feuilles, chez les différentes variétés de blé dur (a) : Na⁺, (b) : K⁺, (c) : K⁺/Na⁺

(a)

Variété***	Na ⁺ (% de matière sèche)			
	T***	N1***	N2***	N3***
AE	0.32±0.086	0.64 ±0.052	0.88±0.045	1.01±0.062(e)
OZ	0.36 ±0.035	0.72 ±0.04	0.96±0.036	1.22±0.023(e)
Hau	0.32 ±0.036	0.81 ±0.056	1.01±0.032	1.32±0.063(d)
B17	0.22±0.023	0.56±0.012	0.89±0.025	1.02±0.015 (a)
DK	0.30±0.087	0.962± 0.05	1.85 ±0.05	2.22±0.065(b)
BL	0.23±0.022	0.0.85±0.056	1.65±0.09	2.63±0.064(c)
WA	0.19±0.014	0.85±0.023	1.69±0.065	2.7±0.016(b)
HED	0.333±0.087	0.822±0.020	1.75±0.51	2.18±0.056©

(b)

Variété***	K ⁺ (% de matière sèche)			
	T***	N1***	N2***	N3***
AE	2.1±0.09	1.88±0.052	1.56 ±0.056	1.32±0.045(d)
OZ	1.96±0.036	1.69±0.069	1.48±0.056	1.37±0.036(d)
Hau	1.95±0.017	1.36±0.05	1.24±0.035	1.12±0.08(c)
B17	1.32±0.025	1.19±0.02	1.15±0.036	1.01±0.058(a)
DK	2.01 ± 0.02	1.55±0.036	1.22±0.038	0.85±0.056©
BL	1.5±0.08	1.48±0.016	1.33±0.036	1.30±0.032(b)
WA	1.63±0.023	1.35±0.05	1.18±0.022	1.01±0.018(a)
HED	1.822±0.02	1.357±0.21	1.22±0.15	1.055±0.12 (b)

(c)

Variété	K ⁺ /Na ⁺			
	T	N1	N2	N3
AE	<u>6,56</u>	<u>2,93</u>	<u>1,77</u>	<u>1,30(d)</u>
OZ	5,44	2,34	1,54	<u>1,12©</u>
Hau	4,64	1,67	1,22	0,84(a)
B17	6	2,12	1,29	0,99©
DK	6,7	1,61	0,65	0,38(b)
BL	6,52	1,74	0,80	0,49(b)
WA	8,57	1,58	0,69	0,37(d)
HED	5,51	1,64	0,69	0,48(a)

*** indique que les deux facteurs (variété, salinité) ont un effet significatif pour $\alpha=1\%$
Les géotypes qui portent la même lettre sont compris dans le même groupe

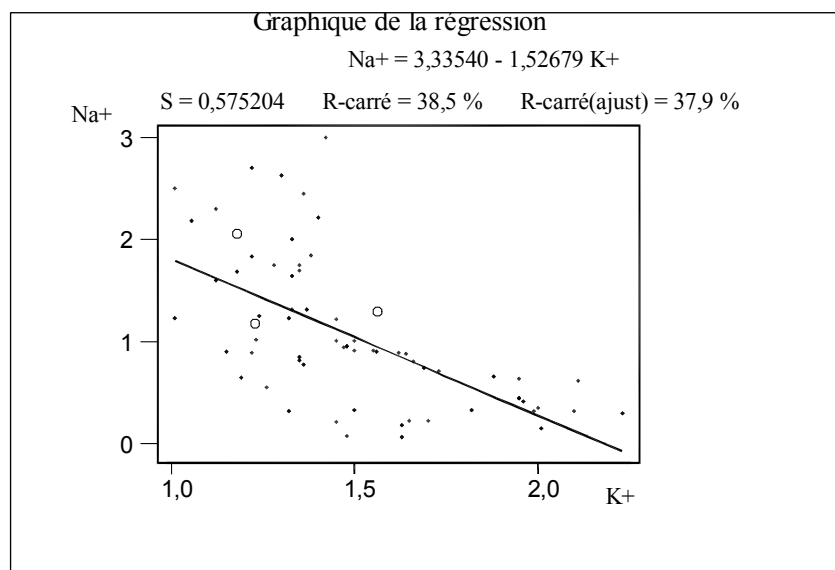


Figure (24) : La régression linéaire entre la teneur foliaire en Na⁺ et celle en K⁺

II-3- Les paramètres biochimiques :

II-3-1 : La chlorophylle totale :

➤ Stade tallage

D'après l'analyse de variance à deux facteurs contrôlés (salinité, variétés) on a observé un effet significatif de la salinité sur le taux de chlorophylle totale quelque soit le génotype étudié, selon le tableau (6), et l'intervalle de confiance (annexe IV) on a trouvé que la moyenne de chlorophylle totale est comprise dans le même intervalle pour le témoin et le niveau 1, la même chose pour le niveau 2 et le niveau 3 du stress.

Pour le facteur variétés, l'effet significatif du génotype est basé sur la présence d'une espèce apparentée au blé dur qui présente un taux de chlorophylle totale élevé par rapport aux variétés de blé dur.

➤ Stade épiaison

Pour le stade épiaison, on a observé selon l'analyse de variance que la salinité a un effet hautement significatif (significatif pour $\alpha=1\%$) sur le taux de chlorophylle totale par rapport au stade tallage.

D'après l'intervalle de confiance et le tableau (7) on a trouvé que chaque traitement salin est compris dans un groupe distinct avec la diminution du taux de chlorophylle qui est correspondante à la concentration de sel.

Tableau (6) : La chlorophylle totale chez les différents génotypes en fonction de stress salin (stade tallage)

*VAR/S**	T	N1	N2	N3
Djenah-Khetifa	35.36±2.60	32.2±1	35.8±3.21	39.86±0.047©
Haurani	34.16±1.89	31.03±1.81	38.2±3.90	36.63±1.18 (b)
Bidi17	34.16±1.43	34.56±0.71	37.33±1.51	34.93±0.63 (b)
Waha	36.96±0.80	36.8±0.21	37.83±2.50	33.7±0.73 (c)
Oued Zenati	35.43±2.23	36±0.71	31.96±0.46	38.56±1.01(c)
Blikhe	33.16±0.85	39.36±1	34.2±1.77	31.93±1(b)
Hedba	31.66±1.24	35±0.71	33.4±1.23	33.85±1(d)
Aegilops	45.1±2.16	40.96±2.70	42.1±2.33	45±0.81 (a)

** indique que l'effet de la salinité est significatif pour $\alpha=1\%$

* indique que l'effet du génotype est significatif pour $\alpha=5\%$

Les lettres désignent que les génotypes qui ont les mêmes lettres sont groupés dans la même classe

Tableau (7): La chlorophylle totale chez les différents génotypes en fonction de stress salin (stade épiaison)

(VAR/S)***	T	N1	N2	N3
Djenah-Khetifa	42.7±3.65	26±2.7	34.26±1.20	33.73±1.7(c)
Haurani	31.23±7.96	31.03±1.81	38.2±3.90	36.63±1.18 (d)
Bidi17	36.16±6.47	36.51±4.27	49.26±2.63	30.5±3.07 (b)
Waha	54.06±0.51	39.7±1.81	17.23±3.34	11±0.3 (d)
Oued Zenati	41.76±4.08	36±0.71	32.46±4.69	25.03±0.20 (d)
Blikhe	29.4±1.25	28.06±2.28	42.9±3.75	44.36±0.49 (d)
Hedba	31.66±1.24	44±2.59	33.4±1.23	33.85±1.08 (a)
Aegilops	41.7±2.64	35±0.71	41.96±2.49	45±0.81 (a)

*** indique que les deux facteurs (variété, salinité) ont un effet significatif pour $\alpha=1\%$

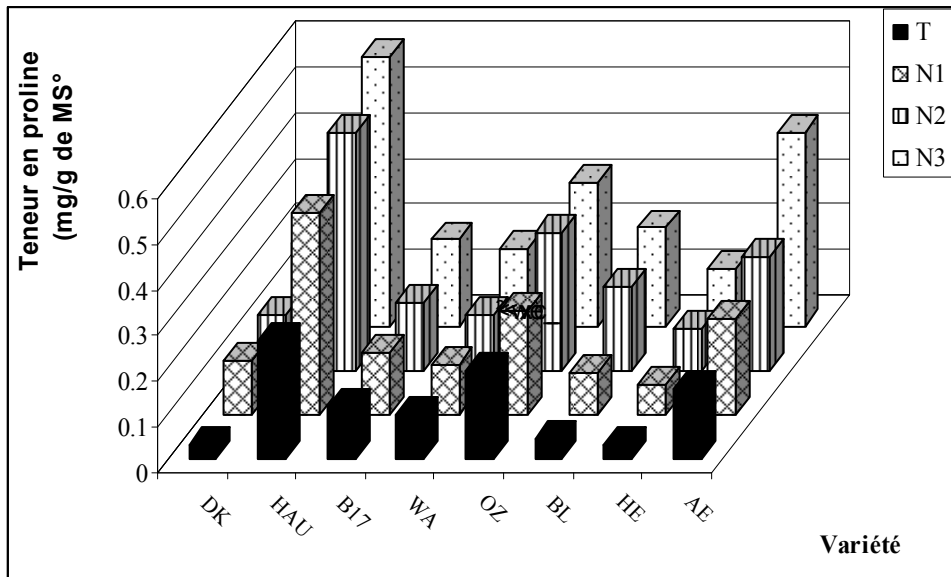


Figure (25) : La variation de la teneur en proline (mg/g de matière sèche) en fonction du stress salin chez les différents génotypes étudiés au stade tallage

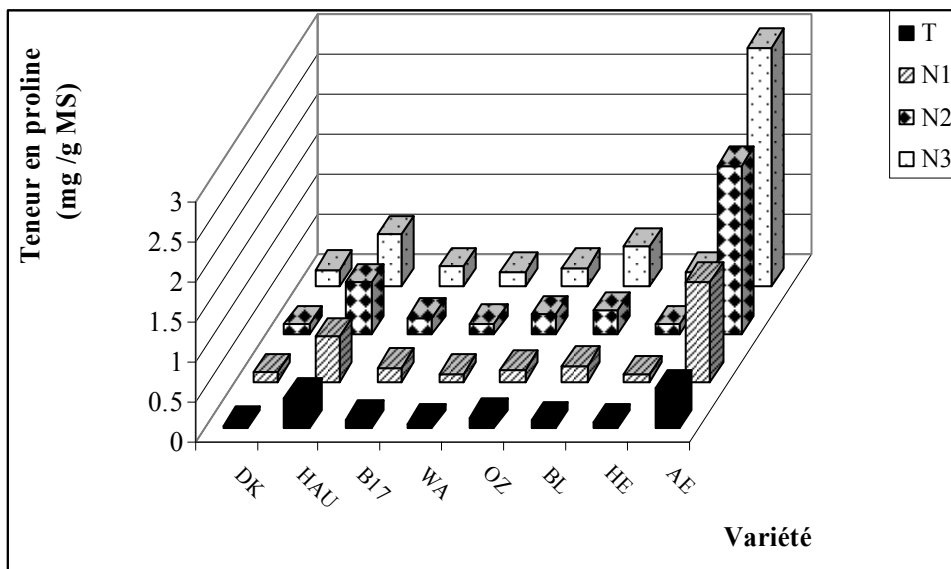


Figure (26): La variation de la teneur en proline (mg/g de matière sèche) en fonction du stress salin chez les différents génotypes étudiés au stade épiaison

II-3-2-La teneur en proline

➤ Stade tallage

D'après l'analyse de variance (annexe IV) à deux facteurs contrôlés (variété, salinité) on a trouvé un effet significatif du stress salin sur la teneur en proline quel que soit le génotype étudié et à l'opposé un effet de la variété quelque soit le degré de stress.

Selon l'intervalle de confiance et la figure (25) la teneur élevée en proline est illustrée chez les génotypes (Haurani, Oued zenati, Aegilops) par contre la teneur faible est correspondante aux génotypes (Djenah khetifa, Hedba).

Aussi une interaction entre le génotype et la salinité a été trouvée, celle-ci qui explique le comportement différent d'un génotype à l'autre vis-à-vis la salinité.

➤ Stade épiaison

Selon l'analyse de variance on a trouvé un effet significatif du stress salin et de variété sur la teneur en proline, selon la figure (26) on a observé que la teneur en proline augmente en fonction de l'intensité du stress quel que soit le génotype étudié, mais la valeur de cette augmentation diffère d'une variété à l'autre, on a montré aussi que la teneur en proline au stade épiaison est globalement supérieure de celle au stade tallage.

La haute teneur en proline dans ce stade comme au stade tallage est préservée aux génotypes Aegilops et Haurani.

II-3-3-La teneur en sucres totaux solubles

➤ Stade tallage

Selon l'analyse de variance (annexe IV) on a trouvé un effet hautement significatif du stress salin et de la variété ($\alpha=1\%$) sur la teneur en sucres totaux solubles chez tous les génotypes de notre travail.

D'après l'intervalle de confiance (annexe IV) on a observé que la teneur en sucres totaux solubles pour les témoins est plus éloignée des autres traitements salins, ceux-ci qui sont trouvés dans un intervalle étroit.

Le stress salin provoque une augmentation des sucres totaux solubles (figure 27) chez tous les génotypes, mais le taux d'augmentation varie d'un génotype à l'autre.

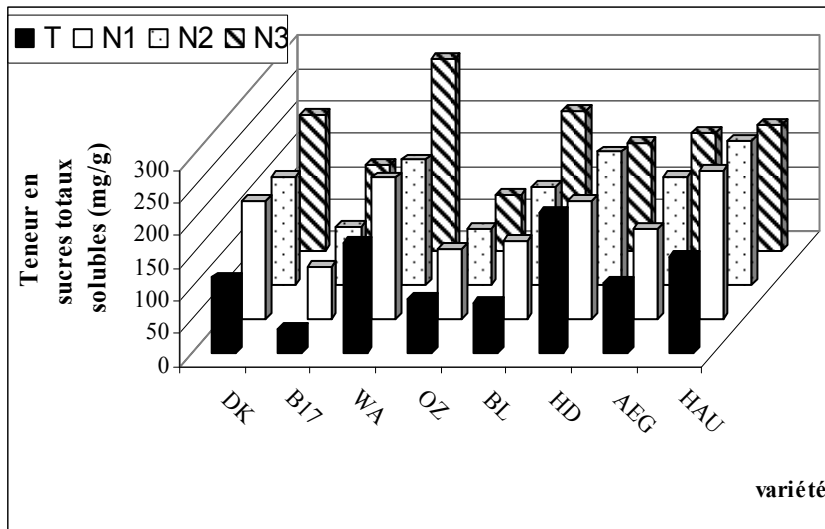


Figure (27) : La variation de la teneur en sucres totaux solubles (mg/g de matière sèche) en fonction du stress salin chez les différents génotypes étudiés au stade tallage

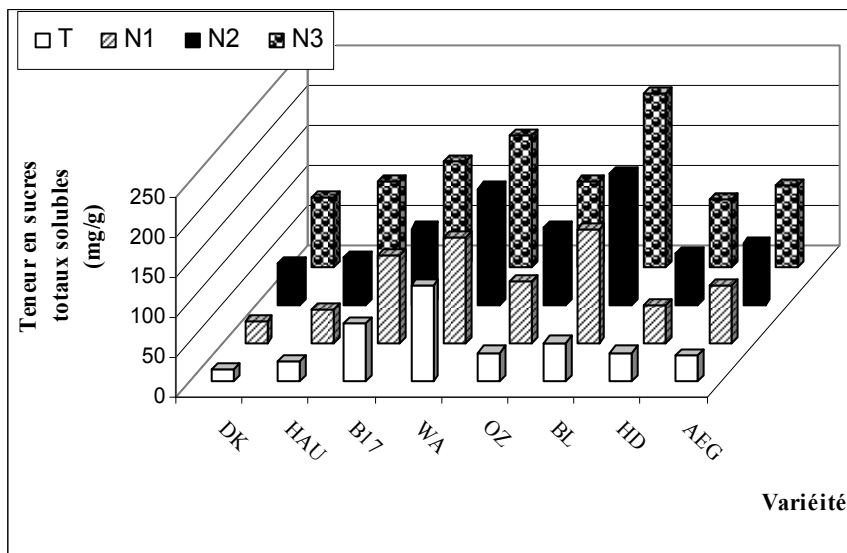


Figure (28): La variation de la teneur en sucres totaux solubles (mg/g de matière sèche) en fonction du stress salin chez les différents génotypes étudiés au stade épiaison

➤ **Stade épiaison**

Comme au stade tallage l'analyse de variance montre un effet significatif de la salinité sur la teneur en sucres totaux solubles chez tous les géotypes étudiés, aussi une interaction entre la salinité et le géotype est observé (annexe IV).

Selon la figure (28) on a observé que le stress stimule l'augmentation des sucres totaux solubles ; mais cette augmentation reste faible en comparaison au stade tallage.

III- Discussion

Globalement on a trouvé dans cette étude que la salinité est néfaste sur la plante entière soit morphologiquement ou physiologiquement et aussi au niveau biochimique (Chorfi. A, 2009).

En effet, la salinité agit sur tous les aspects de la biologie des plantes. Ces effets négatifs du sel sont généralement considérés sous trois aspects :

- L'aspect osmotique qui a eu la prépondérance des études et qui se traduit par une moindre disponibilité en eau pour les plantes.
- L'aspect ionique et la toxicité des ions Na^+ et Cl^- qui ont un effet néfaste sur les structures membranaires.
- Le déséquilibre nutritionnel causé par les quantités excessives de Na^+ et Cl^- et qui empêchent certains ions essentiels tels K^+ que d'être prélevés.

Nous avons traité dans ce chapitre pour les paramètres morphologique, l'effet du stress salin (NaCl) sur la hauteur de la plante, sur la surface foliaire, et sur le taux de croissance relatif, pour deux stades différents de développement, stade tallage et stade épiaison.

Il est apparaît nettement que le sel induit une réduction sur les différents paramètres morphologiques, mais cette diminution reste corrélée avec la concentration en sel, le stade de développement et le géotype en question.

Pour les différents paramètres morphologiques (surface foliaire, hauteur) on a trouvé que les réductions les plus accusées ont été enregistrées durant le stade tallage, ce résultat est accordé avec le résultat de (Bennaceur et al, 2001). Une corrélation positive entre la hauteur et la surface foliaire ($R=0.71$) a été trouvée dans ce travail.

Concernant la croissance, (Taux de croissance relatif) l'effet général de la salinité se traduit par la réduction de la biomasse. Toutefois, le taux de réduction diffère selon le degré de stress salin, le géotype, l'organe et le stade en considération. En effet, la croissance apicale est relativement

plus affectée pour les génotypes (Djenah –Khetifa, Haurani, Bidi) par contre chez l’*Aegilops* le taux de croissance est moins affecté par rapport aux autres variétés de blé dur, la réduction de la biomasse des différentes variétés de blé dur en fonction des traitements salins révèle des réactions variables selon le stade de développement et le paramètre pris en considération. Ainsi, le taux de croissance est généralement considéré comme indice de sensibilité des plantes vis-à-vis au stress, notre étude montre que la concentration 5 g/l de NaCl est insuffisante pour causer une réduction relative de 50 % par rapport aux témoins (seuil très utilisé pour le classement de la tolérance des plantes). Par contre, la concentration 15 g/l de NaCl appliquée durant 15 jours de stress au stade tallage peut être utilisée pour la discrimination entre les génotypes puisqu’elle entraîne des réductions plus marquées (AE 25 % He 50%,BI et HAU 75%, WA et OZ 60%, DK 87.5 %). Ces résultats attestent d’une bonne tolérance au stress salin pour l’espèce apparenté au blé dur (*Aegilops* qui garde un taux de croissance 75% par rapport au témoin). Pour les variétés de blé dur les génotypes (HE, BI, OZ) sont considérés comme des variétés tolérantes Par contre, la variété Djenah Khetifa s’avère être plus sensible vis-à-vis de la salinité.

Le taux de croissance est moins affecté au stade épiaison pour tous les génotypes étudiés car tous les phénomènes sont visés à l’épiaison (les composants du rendement).

Certains chercheurs ont noté que la réduction de la croissance, sous l’effet du stress salin, peut avoir lieu sans signes de toxicité (Levy et Shalhevet1999 ; Walker et al. 1982) quant à eux, suggèrent que la diminution de la croissance (exprimée par la capacité photosynthétique) pourrait être en relation avec une perte de turgescence. Chez *Citrus aurantium*, cette diminution serait principalement due à l’effet osmotique de la salinité (Ruiz et al., 1999 ; Roy .C et al., 2004). Par contre, d’autres études ont montré que la diminution de la turgescence n’est pas la cause de la réduction de la croissance (Fernandez-Ballester et al., 1998 ; Laure Gaufichonet al., al 2010). Ceci concorde avec nos résultats ainsi, on peut exclure que l’effet inhibiteur de NaCl sur leur croissance est basé seulement sur la perturbation de leur alimentation en eau mais celle - ci reste l’une parmi les principales causes de la diminution de croissance.

Selon les résultats de plusieurs recherches (Ali Ben aabed elmouhcn, 2006 ; Fernandez-Ballester et al., 1998 ; Laure Gaufichonet al., al 2010 ; Zaghdoud Choukri et al., 2011) qui sont réalisées au niveau du stress salin sur la croissance végétale on peut citer les principaux effets inhibiteurs de NaCl sur la croissance dans les points suivant :

- La sécheresse physiologique sous l'effet du stress salin (l'absorption insuffisante de l'eau sous l'effet de la concentration élevée en sel qui assure une diminution du potentiel hydrique du sol et à l'autre côté l'augmentation de la transpiration).
- Stress ionique ou toxicité ionique sous l'effet de l'accumulation de certains ions non organique comme Na^+ et Cl^- .
- Le stress de déséquilibre ionique, ou la déficience de la nutrition minérale dans le tissu de la plante.
- Inhibition de l'élongation cellulaire notamment les cellules apicales (Munns et al. ,1982).

Cependant, nous constatons que la diminution de la teneur foliaire en eau n'est pas importante, surtout au stade tallage ; elle devient plus importante au stade de l'épiaison chez toutes les variétés de blé dur et même pour l'espèce apparenté au blé. Ceci indique que la plante utilise divers mécanismes pour résister le stress salin ce résultat est en accord avec le résultats de (Labhilili M et al ., 2002 ; Bissati et al., 2011).

Aussi, le rythme de l'évolution de la teneur relative en eau en fonction du stress salin durant quatre semaines de stress se manifeste une différence variétale entre les différents génotype étudiés, et au niveau de génotype lui-même d'un niveau de stress à l'autre, le génotype résistant à la salinité présente une cinétique de diminution comparable à celle du témoin (Aegilops, Oued Zenati).

La plante vasculaire est toujours placée dans un compromis entre la photosynthèse et la transpiration. Pour élaborer la matière sèche, la plante perd d'une façon concomitante l'eau par la transpiration.

La présence de stomates, ensemble de cellules épidermiques spécialisées délimitant un pore ou ostiole mettant en relation le milieu interne d'un organe végétal et l'atmosphère environnante, est une adaptation à la vie terrestre des végétaux supérieurs permettant la régulation des échanges gazeux de CO_2 et de vapeur d'eau. Actuellement les mécanismes mis en oeuvre à l'échelle des cellules stomatiques pour contrôler l'ouverture des stomates sont bien établis. L'ouverture et la fermeture des stomates dépendent de la différence de pression de turgescence entre les cellules de garde et les cellules voisines (Franks et al 1998, Franks et al 2001 ; Bissati et al., 2011). Les facteurs environnementaux qui induisent cette réponse et la façon dont les cellules stomatiques perçoivent ces signaux restent mal connus (Franks 2003).

L'acide abscisique (ABA) qui est accumulé au niveau des feuilles au moment de la sécheresse a un rôle important pour la fermeture stomatique, une étude sur un mutant de tomate qui est continue sa transpiration et son ouverture de stomate pendant la sécheresse, a été caractérisé par un niveau de ABA foliaire faible, pour éviter le flétrissement les chercheurs ont utilisé une pulvérisation de la plante par l' ABA(Ali Ben Abed ELMouhacen, 2006).

L'ABA accumulé au niveau des cellules gardes empêche la sortie de H^+ et aussi empêche le transfert de K^+ des cellules accompagnées vers les cellules gardes (Masfield et Willown, 1981), ces processus aboutissent à abaisser la pression de turgescence des cellules gardes par rapport à celle des cellules voisines, puis les stomates sont fermés.

Physiologiquement, la diminution de l'absorption de l'eau sous l'effet de la salinité se manifeste par une régulation stomatique dans les feuilles (Clavet, 2000) caractérisée par une diminution de la conductance stomatique (Girona et al., 2002 ; Pervical et al., 1998) qui se fait évidemment aux dépens des autres processus physiologiques comme la photosynthèse (Shagguan et al., 2000). Face à la salinité, les plantes qui tolèrent le manque d'eau, résistent à la sénescence et ajustent leur production aux conditions du milieu. Parmi les génotypes étudiés, on a trouvé que le sel provoque une augmentation de la résistance stomatique quelque soit le génotype, le stade de développement et l'intensité de stress ce résultat en accord avec celui de (Denden et al., 2005), on a montré dans cette étude que la résistance stomatique est plus élevée au stade épiaison que au stade tallage sous l'effet de l'augmentation de la température.

Selon la durée de stress on a observé que la résistance stomatique augmente considérablement dans un premier temps mais dans un deuxième temps elle descend jusqu'à se stabiliser plus bas. Nous trouvons ce phénomène de cinétique stomatique dans les génotypes (OZ, AE, HAU, BL). Par contre chez les autres variétés (DK, WA, BI), la résistance stomatique augmente dans toute la période de stress. En revanche on peut conclure que les génotypes tolérants au stress salin augmentent leur résistance stomatique au début, mais en suite ils abaissent cette résistance à un ordre que permis d'assurer un équilibre entre la pénétration en CO_2 Suffisante pour la photosynthèse et le perd d'eau par la transpiration.

D'un autre coté nous avons trouvé dans cette étude que les génotypes tolérants au sel accumulent au niveau des feuilles une teneur faible en Na^+ (AE, OZ, BI, HAU) en comparant avec ceux qui sont sensible (DK), le même résultat a été trouvé par (Winter E, Lauchli A. 1982 ; Bizid E, Zid E, Grignon C. 1988) et (Parida et Das, 2005; Navarro et Rubio, 2006), ce résultat n'est pas généraliser comme une règle générale, chez les glycophytes, certains (le haricot et le riz en sont des

exemples classiques)restreignent le transport de Na^+ dans les parties aériennes et maintiennent ainsi des niveaux de sel relativement bas dans les tissus photosynthétiques. D'autres, comme le cotonnier ou l'orge, transportent et accumulent de grandes quantités de Na^+ dans leurs feuilles. Ces deux comportements opposés traduisent un paradoxe apparent : en effet, le premier, qui correspond à une protection des organes aériens contre l'envahissement par NaCl , s'observe chez les glycophytes les plus sensibles au sel. Le second, qui autorise l'accumulation de NaCl dans les feuilles, est une caractéristique des espèces les plus résistantes. Ainsi, ce sont les espèces qui paraissent a priori les mieux armées pour protéger leur appareil photosynthétique qui supportent le moins bien l'agression saline.

Le paradoxe se complique encore lorsqu'on compare les variétés dans une même espèce : là, on retrouve l'association que l'on attendait, entre le degré de tolérance et l'aptitude à empêcher Na^+ d'envahir les feuilles. En fait, la clé de cette complexité est qu'il existe deux grands schémas de comportement concernant la distribution de Na^+ dans les plantes, permettant de classer les espèces. A ce niveau (interspécifique), la situation est simple. Les espèces incapables de transporter facilement Na^+ dans leurs feuilles sont nettement plus sensibles que les autres, car leur inaptitude à exporter Na^+ est probablement moins un caractère protecteur que le reflet d'une déficience des systèmes de compartimentation cellulaire (Slama F. 1982 ; (Martinez et al.,2007 ; Hamrouni L et al., 2011). En effet, ces espèces semblent peu efficaces pour abaisser le niveau cytoplasmique de Na^+ . Mais l'incapacité à débarrasser le cytoplasme de Na^+ a pour conséquence que cet ion est facilement transporté dans le phloème chez ces plantes (Maas EV, Hoffman GJ. 1977) et (Martinez et al., 2007). Il est donc continuellement ramené vers le bas de la plante, ce qui se traduit par le comportement classique d'exclusion. Ce système n'est évidemment efficace que si le niveau de salinité du sol reste faible. Mais tant que cette condition est respectée, la tolérance au sel est d'autant meilleure que moins de Na^+ est exporté vers les parties aériennes. C'est la raison pour laquelle, à l'intérieur d'une espèce construite sur ce modèle, les comparaisons variétales montrent que les meilleures tolérances correspondent aux géotypes qui confèrent au système racinaire une bonne efficacité pour limiter l'accès de Na^+ aux feuilles.

La seconde catégorie d'espèces (dites includers) associe la résistance à la salinité et l'aptitude à transporter de grandes quantités de NaCl dans les feuilles. Il semble que ces comportements résultent d'une bonne compartimentation cellulaire de Na^+ , ce qui explique la tolérance à l'accumulation foliaire, et aussi la faible conduction de cet ion dans le phloème.

Mais ce schéma de tolérance suppose évidemment un contrôle des quantités accumulées dans les feuilles, qui ne doivent pas perturber l'équilibre osmotique. Ceci explique que dans une

espèce inclure les variétés les plus tolérantes soient celles qui sont les plus aptes à contrôler le transport de NaCl dans les parenchymes assimilateur.

En résumé, la corrélation positive ou négative entre la teneur des feuilles en Na^+ et la résistance de la plante au sel permet de considérer la teneur foliaire en Na^+ comme un bon critère de tolérance à la salinité, à la condition de distinguer les comparaisons interspécifiques (corrélation positive) et variétales (corrélation négative) (Cuin et al., 2008 ; Hamrouni L et al., 2011).

Cependant, cette relation n'est pas stricte, en raison de l'interaction entre la vitesse de croissance des tissus et leur vitesse d'absorption de Na^+ . Par ailleurs, la compartimentation de ce cation, à l'échelle de la cellule, de tissu ou de la plante entière, empêche toute corrélation simple entre la teneur moyenne en Na^+ , la réduction de croissance et l'apparition de symptômes de toxicité par le sel (Denden et al., 2008).

La relation entre la teneur moyenne en Na^+ dans les feuilles et la performance sur sel ne peut donc avoir qu'une valeur prévisionnelle pour les dommages que peut causer l'accumulation de Na^+ dans les parties aériennes des glycophytes sensibles à ce cation.

A l'interface racine/sol, l'excès de sel peut limiter l'approvisionnement de la plante en macroéléments essentiels tels que K^+ . Mais, la capacité d'absorption ionique, déterminée génétiquement, diffère considérablement avec les espèces et les variétés (Tuna et al., 2008).

Dans notre travail le sel induit une diminution de la teneur foliaire en K^+ quelque soit le génotype, mais la différence observable concernant le taux de diminution qui est diffère d'un génotype à l'autre et même au sein de même génotype d'un niveau de stress à l'autre

La corrélation entre la teneur foliaire en K^+ et celle en Na^+ nous a permis de conclure que l'utilisation d'un rapport entre les deux ions est plus fiables pour classer les génotypes selon leur degré de résistance à la salinité.

Les rapports K^+/Na^+ montrent que l'espèce apparenté au blé (*Aegilops*) tolère mieux la salinité. Les variétés qui présentent les rapports les plus élevés sont les plus tolérantes et les plus sensibles présentent les rapports K^+/Na^+ les plus faibles. Chez de nombreuses espèces du genre *Triticum*, l'exclusion foliaire du Na^+ due à la limitation de sa translocation des racines vers les parties aériennes et la sélectivité K^+/Na^+ des feuilles apparaissent comme des mécanismes de tolérance au sel et constituent d'excellents critères de sélection variétale (Yanhai Zheng et al.,2008).

L'accumulation de la proline, induite par les stress, peut être le résultat de trois processus complémentaires : stimulation de sa synthèse (Morris et al., 1969 ; Boggess et al.,

1976), inhibition de son oxydation (Stewart et al. 1977 ; Rayapati et Stewart, 1991) et/ou altération de la biosynthèse des protéines (Stewart et al., 1977).

La proline serait synthétisée à partir de l'acide glutamique via l'acide 5 carboxylique pyrroline (P5C) mais également via l'arginine et l'ornithine (Lignowski et Slittstoesser, 1971) (Planche 2).

L'accumulation de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress (salin, hydriques, thermiques) (Blum et Ebercon, 1976 ; Huang et Cavalieri, 1979 ; Hubac et Viera Da Silva, 1980 ; Dorfling et Askman, 1989 ; Ober et Sharp, 1994 ; Gamal . M et al., 2012). Certains auteurs (Singh et al., 1973) et (Grennan, 2006) pensent que les quantités accumulées pourraient être liées au niveau de tolérance aux stress. La proline accumulée pourrait jouer un rôle d'osmoticum (Stewart et Lee, 1974 ; Kauss, 1977). Elle pourrait, également, intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique ou constituer une réserve d'azote utilisée par la plante postérieurement à la période de stress (Tal et Rosenthal, 1979).

Dans notre travail le stress provoque une augmentation de la teneur en proline, mais le taux d'augmentation reste corrélé avec le génotype, le même résultat est trouvé par (Grennan, 2006 ; Luyan Raphaë., 2012), les teneurs les plus élevées sont enregistrées chez les génotypes (AE, OZ, HAU).

On a trouvé aussi dans cette étude que la teneur en proline diffère selon le stade de développement (Morant-Manceau et al, 2004 ; Djerroudi Zidane et al., 2010), nos résultats suggèrent que la teneur en proline plus élevée durant le stade tallage que le stade épiaison, parallèlement à cette augmentation de la teneur en proline foliaire sous l'effet du stress, une baisse dans les teneurs en pigments chlorophylliens totaux a été, en revanche, enregistrée (annexe IV). Cette diminution est plus marquée chez les génotypes qui ont des teneurs élevées en proline par rapport à celles qui ont des teneurs en proline faibles. Les résultats illustrés dans ce travail montrent une certaine proportionnalité, mais inverse, entre les teneurs en proline accumulées et les teneurs en pigments chlorophylliens perdues par chacun des génotypes étudiés, la variété qui accumule plus de proline présente une forte diminution de ses teneurs en pigments chlorophylliens et vice versa. Ces résultats suggèrent l'existence d'une corrélation vraisemblable entre les voies de biosynthèse des pigments chlorophylliens et de la proline (Yaung . J et al., 2002)(Planche 2). Une compétition entre ces deux composés sur leur précurseur commun, le glutamate, peut être à l'origine de cette évolution (Bengston et al., 1978 ; Reddy et Veeranjaneyulu, 1991 ; Chokri et al, 2011)et (Morant-Manceau et al, 2004 ; Luyan Raphaë., 2012).

Les Sucres totaux solubles ont aussi connus une augmentation de la concentration en repense au stress salin pour tous les génotypes étudiés, mais cette augmentation est différente d'un génotype à l'autre selon leur réaction vis- à -vis la salinité ce résultat en accord avec celui de (Zerrad W et al.,2006) et (Ottow et al, 2005) ;

Les sucres sont considérés par plusieurs auteurs comme de bons osmorégulateurs [Kameli A, Lösel DM ,1995 ; Manzanares et al, 1998) qui peuvent jouer un rôle important dans l'ajustement osmotique et l'adaptation des plantes au stress osmotique (Morgan JM,1984 ; Zhang et al.,1984 ; Gamal M et al., 2012).

En effet les sucres, même s'ils représentent des osmotocums beaucoup moins puissant, ils participent eux également au maintien de la balance de la force osmotique pour garder la turgescence et le volume cytosolique aussi élevés que possible (Bouzoubaa et al.,2001), et permettent également une préservation de l'intégrité membranaire dans les organes stressés ainsi que une protection des protéines (Darbyshire,1974 ; P .Ge . C. Ma et al 2012).

Il est possible que ces modifications dans les teneurs en sucres, induites par le sel, constituent un test commode de prédiction de la résistance au sel des espèces au niveau variétal.

IV- Conclusion

Plusieurs paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques ont été étudiés chez sept variétés de blé dur et une espèce apparenté au blé dur (*Aegilops*) cultivés sous des conditions de stress salin, en prenant la croissance comme indicateur, les résultats obtenus ont montré que l'aegilops est une espèce résistante au stress salin, en comparant avec les autres variétés de blé dur, on peut conclure que la résistance à la salinité est liée à la capacité d'une variété de développer un nombre élevé de mécanismes d'adaptation et non pas à la présence d'un mécanisme donnée le même résultat trouvé par (Hayek et al.,2002) .

La tolérance à la salinité est un phénomène complexe, faisant intervenir, face à la pression erratique des contraintes environnementales, de nombreux mécanismes interactifs, et à déterminisme génétique complexe. Face à cette réalité, l'amélioration génétique de la tolérance à la salinité ne peut se contenter ni d'une amélioration empirique, ni d'une

introduction « à l'aveugle » de caractères de tolérance chez des géotypes productifs. La stratégie à mettre en œuvre dans une telle situation nous semble devoir prendre en compte plusieurs niveaux d'intégration, en définissant pour chacun d'eux un objectif spécifique; la description du comportement global dans des milieux donnés, la caractérisation physiologique, l'analyse génétique des caractères, et la recherche de marqueurs pour ces caractères apparaissent ainsi comme autant de maillons dans une chaîne faisant intervenir des connaissances et compétences en matière de physiologie, génétique, et biologie moléculaire.

Chapitre 0: La réponse cellulaire du blé dur à la salinité

I- Introduction

La tolérance à la salinité est un phénomène complexe, faisant intervenir de nombreux mécanismes interagissant entre eux, et à déterminisme génétique complexe. Face à cette réalité, l'amélioration génétique de la tolérance à la salinité devrait se concevoir selon une stratégie qui valorise les apports potentiels des différentes disciplines (génétique, physiologie, biotechnologies...) et qui prend en compte plusieurs niveaux d'intégration.

Le Blé est essentiellement amélioré par des méthodes traditionnelles (Doussinault , 1995) qui restent longues et onéreuses. L'obtention de cals par culture *in vitro* permet une augmentation de la variabilité et peut être suivie d'une régénération et d'un taux élevé de multiplication Özgen et al., 1996).

La culture *in vitro*, en permettant de contrôler de manière précise les conditions du milieu et de cribler rapidement un grand nombre de cellules dans un espace réduit, représente une approche privilégiée pour la mise en oeuvre de tests de sélection applicables au niveau cellulaire. Ces critères peuvent cependant conduire à une vue partielle et réductionniste du comportement de la plante, en dissociant les mécanismes biochimiques élémentaires des fonctions globales.

L'objectif de cette partie de ce travail est d'analyser le comportement du blé dur sous l'effet d'un stress salin, comparativement au niveau cellulaire (cals) et au niveau de la plante entière (feuille). Différents paramètres [poids frais (PF), teneur en eau (TE) et la teneur en proline et en sucres solubles ont été évalués après un stress induit par le NaCl et après une phase de récupération chez 7 variétés de blé dur différentes par leur niveau de résistance à la salinité.

II- Résultats

II-1- Le poids frais (en % du témoin) :

❖ Au niveau des cals

D'après l'analyse de variance à deux facteurs (annexe V) on a trouvé que la salinité a un effet hautement significatif sur le poids frais des cals quelque soit la variété étudiée, et aussi des différences sont observées d'une variété à l'autre quelque soit le degré de sel.

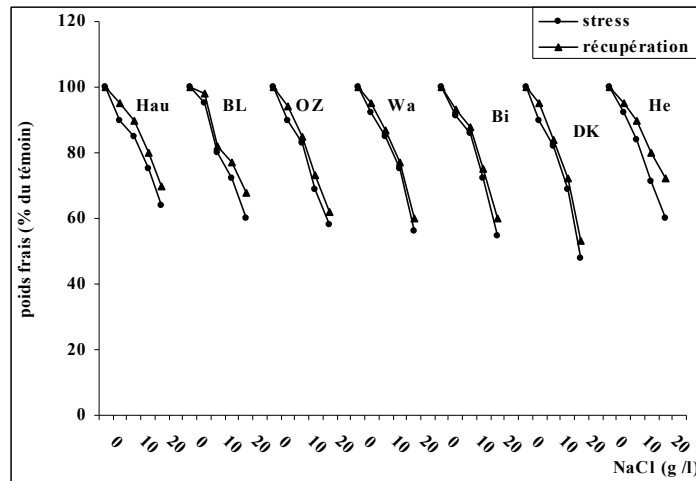


Figure (29) : Evolution du poids frais (% du témoin) des cals de différentes variétés de blé dur après un stress salin et une période de récupération

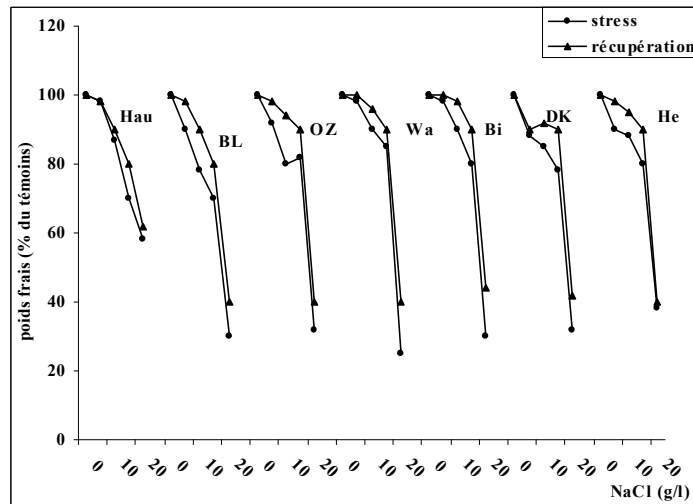


Figure (30): Evolution du poids frais (% du témoin) des feuilles de différentes variétés de blé dur après un stress salin et une période de récupération

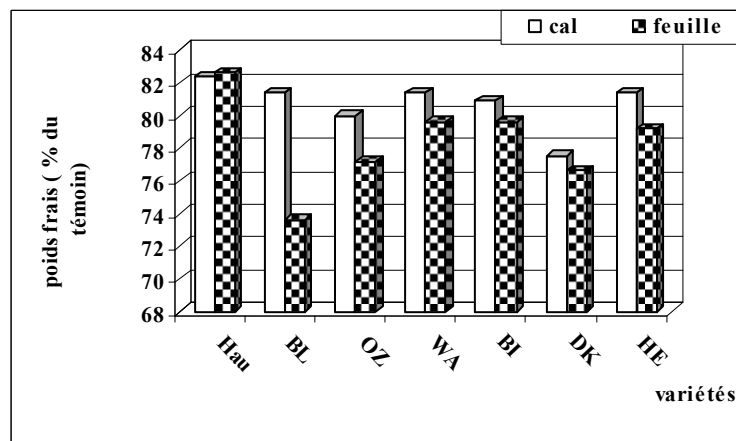


Figure (31) : Comparaison de poids frais (%du témoins) entre les cals et les feuilles de différentes variétés de blé dur

Le poids frais est augmenté à la période de récupération (Figure 29) mais cette augmentation reste plus loin par rapport aux témoins et corrélée avec la variété et la concentration en NaCl.

L'intervalle de confiance (annexe V) nous a permis de classer les variétés en deux extrêmes Haurani et Hedba (87.00, 87.4%) portent un poids élevé par contre Djenah khetifa présente le poids le plus faible (80.80 %).on a trouvé aussi une corrélation positive entre la réaction variétale durant la période de stress salin et celle à la période de récupération, la variété qui est moins affectée par le sel durant la phase de stress récupère plus l'eau au phase récupération

❖ **Au niveau des feuilles**

Selon l'analyse de variance à deux facteurs (annexe V) on a observé que le stress salin induit une diminution du poids frais des feuilles quelques soit la variété en question, au même échelle des différences significatives sont trouvée d'une variété à l'autre quelque soit l'intensité de sel.

D'après la figure (30) une augmentation du poids à la période de récupération est observée chez toutes les variétés étudiées mais cette augmentation n'atteint jamais au poids frais des témoins.

Cependant, le taux d'augmentation diffère d'une variété à l'autre (annexe V) selon le degré de tolérance, le poids frais le plus élevé est correspondant aux variétés Haurani et Bidi à l'opposé, les deux variétés Djenah khetifa et Oued zenati renferment le poids frais le plus faible.

❖ **Comparaison entre cal et feuille**

Parmi les résultats qui nous avons trouvé dans cette étude (annexe V), il n y a pas des différences significatives entre le poids frais au niveau des cals et celui au niveau des feuilles quelque soit la variété étudiée (figure 31).

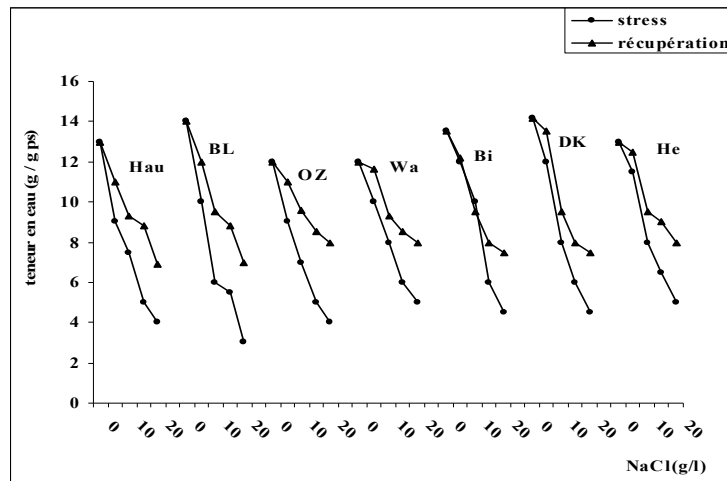


Figure (32) : Evolution de la teneur en eau (g/ g ps) des cals de différentes variétés de blé dur après un stress salin et une période de récupération

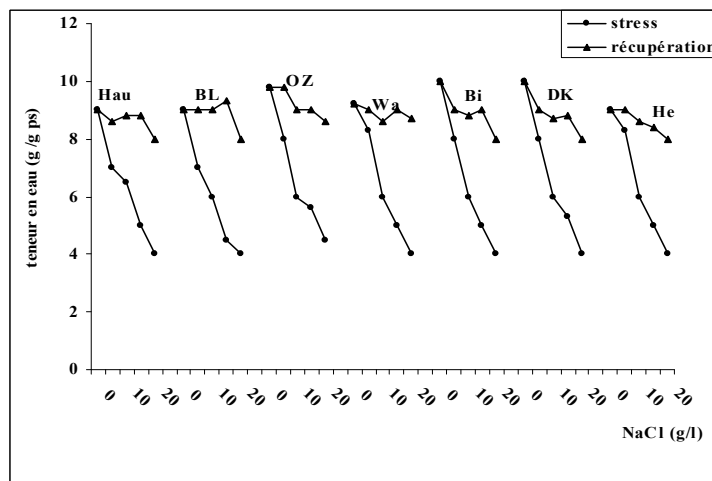


Figure (33) : Evolution de la teneur en eau (g/ g ps) des feuilles de différentes variétés de blé dur après un stress salin et une période de récupération

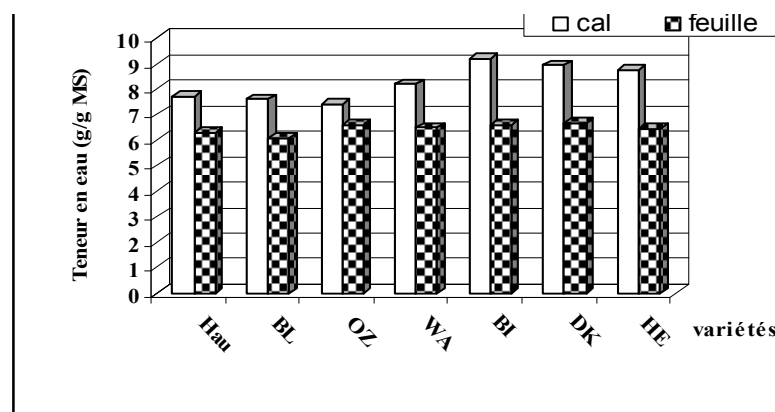


Figure (34) : La différence de la teneur en eau entre cal et feuille de différentes variétés de blé dur.

II-2- Teneur en eau (g/gde poids sec)

❖ Au niveau des cals

La salinité provoque au niveau des cals une diminution importante de la teneur en eau (annexe V) quelque soit la variété étudiée et même des différences sont détectées.

A la période de récupération on a observé (Figure 32) un recouvrement élevé de la teneur en eau chez les variétés Oued Zenati et Haurani par contre chez les variétés Djenah khetifa et Bidi le rythme et le taux d'augmentation sont lents en fonction de l'intensité saline.

❖ Au niveau des feuilles

La teneur en eau est affectée par la salinité au niveau des feuilles (annexe V) chez les différentes variétés étudiées néanmoins pour les concentrations élevées de sel (15 et 20 g/l).

D'après la Figure (33) on a observé que l'augmentation de la teneur en eau à la période de récupération est différente d'une variété à l'autre, nous avons trouvé chez les variétés Haurani, Blikhe, Oued zenati l'augmentation de la teneur en eau est proche à celle de témoins pour les trois premiers niveaux du stress à l'opposé des variétés Djenah khetifa et Bidi qui sont présentées par une faible récupération de la teneur en eau.

❖ Comparaison entre cal et feuille

Selon nos résultats (Annexe V), on a trouvé qu'il existe un effet significatif de l'organe pour la teneur en eau avec une similarité de la réponse variétale (figure 34), L'intervalle de confiance nous a permis de détecter que la teneur en eau est moins diminuée au niveau des cals par rapport aux feuilles.

II-3- La teneur en sucres totaux solubles

❖ Au niveau des cals

Selon l'analyse de variance à deux facteurs (annexe V) on a observé un effet significatif de la salinité sur la teneur en sucres totaux solubles quelque soit la variété étudiée.

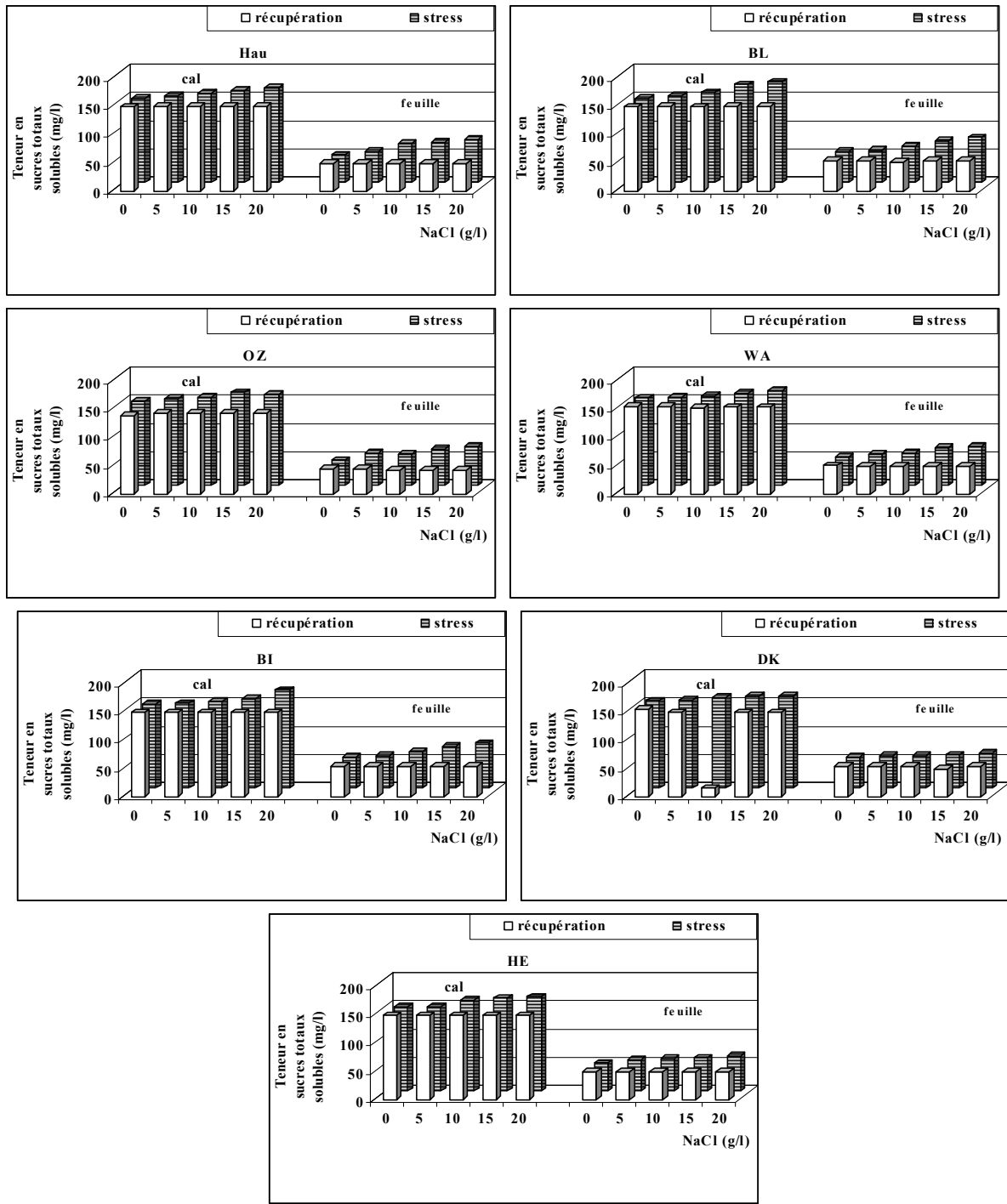


Figure (35): Evolution de la teneur en sucres totaux solubles (mg/l) au niveau des cals et des feuilles de différentes variétés de blé dur après un stress salin et une période de récupération

Le sel au niveau des cals induit une augmentation des sucres totaux solubles d'une façon ascendant selon la concentration en NaCl (figure 35),selon l'intervalle de confiance (annexe V), les variétés, Blikhe, Waha, Djenah Khetif, possèdent la teneur la plus élevée en sucres totaux solubles en contrepartie, la variété Oued Zenati a une teneur faible en sucres totaux solubles.

A la période de récupération on a trouvé que la teneur en sucres totaux solubles est diminuée par rapport à celle stressé mais cette teneur en sucres ont tendance à être supérieures à celles des témoins, principalement après une exposition préalable au sel à quatrième niveau du stress (20 g/l).

❖ **Au niveau des feuilles**

Au niveau des feuilles le sel induit aussi une augmentation de la teneur en sucres totaux solubles chez toute les variétés de notre essai, en revanche une variabilité génétique est observée entre les différents génotypes étudiés, la variété Bidi et Blikhe présentent la teneur en sucres la plus élevée (70 mg/g MS) à l'inverse la variété Oued Zenati et Hedba sont correspondante à la teneur en sucres la plus faible (57.60 mg /g de MS, 59 mg/g de MS respectivement)

A la période de récupération on a trouvé une diminution de la teneur en sucres totaux solubles quelque soit la variété et le degré de sel jusqu'au seuil de témoins (figure35).

II-4- La teneur en proline

❖ **Au niveau des cals**

L'analyse de variance à deux facteurs (annexe V) nous a montré que le sel provoque une augmentation hautement significative ($\alpha= 1\%$) de la teneur en proline, et même une différence variétale significative est observée, les variétés Blikhes et Bidi ont la teneur la plus élevée en proline par contre Djenah khetifa possède la teneur en proline la plus faible.

A la période de récupération la teneur en proline est diminuée chez toutes les variétés étudiées et atteint à celle du témoin pour les premiers niveaux de stress.

❖ **Au niveau des feuilles**

Au niveau des feuilles le sel excite une augmentation hautement significative ($\alpha= 1\%$) en proline en fonction de l'intensité de stress, globalement les variétés Blikhe et Haurani sont

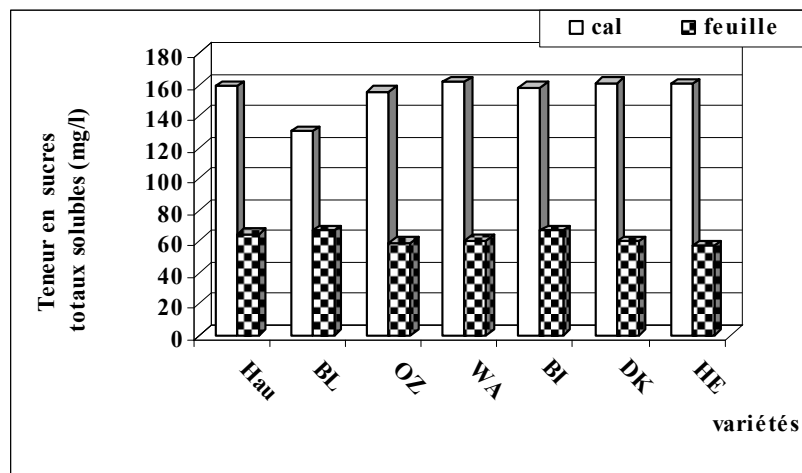


Figure (36) : Comparaison des sucres totaux solubles accumulés au niveau des cals et des feuilles des différentes variétés de blé dur.

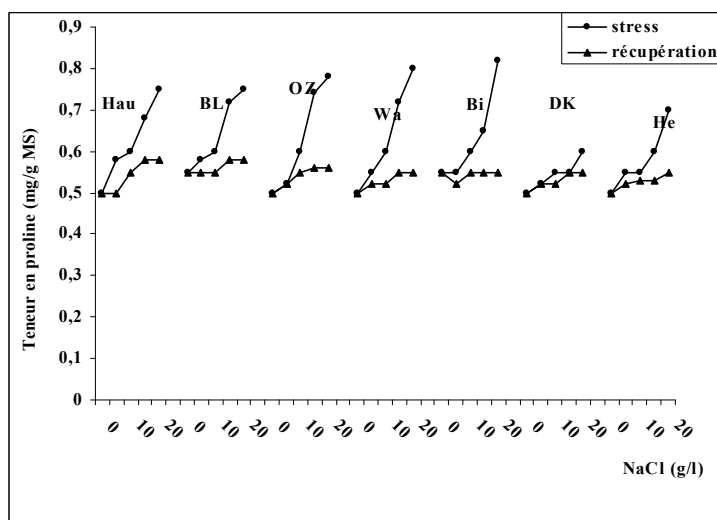


Figure (37) : Evolution de la teneur en proline (mg/ g MS) des cals de différentes variétés de blé dur après un stress salin et une période de récupération

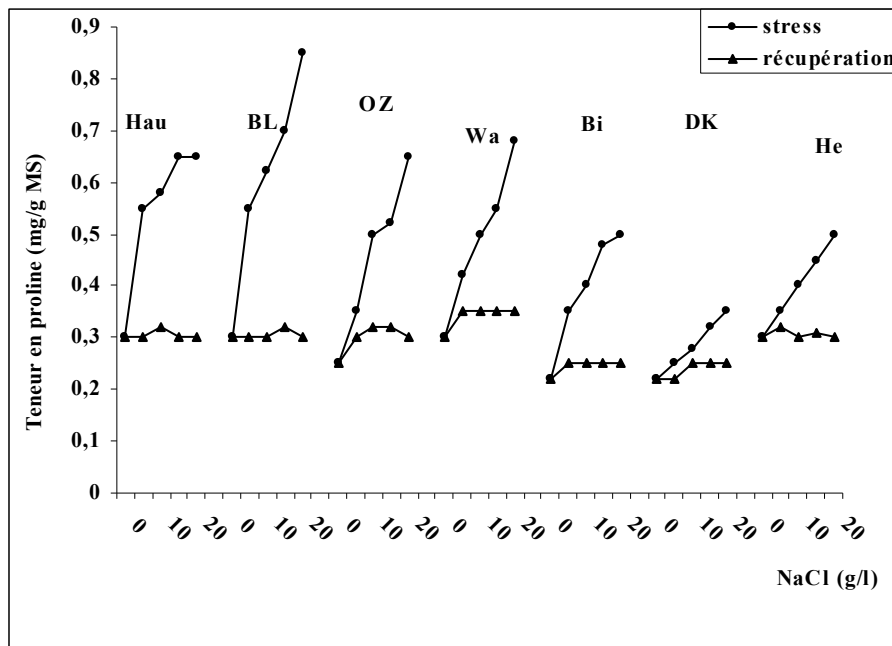


Figure (38) : Evolution de la teneur en proline (mg/ g MS) des feuilles de différentes variétés de blé dur après un stress salin et une période de récupération

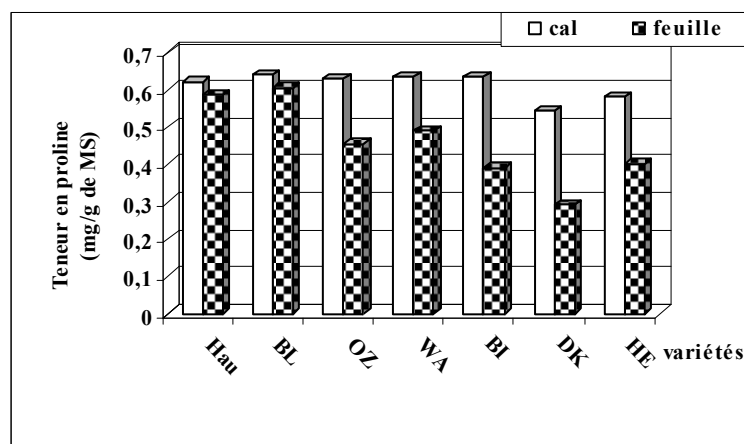


Figure (39) : Comparaison de la teneur en proline (mg/ g MS) entre les cals et les des feuilles de différentes variétés de blé dur

caractérisées par une teneur élevée en proline (figure 38), de l'autre côté Djenah khetifa présente la teneur en proline la plus faible.

A la période de récupération la teneur en proline est diminuée chez toutes les variétés étudiées et a été semblable à celle de témoin.

II-5- La corrélation entre les paramètres étudiés

Selon la matrice de corrélation (annexe V) on a trouvé que le poids frais au niveau des cals est hautement corrélé à celui des feuilles ($r = 0.92$), pour la teneur en eau le comportement au niveau des cals est corrélé à celui des feuilles quel que soit la variété étudiée ($r = 0.83$) en revanche une corrélation négative est trouvée entre la teneur en eau et la teneur en proline soit au niveau des cals, ou au niveau des feuilles, d'un autre côté la teneur en sucres totaux solubles au niveau des cals est corrélée à celle au niveau des feuilles ($r=0.773$), aussi une corrélation positive est observée entre les sucres totaux solubles et la teneur en proline au niveau des cals.

III- Discussion

En générale le stress salin provoque des changements morphologiques, physiologiques et métabolique soit au niveau cellulaire ou au niveau de la plante entière, pour le poids frais on a trouvé dans cette étude que le comportement cellulaire est cohérent à celui des feuilles à l'inverse des résultats qui ont été trouvés par (Simane et al 1993; Ali dib et al., 1994).

Le stress salin réduit de manière importante la teneur en eau des cals et des tissus de la plante entière, la réduction est d'autant plus marquée que la concentration en sel dans le milieu est élevée. Une corrélation positive est trouvée entre le comportement cellulaire et celui de la feuille, ce résultat en accord avec celui de (Houshmand S et al., 2005).

Ce fait suggère qu'un mécanisme de résistance, opérant au niveau cellulaire, pourrait être impliqué, du moins en partie, dans la résistance au stress salin au niveau de la plante entière chez le blé dur (Bajji et al., 1999).

Les cals ont des concentrations en sucres solubles plus élevées que la plante entière, ce fait est vraisemblablement dû à la présence de saccharose en concentration élevée dans le milieu de culture in vitro (Lutts S et al., 2004).

Au niveau des cals, on a observé une augmentation successive des sucres en fonction de l'intensité de stress salin, le même résultat est obtenu par (Lutts S et al., 2004), pour cette raison une tendance claire se dégage quant à l'effet du sel sur l'évolution des concentrations en sucres, par contre (Bajji, 1999) a trouvé des résultat opposés de nos résultats et a conclut que l'accumulation des sucres totaux solubles pourrait être la conséquence indirecte d'un effet du stress plus marqué sur la croissance des plantes que sur leur activité photosynthétique. Concernant. L'accumulation de sucres solubles au niveau de la plante entière, notamment de sa partie foliaire a également été observée par Kameli et Lösel (1995) et Rekika et al. (1998). Le fait qu'elle se produise dans les cals suggère qu'elle pourrait constituer une stratégie spécifique de résistance à la salinité chez le blé dur, tout en contribuant cependant à la résistance de la plante.

La proline est accumulée progressivement au niveau cellulaire (cals) en fonction de l'intensité saline mais avec une concentration plus élevée par rapport à la plante entière ce résultats est confirmé par (Lutts S et al.,2004 ;). La haute corrélation entre l'accumulation de proline au niveau cellulaire et au niveau de la plante entière nous a permis de conclure que la proline est considéré parmi les composantes principales d'ajustement osmotique.

IV- Conclusion

Dans la présente étude, nous avons exploité les possibilités offertes par les techniques de culture in vitro préciser, à l'échelle cellulaire et au niveau de la plante entière, le comportement du blé dur en conditions de stress salin. L'existence d'une composante cellulaire de la résistance à ce stress a été mise en évidence. La prise en compte des résultats obtenus à la fois aux niveaux cellulaire et de la plante entière apparaît nécessaire pour une meilleure compréhension de la complexité des mécanismes permettant à la plante de résister au stress et constitue à nos yeux une stratégie essentielle dans ce type d'étude (Bajji et al., 1999). Parmi nos résultats on a trouvé toujours que la réaction cellulaire vis- à vis la salinité plus grande que celle chez la plante entière, cette réponse cellulaire nous a permis de conclure que l'adition de NaCl et l'emploi des techniques de culture in vitro s'est avéré efficace pour isoler des lignées cellulaires tolérantes à la salinité.

Chapitre 09: L'haplodiploïdisation chez le blé dur

I- Introduction

Un haploïde doublé est défini comme étant une plante possédant un stock chromosomique hérité d'une seule cellule haploïde (Kimber et Riley 1963). Le doublement du nombre de chromosomes permet l'obtention de plantes diploïdes et homozygotes pour l'ensemble de leur génome. L'utilisation d'HD a de nombreuses applications aujourd'hui, notamment chez les céréales (Pickering et Devaux 1992 ; Devaux *et al.* 1996). Les plantes obtenues sont homozygotes, donc leur génotype et leur phénotype se confondent. Les plantes haploïdes peuvent exprimer des caractères récessifs, dont l'expression est habituellement masquée par l'hétérozygotie, et présenter de nouveaux phénotypes (Horlow et al. 1992 ; Kicherer et al. 2000). De plus, les caractères d'intérêt sont fixés dès la première génération puisque les plantes HD présentent un génome homozygote pour tous les caractères (Powell et al. 1992).

L'avantage le plus important de l'haplodiploïdisation est le gain de temps (Touraev *et al.* 2001 ; Thomas *et al.* 2003). Chez les céréales, la production de semences à partir d'haploïdes doublés est possible en quelques mois (Pickering et Devaux 1992), alors que les méthodes de sélections généalogiques classiques nécessitent sept à huit ans de sélection pour disposer d'une lignée pure homozygote.

L'haplodiploïdisation est donc une technique rapide de production de lignées pures, réalisée en une seule étape au lieu de plusieurs générations (Thomas et al. 2003 ; Lian et al., 2010). Elle facilite la sélection et permet d'observer l'expression aussi bien des gènes récessifs que des gènes dominants.

Tous les travaux menés sur l'haplodiploïdisation font apparaître que la réussite de cette technique est multifactorielle. Dans ce chapitre nous récapitulons les différentes étapes de l'obtention des haploïdes doublés par la méthode de croisement intergénérique entre blé dur × Maïs et blé dur × orge sauvage et proposons le protocole qui semble le mieux adapté à cette technique pour le blé dur.

II- Résultats

II-1-Comparaison des réponses de 7 géotypes de blé dur pollinisés par *H.bulbosum* et par le maïs

❖ Effet des géotypes parentaux maïs et orge sauvage

D'après l'analyse de variance (annexe VI) et le tableau (8) on a observé un effet significatif de géotype mâle (orge, maïs) sur le pourcentage de nouaison, et même celui-ci est varié d'un parent mâle à l'autre pour l'orge sauvage le taux de nouaison est 25.6 % et celui de maïs est de 40.5%.

En revanche pour l'embryogenèse l'analyse de variance (annexe VI) (tableau 8) montre un effet significatif de pollinisateur sur le nombre des embryons formés et une différence significative entre les différentes variétés de blé dur au sein de même pollinisateur.

Pour le pollinisateur *H.bulbosum* on a trouvé un pourcentage élevé de nouaison avec aucune formation des embryons, ce résultat montre que la nouaison ne confirme jamais la vraie formation des embryons, mais cette nouaison est apparaît sous l'effet des hormones utilisées durant et après la pollinisation.

Donc l'obtention des embryons lors de nos croisements nous a permis de révéler l'absence d'incompatibilité entre les différentes variétés de blé dur et de maïs.

❖ Effet des géotypes parentaux lors du croisement blé dur × maïs

7 variétés de blé dur ont été croisées avec 2 cultivars de maïs (tableau 9). L'influence de géotype de blé dur sur le pourcentage de nouaison est statistiquement significative, ces résultats d'une façon générale sont forcément en corrélation avec ceux d'embryons ($r=0.71\%$) (Figure 39) malgré on a observé dans cette étude une exception ; en titre d'exemple la variété Hedba montre un pourcentage élevé de nouaison (70 %) par contre le nombre des embryons formés est faible (15 embryon).

Les différences entre les géotypes de blé dur en termes d'embryons formés sont également significatives.

Tableau (8) : Comparaison des croisements intergénériques blé dur × *H.bulbosum* et blé dur × *Zea mays* :

Blé dur	NFP		N%**		NE**		NE/N%*		NPV**		NPV/N%*	
	H.b	Zm	H.b	Zm	Hb	Zm	Hb	Zm	Hb	Zm	Hb	Zm
Oued zenati	350	200	25	49 c	0	19 d	0	19.38 e	0	10 e	0	10.20 e
Bidi 17	250	98	32	54 d	0	22 e	0	41.57 g	0	8 d	0	15.11 d
Hedba3	120	220	50	70 e	0	15 c	0	9.74 c	0	2 b	0	1,3 c
Djenah-khetifa	95	52	23	15 a	0	2 a	0	25.64 f	0	0 a	0	0 a
Belikhe2	100	190	15	28 b	0	3 a	0	13.04 d	0	2 b	0	3.75 b
Haurani	126	188	22	42.5 c	0	5 b	0	6.25 b	0	4 c	0	5 b
Waha	210	340	12	25 b	0	1 a	0	1.17 a	0	1 a	0	4.31 b

Les génotypes qui prennent la même lettre sont compris dans le même groupe selon l'intervalle de confiance ($\alpha=0,05$)

*désigne que la différence est significative entre les différents génotypes par $\alpha=0,05$

** par $\alpha=0,001$

NFP : Nombre des fleurs pollinisées

N% : pourcentage de nouaison

NE : nombre d'embryons

NE/N : le rapport entre le nombre d'embryons formés et la nouaison

NPV : nombre des plantes vertes

NPV/N : le rapport entre le nombre des plantes vertes obtenues et la nouaison

Tableau (9): Croisement intergénérique entre génotypes de blé dur et de maïs

maïs	Blé dur	NFP	N%*	NE	NPV*
Guich	Oued Zenati	100	29	10	6
	Bidi 17	48	32	18	5
	Hedba 03	110	35	10	2
	Djenah-Khetifa	26	10	2	0
	Belikhe 2	95	18	2	2
	Haurani	94	32.5	5	3
	Waha	170	18.5	0	1
Elabdia	Oued Zenati	100	20	9	4
	Bidi 17	48	24	4	3
	Hedba 03	110	35	5	0
	Djenah-Khetifa	26	5	0	0
	Belikhe 2	95	10	1	0
	Haurani	94	10	0	1
	Waha	170	6.5	1	0

La valeur de Fisher est 0,013 pour N%, 0,086 pour NE, 0,001 pour NPV

*désigne que la différence entre les différents génotypes est significative pour $\alpha=0,05$

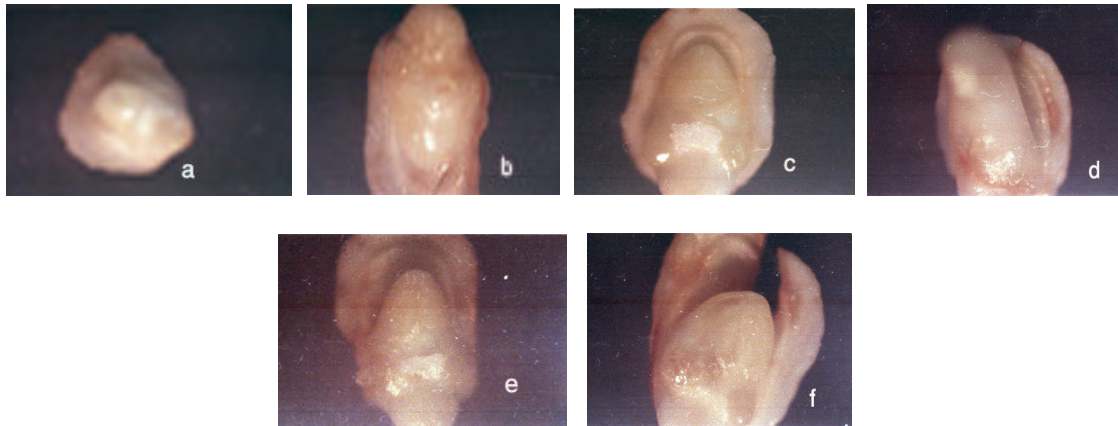


Photo (5) : Les différents embryons trouvés par croisement maïs blé dur (a): Haurani,(b) : Blikhe, c :Djenah khetifa, d : Oued zenti, e : Waha, f : Bidi



Photo (6) : Les différents stades de germination des embryons de blé dur misent en culture dans le milieu B5
1 : début de germination après une semaine
2 : apparition des ébauches racinaire et du coléoptile après 12 jours.
3 : développement des racines et du coléoptile après 21 jours



Photo (7) : Les plantes Haploïdes obtenues par la régénération des embryons germés.
Wa : Waha ; Hau : Haurani ; OZ : Oued zenati ; BL : Blikhe ; He : Hedba ; Bi : Bidi (des plantes vertes) ; DK : Djenah khetifa (plante albinos)

On a trouvé aussi un effet de parent mâle (maïs) significatif sur le nombre d'embryon et de plantes vertes obtenues (Tableaux 9), pour le génotype Guich est plus productible par rapport au génotype Elbdia vis -à vis l'embryogenèse (6.71, 2.86) respectivement et la formation des plantes vertes, ces différences entre maïs ont été peu étudiées, les auteurs utilisent souvent d'un seul cultivar.

La germination des embryons en plantes vertes a été obtenue (photo 6) pour Oued Zenati (10plantes) Hedba (2plantes) et Bidi 17 (8 plantes) avec les deux cultivars de maïs par contre aucune régénération des plante vertes pour djenah -khetifa nous donne seulement une plante albinos).

En toutes 27 plantes haploïdes vertes ont été formées, comportant 14 chromosomes (nombre haploïde) (photo8).

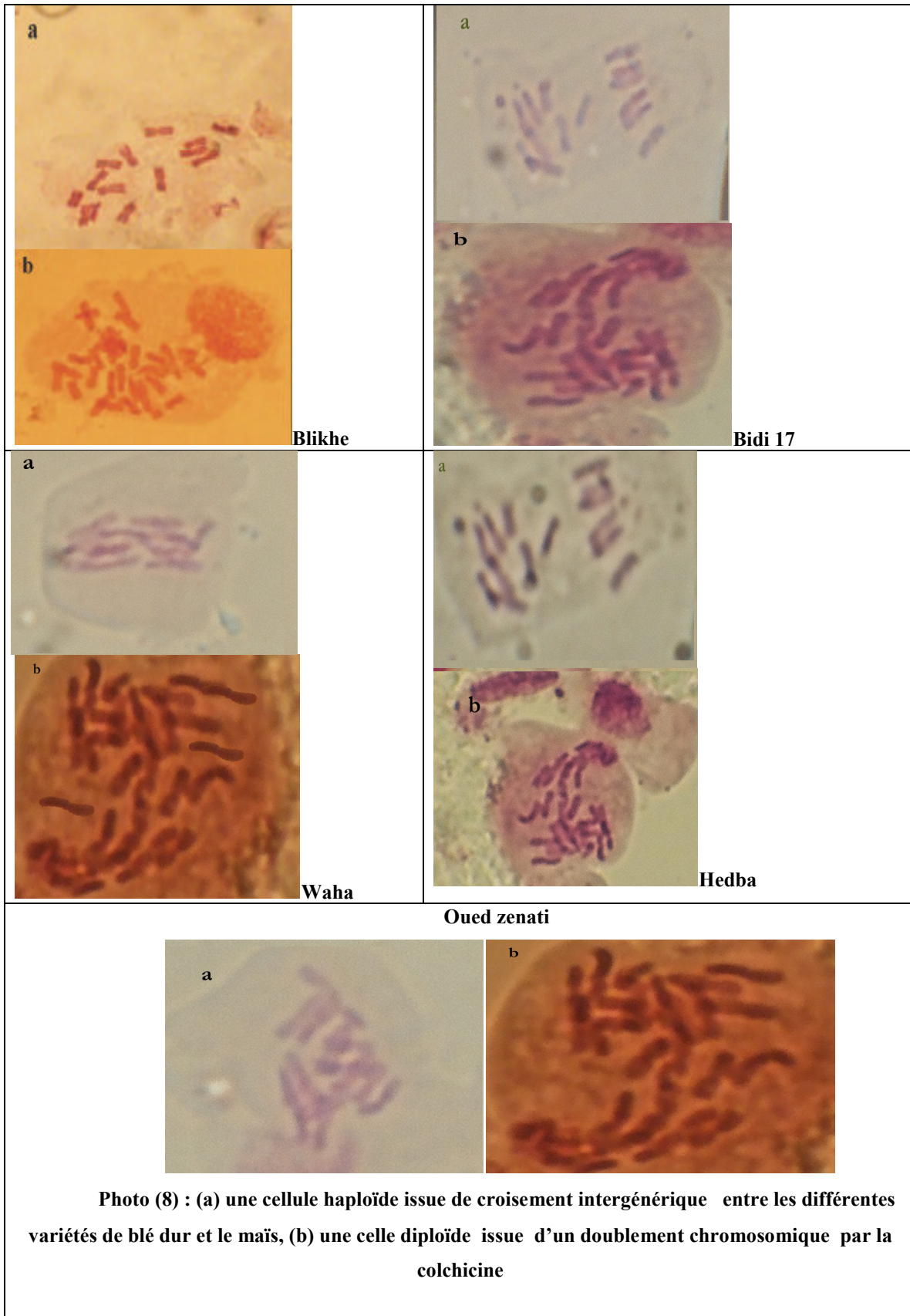
II-2- Effet du milieu de développement (les épis in situ ou coupés) sur la nouaison, le nombre des embryons, le nombre des plantes vertes

D'après l'analyse de variance on a montré que, aucun effet significatif pour la nouaison entre les épis qui sont gardés sur la plante mère, et les autres qui sont coupés et maintenus dans une solution nutritive (figure 41). Par contre on a trouvé un effet significatif du milieu ($F=9,14$) sur le développement des embryons (figure 42) et l'obtention des plantes vertes (Figure 43) ($F=8,59$), les épis qui sont coupés apparaissent les plus productibles par rapport aux épis qui sont restés sur la plante mère (in situ).

II-3-Le temps optimal de survivance des épis sur la plante mère avant la séparation

D'après l'analyse de variance on a trouvé un effet significatif du temps nécessaire de survivance sur la plante mère avant la coupure des épis soit pour l'embryogenèse ($F=10,86$) (figure 44), soit pour la régénération des plantes vertes ($F=7,67$) (figure 45).

Selon le tableau d'intervalle de confiance (annexe VI) et quelques soit les variétés étudiées on a montré que le temps optimal de survivance des épis sur la plante mère avant la séparation et les maintenus dans une solution nutritive pour l'obtention des embryons et la régénération des plantes vertes est deux ou trois jours après la pollinisation.



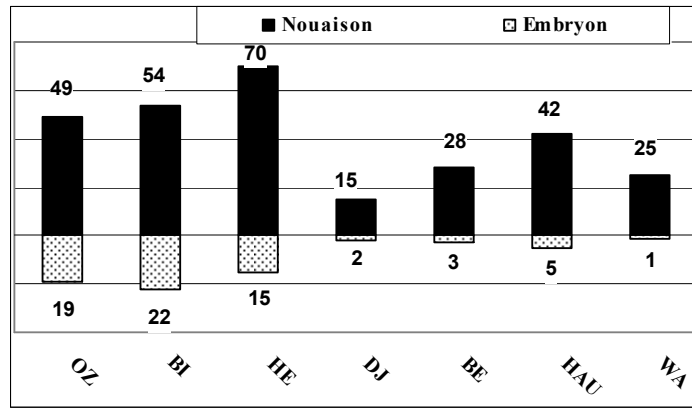


Figure (40) : La comparaison entre la nouaison et la formation des embryons chez les différentes variétés de blé dur étudiées

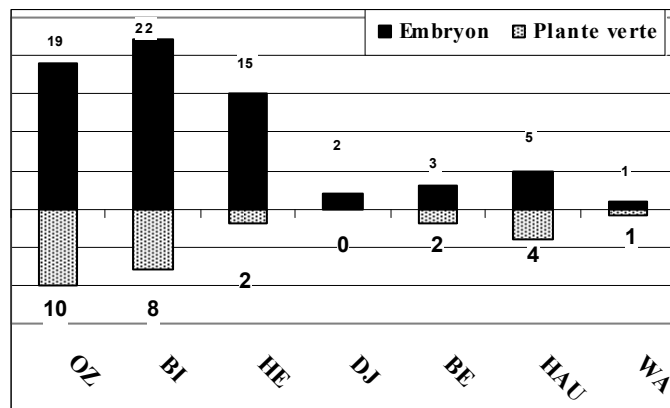


Figure (41) : La comparaison entre le nombre des embryons et les plantes vertes obtenues chez les différentes variétés de blé dur.

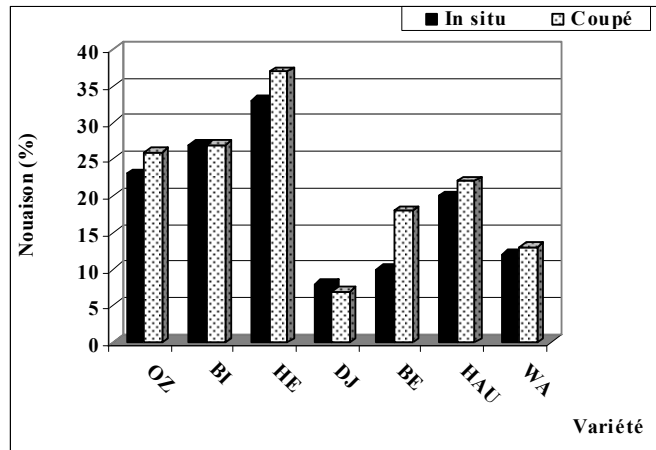


Figure (42) : La comparaison du taux de nouaison pour les épis qui sont gardés in situ et ceux qui sont coupés pour les différentes variétés de blé dur

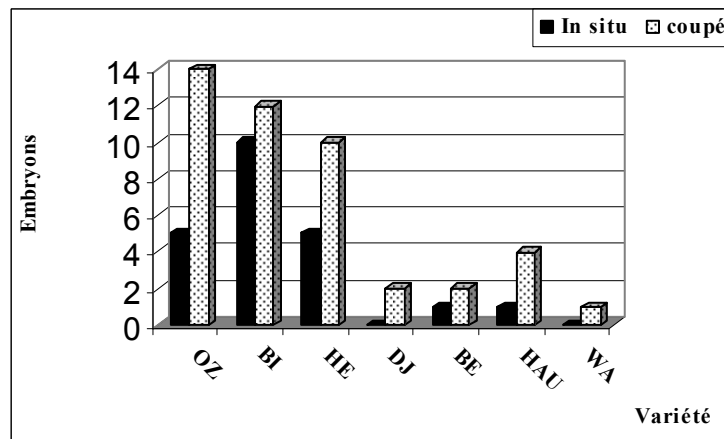


Figure (43) : La comparaison de nombre des embryons pour les épis qui sont gardés in situ et ceux qui sont coupés pour les différentes variétés de blé dur

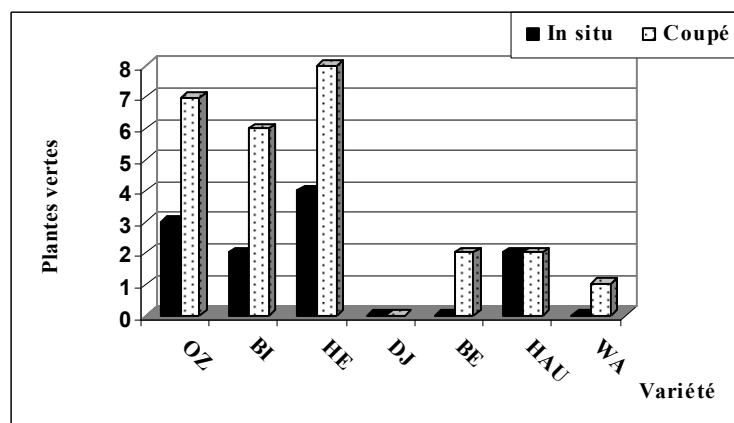


Figure (44) : La comparaison de nombre des plantes vertes pour les épis qui sont gardés in situ et ceux qui sont coupés pour les différentes variétés de blé dur

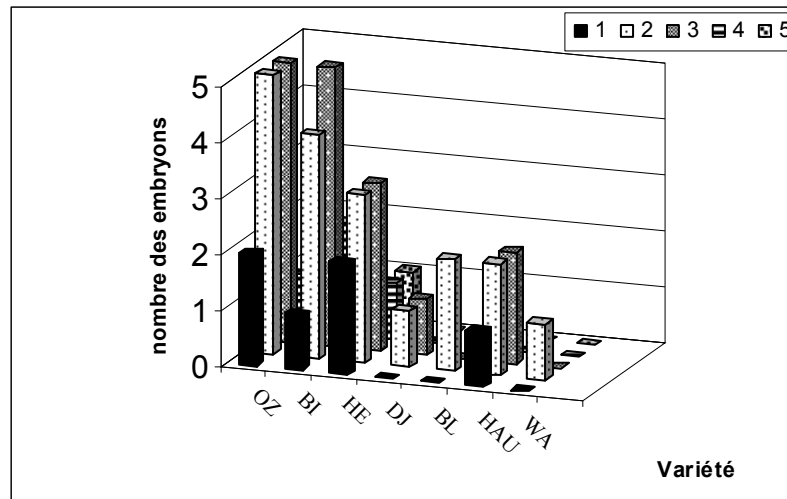


Figure (45) : L'évaluation de nombre des embryons en fonction du temps de survivance des épis sur la plante mère chez les différentes variétés.

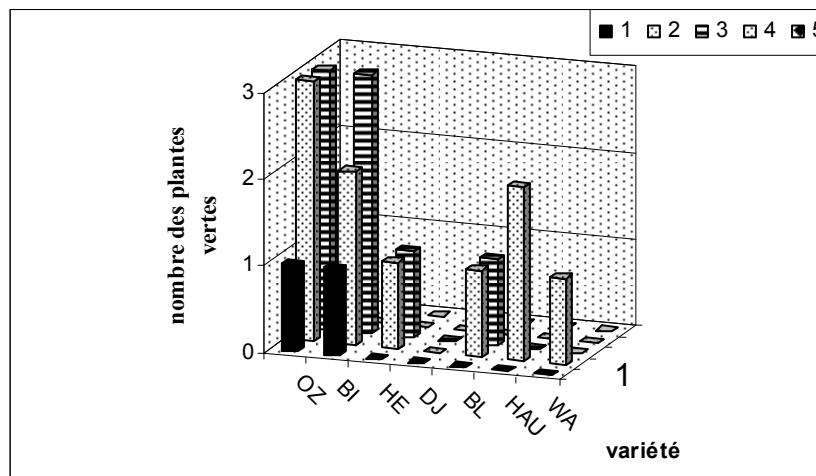


Figure (46) : L'évaluation de nombre des plantes vertes en fonction du temps de survivance des épis sur la plante mères chez les différentes variétés

III- Discussion

L'haplodiploïdisation par croisement intergénérique de blé dur × maïs la seule technique utilisée jusqu'à maintenant pour surmonter le problème d'albinisme qui apparaît par l'androgénèse et gynogénèse et l'arrêt de la germination de grains de pollen sous l'action des gènes Kr1 Kr2, dans le cas de croisement de blé dur × *Hordeum bulbosum* qui inhibent la croissance du tube pollinique étranger au niveau du style et sa pénétration à l'intérieur de l'ovaire ces gènes n'ont pas un effet significatif sur le croisement « blé x maïs malgré le taux de régénération des plantes vertes pour celui-ci reste encore faible, les mêmes résultats sont trouvés par (Chlyah et al., 1999 ; Savaskan et al., 1997 ; Lian et al., 2010).

D'après l'ensemble de nos résultats, nous constatons, que la formation des ovaires Développés (nouaison) ainsi que l'obtention d'embryons et de plantules haploïdes vertes dépendent du génotype parental, ces résultats en accords avec les résultats de (Sarraf et al., 1994) et aussi avec (Saidi et al., 1998), quelques auteurs ont trouvé un effet non significatif de génotypes parentaux (Suenaga et Nakajima, 1989), par ce que ils ont utilisé un nombre limité des génotypes.

Parmi nos résultats on a repéré que la période de 2 ou 3 jours après la pollinisation est considérée comme un stade optimal pour la coupure des épis, au-delà de cette période les résultats sont plus proche de ceux qui sont trouvés par l'utilisation des épis in situ.

L'apparition d'une plante albinos pour l'embryon régénéré de la variété Djenah khetifa est expliquée par une dégradation précoce de l'ADN des plastes, celle-ci favorisant ainsi la formation exclusive de plantes albinos issues de l'androgénèse chez les Poacées (Caredda S et al., 2000).

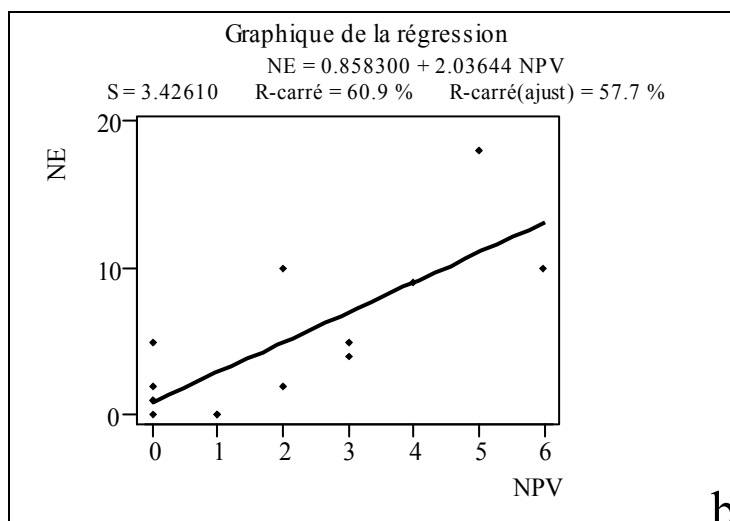
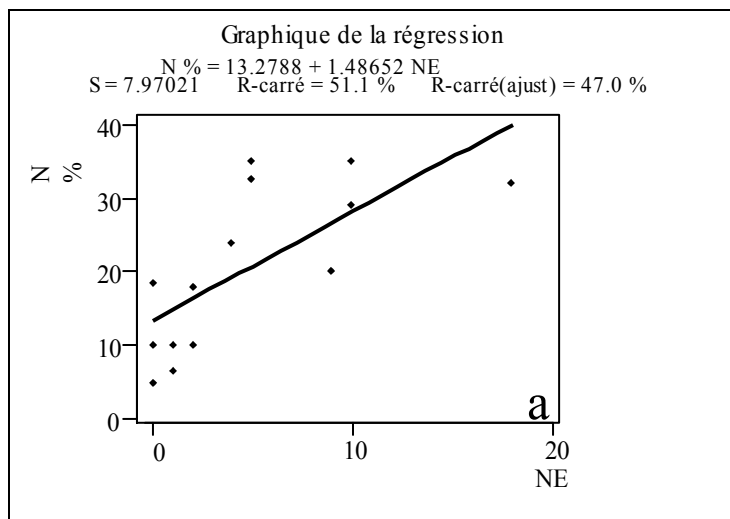


Figure (47) : Le graphique de régression (a) la corrélation entre le taux de nouaison (%) et le nombre des embryons obtenus, (b) la corrélation entre le nombre d'embryons et le nombre des plantes vertes régénérées

IV- Conclusion

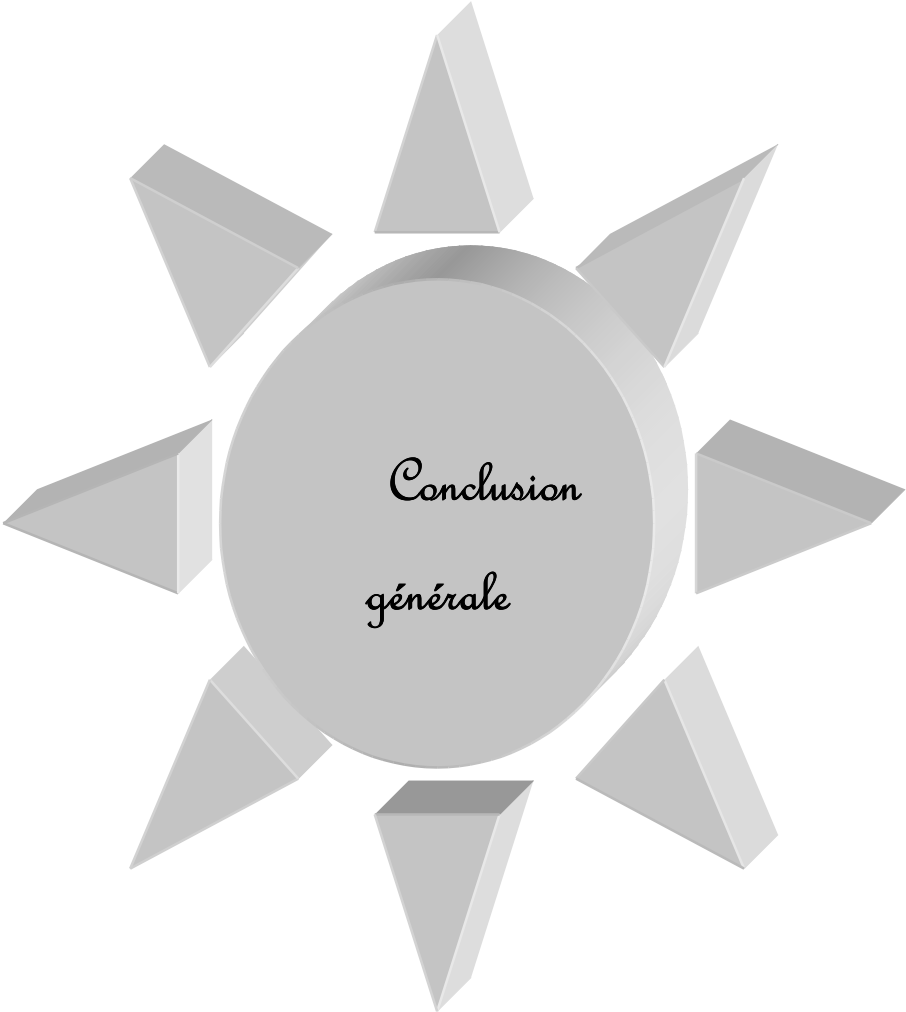
Cette étude montre que des croisements intergénériques permettent d'obtenir des plantes haploïdes chlorophylliennes chez le blé dur, qui se développent normalement à partir d'embryons parfaitement formés sans présenter de cals.

Le croisement blé dur ×maïs est d'un intérêt plus général, le choix du cultivar de maïs permettant d'optimiser le taux de formation d'embryons et de régénération.

Le pourcentage de plantes vertes obtenues est encore relativement faible à cause de la petite taille de certains embryons au moment de leur transfert dans les conditions in vitro (Chlyah et al., 1999).

Les résultats encourageants observés consécutivement au milieu de développement des embryons issus de croisement blé dur maïs et le choix de parent mâle indiquent que la méthode que nous avons adoptée est prometteuse et ouvre des perspectives intéressantes.

Au-delà de l'effet génotypique, qui reste un facteur très important dans l'obtention des plantes vertes, ces résultats montrent que la fréquence des plantes vertes peut être augmentée par l'action des hormones utilisés dans la solution nutritive qui est considérée comme l'endroit remplaçant de la plante mère des épis coupés. La procédure développée ici, pour le temps nécessaire de survivance des épis avant la coupure de la plante nous a permis d'obtenir avec succès des embryons et des plantes chlorophylliennes.



Conclusion générale

La résistance au sel apparaît comme un caractère polygénique contrôlé à différents niveaux d'organisation, de la cellule à la plante entière. La grande variabilité manifestée par les espèces et les variétés pour ce caractère permet d'envisager la sélection de génotypes particulièrement bien adaptés au stress salin. Par ailleurs, la diversité des effets du sel offre une gamme étendue de critères physiologiques et biochimiques qui peuvent être à la base de tests rapides, utilisables pour un tri à grande échelle. Aux tests classiques de germination et de croissance (émergence, production de biomasse, survie) et de nutrition minérale (accumulation foliaire de Na^+ et de Cl^- , efficacité d'utilisation de K^+), s'ajoutent des tests biochimiques plus récents (accumulation foliaire de proline, de saccharose et d'amidon, fluorescence de la chlorophylle, synthèse de polypeptides et protéines).

Dans le troisième et le quatrième chapitre de notre travail Plusieurs paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques ont été étudiés chez sept variétés de blé dur et une espèce apparentée au blé dur (*Aegilops*) cultivés sous des conditions de stress salin, en prenant la croissance comme indicateur, les résultats obtenus ont montré que l'aegilops est une espèce résistante au stress salin, en comparant avec les autres variétés de blé dur, donc on peut utiliser cette espèce apparentée dans les programmes d'amélioration de blé pour transférer les gènes de résistance d'aegilops au blé dur à l'aide des croisements interspécifiques puis un sauvetage des embryons immatures par la culture in vitro.

On a trouvé aussi dans cette étude que la réponse de blé dur vis-à-vis à la salinité est variée selon le stade de développement, selon l'organe et la durée du stress, d'un autre côté on a observé que une variété peut apparaître tolérante pour un paramètre et sensible pour un autre et la même chose pour les stades de développement à titre d'exemple, un génotype apparaît résistant au stade de germination n'est pas nécessaire être résistant au stade de tallage pour cette raison on peut conclure que la résistance à la salinité est liée à la capacité d'une variété de développer un nombre élevé de mécanismes d'adaptation et non pas à la présence d'un mécanisme donné.

On conclut d'une façon générale que la résistance d'une plante à la salinité s'exprime par sa capacité à survivre et à produire dans des conditions de stress salin. Il existe, une large gamme de mécanismes qui ne sont pas exclusifs l'un de l'autre, mais qui peuvent se compléter.

La tolérance à la salinité est un phénomène complexe, faisant intervenir, face à la pression erratique des contraintes environnementales, de nombreux mécanismes interactifs, et à déterminisme génétique complexe. Face à cette réalité, l'amélioration génétique de la tolérance à la salinité ne peut se contenter ni d'une amélioration empirique, ni d'une introduction « à l'aveugle » de caractères de tolérance chez des génotypes productifs. La stratégie à mettre en œuvre dans une telle situation nous semble devoir prendre en compte plusieurs niveaux d'intégration, en définissant pour chacun d'eux un objectif spécifique; la description du comportement global dans des milieux donnés, la caractérisation physiologique, l'analyse génétique des caractères, et la recherche de marqueurs pour ces caractères apparaissent ainsi comme autant de maillons dans une chaîne faisant intervenir des connaissances et compétences en matière de physiologie, génétique, et biologie moléculaire.

La culture *in vitro* offre une méthode alternative de sélection de lignées cellulaires résistantes au sel.

Dans la présente étude, nous avons exploité pour le cinquième chapitre les possibilités offertes par les techniques de culture *in vitro* préciser, à l'échelle cellulaire et au niveau de la plante entière, le comportement du blé dur en conditions de stress salin. L'existence d'une composante cellulaire de la résistance à ce stress a été mise en évidence. La prise en compte des résultats obtenus à la fois aux niveaux cellulaire et de la plante entière apparaît nécessaire pour une meilleure compréhension de la complexité des mécanismes permettant à la plante de résister au stress et constitue à nos yeux une stratégie essentielle dans ce type d'étude.

La culture *in vitro* offre la possibilité de caractériser, à un niveau cellulaire, des marqueurs physiologiques associés à la résistance au sel. Cette technique présente l'avantage d'un meilleur contrôle des conditions de nutrition, tout en autorisant la manipulation d'un grand nombre de cellules, ce qui augmente la probabilité d'obtention de variants avec les caractéristiques souhaités de résistance au sel.

Pour le sixième chapitre cette étude montre que des croisements intergénériques permettent d'obtenir des plantes haploïdes chlorophylliennes chez le blé dur, qui se développent normalement à partir d'embryons parfaitement formés sans présenter de calcs.

Le croisement entre le blé dur et l'orge sauvage ne donne aucun embryon mais seulement un gonflement de caryopse sous l'effet des hormones utilisés après la pollinisation, la présence des gènes Kr1 et Kr2 qui ont empêchés la pénétration de tube pollinique à travers le style de carpelle de blé dur, de ce fait automatiquement il n'y a pas ni une fécondation, ni embryogenèse.

Le croisement blé dur ×maïs est d'un intérêt plus général, le choix du cultivar de maïs permettant d'optimiser le taux de formation d'embryons et de régénération.

Le pourcentage de plantes vertes obtenues est encore relativement faible à cause de la petite taille de certains embryons au moment de leur transfert dans les conditions in vitro.

Les résultats encourageants observés consécutivement au milieu de développement des embryons issus de croisement blé dur maïs et le choix de parent mâle indiquent que la méthode que nous avons adoptée est prometteuse et ouvre des perspectives intéressantes.

Au-delà de l'effet génotypique, qui reste un facteur très important dans l'obtention des plantes vertes, ces résultats montrent que la fréquence des plantes vertes peut être augmentée par l'action des hormones utilisés dans la solution nutritive qui est considérée comme l'endroit remplaçant de la plante mère des épis coupés. La procédure développée ici, pour le temps nécessaire de survivance des épis avant la coupure de la plante nous a permis d'obtenir avec succès des embryons et des plantes chlorophylliennes.



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Abdelkarim Filali-Maltouf .2002. Adaptations hydrique et photosynthétique du blé dur et du blé tendre au stress salin, *Copyright © 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS*

Ackrson. RC .1984. Abscissic acid and precocious germination in soybeans *j. exp. Bot* , 35p 414-421.

Adams W.T., R.W. Allard. 1982. « Mating system variation in *Festuca microstachys* ». *Evolution*, 35:591-595.

Ali Dib T, Monneveux P, Araus JL.1992. Adaptation à la sécheresse et notion d'idiotype chez le blé dur. II. Caractères physiologiques d'adaptation. *Agronomie* 1992 ; 12 : 381-393.

Ali Dib, T., Monneveux, P., Acevedo, E. et Nachit, M.M. 1994. Evaluation of praline analysis and chlorophyll fluorescence quenching measurements as drought tolerance indicators in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Euphytica*, 79 : 65-73.

Ali Ben Abed Elmouhecen .2006. La physiologie végétale sous stress salin et la sécheresse *pub ; Sci Uni Malek Saaoud Arabie saoudite* p 386.

Anonyme.1994. Règlements et procédures pour la production de culture de semences pedigrees. Association canadienne des producteurs de semences. *Circulaire 6-94*. Ottawa (Ontario) P 97.

Araus JL, Alegre L. Ali dib T, Benlarbi M, Monneveux P.1991. Epidermal and stomatal conductance in seedlings of durum wheat landraces and varieties. Colloque Physiology-Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments, Montpellier (France), 3-6 July 1989. Les colloques n°55. Paris : *Inra* éditions.

Atienza S., Faccioli P., Perrota G., Dalfino G., Zschiesche W., Humbek K., Stanca A.M., Cattivelli L.2004. Large scale analysis of transcripts abundance in barley subjected to several single and combined abiotic stress conditions. *Plant Science* 167: 1359-1365

Azmi A , Alam S .1990. Effect of salt stress on germination, growth, leaf anatomy and mineral element composition of wheat cultivars *Acta, physiol.plant*, 12 (3), 215-224

Bajji, M. 1999. Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés in vitro. PhD Thesis, *Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve*.

Baldy C ; Ruelle P ; Fernardes A .1993. Résistance à la sécheresse du sorgho-grain en climat méditerranéen. *Sécheresse*, 4 : 85-89

Bamouh A.2000. Gestion de la contrainte pluviométrique pour l'amélioration de la production végétale et de l'efficacité d'utilisation de l'eau. *Bulletin de liaison du programme national de transfert de technologie en agriculture* 2000 : 85-90.

Bellinger Y, Bensaoud A, Larher F.1991. Physiological significance of proline accumulation, a trait of use to breeding for stress tolerance. Colloque Physiology-Breeding of winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments, Montpellier (France), 3-6 July 1989. Les colloques N°55. Paris : *Inra* éditions.

Belkhodja M.et Y.Bidai.2004. Réponse de la germination des graines d'*Atriplex halimus* L. sous stress salin. Revue Sécheresse, N°4, vol.15p**331-335**.

Benaceur M, Gharbi MS, Paul R.1999. L'amélioration variétale et les autres actions contribuant à la sécurité alimentaire en Tunisie en matière de céréales. *Sécheresse* 1999 ; 10 : **27-33**.

Benaceur M., C. Rahmoun, H. Sdiri, M. Medahi, M. Selmi.2001. Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production de grains de blé. *Sécheresse*, 12 (3): **167-174**.

Bendarradji . L, Bouzerzour. H, Ykhlef N, Djekoun. A. Etude de mécanismes de tolérance à la salinité chez deux variétés de blé tendre (*Triticum aestivum* L) soumis à un stress salin. Science& Technologie C-N° 32 décembre (2010) p 23-30

Bousba R, Djekoun A, Ykhlef N. 2009. Water use efficiency and flag leaf photosynthesis in response to water deficit of durum wheat *Triticum durum* Desf, J. World journal of agricultural Science 5 (5): 609-616

Bengston, C. ; Klockare, B. ; Klockare, R. ; Larsson, S. ; Sundquist, C. 1978. The after effect of water stress on chlorophyll formation during greening and the level of abscisic acid and proline in dark grown wheat seedlings. *Plant Physiol.*, 43, pp. **205- 212**.

Bergareche C, Llusia J, Febrero A, Bort J, Araus JL .1993. Effect of water stress on proline and nitrate content of barley relationships with osmotic potential, carbon isotope ratio and grain yield. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale, Montpellier (France), 15-17 décembre 1992. Les colloques, n°64. Paris : *Inra* éditions

Berthomieu P , Conéjéro G , Nublat A , Brackenbury WJ , Lambert C , Savio C , Uozumi N , Oiki S , Yamada K , Cellier F , Gosti F , Simonneau T , Essah PA , Tester M , Véry AA , Sentenac H , Casse F.2000 . Functional analysis of *AtHKT1* in *Arabidopsis* shows that *Na⁽⁺⁾* recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance, *EMBO J.* **22 (9): 2004-14**.

Bewley J .1997. Seed germination and dormancy. *Plant cell* 9, P**1055-1066**.

Binet.P.1982. Production primaire et accumulation des bioéléments au niveau d'une population pure d'*Atriplex hastata* L. des rives de l'estuaire de la seine, *Oecol. Plant* 317 (1982) **219-230**.

Binzel ML, Hasegawa MP, Rhodes D, Handa S, Handa AK, Bressan RA. 1987. Solute Accumulation in tobacco cells adapted to NaCl. *Plant Physiol* ; 84 : **1408-1411**.

Binzel M.L., F.D. Hess, R. Bressan, P.M. Hasegawa.1988. Intracellular compartmentation of ions in salt adapted tobacco cells, *Plant Physiol.* 86 (1988) **607-614**.

Bissati S., Djerroudi O., Mehani M. et Belkhodja M. 2011. Effet du stress salin sur deux paramètres hydriques (turgescence et transpiration) de jeunes plants d'*atriplex halimus* et *atriplex canescens*. **31-38** *Revue des Bioressources vol 1 n 1 juin 2011*

Bizid E, Zid E, Grignon C. 1988. Tolérance à NaCl et sélectivité K^+/Na^+ chez les triticales. *Agronomie* ; 8 : **23-27**.

Bliss. R D, Platt. A and Thomson. WW .1986. The inhibition effect on NaCl on barley germination. *Plant. Cell. Envir.* 9 P **727-733**.

Blum, A. & Ebercon, A.1976. Genotypic responses in sorghum to drought stress. III. Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Science*, 16, p **428-431**.

Black M .1983. Abscissic acid in seed germination and dormancy. In: abscissic acid . f. t. addicot éd. *Praeger Publis. New-york*, p **333-363**.

Bressan R.A., N.K. Singh, A.K. Handa, A. Konowicz, P.M Hasegawa . 1985. Stable and unstable tolerance to NaCl in cultured tobacco cells, in: M. Freeling (Ed.), *UCLA Symposium on plant genetics, A.R. Liss, New York, 1985*, pp. **755-779**.

Bogges, S-F ; Aspinall, D. ; Paleg, L-G.1976. Stress metabolism. IX. The significance of endproduct inhibition of proline synthesis and of compartmentation in relation to stress-induced proline accumulation. *Aust. J. Plant Physiol.*, 3, pp. **513-525**.

Bouatrous Y, Ykhlef N, Mohei el din Solliman Mohamed. 2009a. Physiological behaviour of durum wheat plants (*Triticum durum* Desf) grown in salt medium. *Egypt.J of Appl Sc.*, 24 (2A) 2009: **40-47**.

Bouatrous Y, Ykhlef N, Elham Ahmed Abbas Abd Elhady.2009b. Production of Haploid durum wheat plants by pollination of wheat with barley (*Triticum durum* Desf × *Hodeum bulbosum* L.) and maize (*Triticum durum* Desf × *Zea mays* L.), *Egypt.J of Appl Sc.*, 24 (2A) 2009: **48-55**.

Bouatrous Y, E. A.A Abd Elhady, Djekoun A, , Ykhlef N. 2010. Production of haploid green plants by intergeneric crossing of (*Triticum durum* Desf × *Zea mays* L.), *American-Eurasian J.Agric & Environ. Sci.*, 7 (5): **512-517**.

Boulay j.1993. La culture in vitro et ses applications à des plantes carnivores *club. Drosera de Metz-Univ.Nancy1*

Bourdu R.1983. Les diverses fonctions du scutellum des graminées, *bul, soc, bot*, fr, 34 P **33 - 49**.

Bozzini A. 1988. « Origin, distribution, and production of durum wheat in the world. » in Fabriani G. et C. Lintas (éd). *Durum: Chemistry and Technology*. AACCC (Minnesota), États-Unis. p **1-16**.

Buldgen A.1997. Croissance juvénile et comportement physiologique d'*Andropogon gayanus* en conditions de stress hydrique. *Biotechnol Agron Soc Environ* 1997 ; 1 : **278-294**

Caredda S, Devaux P, Sangwan RS, Clément C. 1999. Differential development of plastids during microspore embryogenesis in barley. *Protoplasma* 208: **248-256**.

Caredda S, C. Doncoeur, P. Devaux, R.S. Sangwan, C. Clément .2000. Plastid differentiation during androgenesis in albino and non-albino producing cultivars of barley (*Hordeum vulgare* L.), *Sex Plant Reprod.* 13 p **95-104**.

Caredda S, Devaux P, Sangwan RS, Prout I, Clément C. 2004. Plastid ultrastructure and DNA related to albinism in androgenetic embryos of various barley (*Hordeum vulgare*) cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 76: **35-43**.

Cauderon Y. 1986. Cytogenetics in breeding programmes dealing with polyploidy, interspecific hybridization and introgression. p. **83-104**. In Genetic manipulation in plant breeding. Roceedings International Symposium, 8-13 Sept. 1985, Berlin (West), Gennany. Hom W., Jensen C.J., Odenbach W. et O. Schieder (Ed.). *Walter de Gruyter, Berlin, New York*

Charmet G, Vedel F, Bernard M, Bernard S, Mathieu C. 1985. Cytoplasmic variability in androgenetic doubled haploid lines of triticale. *Agronomie* 5: **709-717**.

Cheverry C.1998. Plant behaviour in saline environnement. Action eau N°4, Séance spécialisée du 22 mars 1995; Ed. Acad. agro, Paris, France, p**49**.

Cheeseman JM. 1988. Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant Physiol* ; 87 : **547-550**.

Cherif D, Zid , Bouzoubaa Z, Elmorid M, Karron M et Elcharous M. 2001. Manuel d'analyse chimique et biochimique des plantes eds, *INRA, Maroc*.

Chih. ching chu.1982. Haploïds in plants improvement. p **129-158**. In vasil, I, K, W, R Skowcroft and K,J Frey(ed), *PLANT Improvement and somatic cell genetic. Academic press, Newyork*

Chinnusamy V., Zhu J. et Zhu J.-K. 2006. Gene regulation during cold acclimation in plants. *Physiologia Plantarum* 126(1) : **52-61**

Chunhui Wu , Quanzhen Wang, Bao Xie , Zhengwei Wang, Jian Cui and Tianming Hu. 2011. Effects of drought and salt stress on seed germination of three leguminous species *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(78), pp. **17954-17961**, 7 December, 2011

Chlyah O ; Amail O, Saidi N ; Cherkaoui S ; Lamansouri O. 1999. Haplodiploïdisation chez le blé dur par croisements intergénériques blé dur × *Hordeum bulbosum* et blé dur maïs. *Cahier agricultures*; 8:**330-333**.

Chokri .Z ; Mohamed .D ; Maâroufi H , ; Gouia. H. 2011. Comportement physiologique de deux espèces de tabac au stress salin «*Nicotiana tabacum*» et «*Nicotiana rustica*» *Revue des Régions Arides n° 25 (1/2011) pp:3-14*

Chorfi .A.2009. Contribution a l'étude de la résistance a la salinité chez une variété de blé dur algérien (*Triticum durum* desf.) var mohamed ben bachir ; *Sciences & Technologie C – N°29*, juin (2009), pp. 41-44 .

Chougui Saida, Ykhlef Nadia, Djekoun Abdelhamid.2004. Interaction iron-sainity, 1-relation of photosynthèse /K⁺ (Roots) with other morphological, physiological, and biochemical aspect of tomato (*Lycopersicum esculentum* mill) *Arab.uni.j.Sci.Ain Shms. Cairo*, 12 (2), 481-497, 2004

Chu CC, Hill RD, Brule-Babel AL. 1990. High frequency of pollen embryoid formation and plant regeneration in *Triticum aestivum* L. On monosaccharide containing media. *Plant Science* 66: 255-262.

Clarke, J.M., W.A. Norvell, F.R. Clarke ,T.W. Buckley. 2002. « Concentration of cadmium and other elements in the grain of near-isogenic durum lines. » *Can. J. Plant Sci./Revue canadienne de phytotechnie*, 82:27-33.

Clavet JC .2000. Investigating soil and atmospheric plant water stress using physiological and micrometeorological data. *Agric For Meteo* 2000 ; 103 : 229-247.

Côme D and Corbineau F.1998. Semences et germination. In "Croissance et développement. Physiologie végétale II", pp. 185-313. *Hermann, Paris*.

Comeau A , A. Plourde. 1987. Cell tissue culture and intergeneric hybridization for barley yellow dwarf virus resistance in wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 9: 188- 1 91.

Comeau A., Collm J. Et C.A. St-Pierre. 1993 a. Hybridation interspécifique des céréales: comment allier anciennes et nouvelles technologies? p. 165- 171. Le Progrès génétique passe-t-il par le repérage et l'inventaire des gènes? AUPELF-UREF (Ed.), *John Libbery Eurotext, Paris*.

Comeau A., C.-A. St-Pierre Et J. Collin. 1993 b. Interspecific hybrids of wheat as sources of resistance to barley yellow dwarf virus. p. 83-94. In Biodiversity and Wheat improvement. Damania A.B. (Ed.), *Wiley-Sayce publication, ICARDA*.

Coumans, M.P., Boutouchent, F., Dusautou, J.C. et Kaan, F. 1992. Obtention d'embryons par croisements interspécifiques entre le blé dur et d'autres céréales. Dans : Tolérance à la Sécheresse des Céréales en Zone Méditerranéenne. Diversité Génétique et Amélioration Variétale, Montpellier (France), 15-17 Dec. 1992. *Les Colloques de l'INRA*, p. 375-381.

Cuin T. A., Betts S. A., Chalmandrier R., Shabala S.2008. A root's ability to retain K⁺ correlates with salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany* 59 (10): 2697-2706.

Daoud. Y.1993. Contribution à l'étude des sols des plaines du cheliff. Le phénomène de salinisation, conséquence sur les propriétés physique des sols argileux. *Thèse Doct, Es, Sci , Ina Alger*

Darbyshi B.1974.The function of the carbohydrate units of tree fungal enzymes in their resistance to dehydration *plant physiol* : 54 : 717-721.

Day A, Ellis THN. 1984. Chloroplast DNA deletions associated with wheat plants regenerated from pollen: possible basis for maternal inheritance of chloroplasts. *Cell* 39: **359-368**.

Day A, Ellis THN. 1985. Detected forms of plastid DNA in albino plants from cereal anther culture. *Curr. Gene.t* 9: **671-678**.

De Buyser. J, Y. Henry, P. Lonnet, R. Hertzog, A. Hespel .1987. ‘Florin’, a doubled haploid wheat variety developed by the anther culture method, *Plant Breed.* 98 (1987) **53–56**.

Denden M, Bouslama M, Slimi H, Bouaouina T.2005. Action du trajet foliaire de diffusion de l’eau et de l’épaisseur de la cuticule sur la transpiration. *Sécheresse* 2005 ; 16 : **125-129**.

Djekoun, A. et Ykhlef, N. 1996. Déficit hydrique, effet stomatique et non stomatique et activité photosynthétique chez quelques génotypes de blé tétraploïdes. 3^{ème} Réunion du réseau SEWANA, de bé dur IAV HASSAN II du 67 décembre 1996 (Maroc).

Djerroudi –Zidane Ouiza ; Moulay Belkhodja Samia Bissati .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 ISSN 1450-216X Vol.41 No.2 (2010), pp.**249-260**

De Priester W, Schilperroort RA. 1999a. Apoptosis in developing anthers and the role of ABA in this process during androgenesis in *Hordeum vulgare* L. *Plant Mol Biol* 39:**489–501**.

De Ruyser J, Henry Y.1986. Utilisation des haploïdes doublés en sélection. *Bull Soc Bot Fr* 4: **51-57**.

DeVries, A.P. 1971. « Flowering Biology of Wheat, Particularly in View of Hybrid Seed Production - A Review ». *Euphytica*, 20:**152-170**.

Devaux P., Zivy M., Kilian A. et Kleinhofs A.1996. Doubled haploids in barley. In : A. Slinkard, G. Scoles and B. Rosnagel (éds). *Proceedings of V International Oat Conference and VII International Barley Genetics Symposium*. Saskatoon, University Extension Press, University of Saskatchewan, 1: p **213-222**

Doussinault (G.) .1995. Cent ans de sélection du blé en France et en Belgique. - In *Quel avenir pour l’amélioration des plantes ?*, Ed. AUPELF-UREF. Paris : John Libbey Eurotext, p**3-8**.

<http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p189/l2901.pdf>

Dörfling, K, Askman, A. 1989. Relationship between frost tolerance and formation of proline, abscisic acid and specific proteins in cold hardened winter wheat (*Triticum aestivum*) varieties. *XII Eucarpia Congress*.

Dubois M. Gilles A, Hamulton J. J, Rebers P.A, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances *Anal, chem.*, 71, **808-814**

Dunford RP, Walden RM. 1991. Plastid genome structure and plastid –related transcript levels in albino barley plants derived from anther culture. *Curr Genet* 20: **339-347**.

Elis R ; Foster B.P ; Waugh R ; Bonar N ; Handley L.L ; Powell G.1997. Mapping physiological traits in barley. *New Phytol.* 137: **149-157**

El-neimi.TS, William.FC and Rumaugh.D .1992. Response of alfalfa cultivars to salinity during germination *growth.crop. sci*, 32, **976-980**.

El Houssine TAHRI, Abdelmajid BELABED & Khadija SADKI .1998. Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*), *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, 1997-1998, n°21, pp. **81-87**.

El - Jaafari, S. et Paul, R. 1993. Accumulation foliaire de proline et résistance à la sécheresse chez le blé (*Triticum aestivum* L.). *Arch. Int. Physiol. Biochem. Biophys.*, **101 : B8**.

El- Sayed H ; El- Haak .1991. Induced seed germination and seedling growth by proline under water or salt stress. *Stress biochemistry in plant. Proc. Of joint meeting*, p **137-146**

Epstein. E, J.D. Norlyn, D.W. Ruch, R.W. Kinsbury, A.F. Cunningham,A.F. Wrona .1980. Saline culture of crops: a genetic approach, *Science* (2310) p **399– 404**.

Erchidi AE, Benbella M, Talouizte A. 2000. Relation entre certains paramètres contrôlant les pertes en eau et le rendement en grain chez neuf variétés de blé dur soumises au stress hydrique. Options méditerranéennes, série A (*Séminaires méditerranéens*) 40 : **279-282**.

Fabiola Johana ANZALA. 2006. Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (*Zea mays*) : étude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs **Thèse de doctorat université d'Angers**.

Faouzi Attia. 2007. Effet du stress hydrique sur le comportement ecophysiologique et la maturité phenolique de la vigne *vitis vinifera* L.: etude de cinq cepages autochtones de midi-pyrenees **le titre de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse**

Feldman, M.2001. « Origin of Cultivated Wheat ». Dans Bonjean A.P. et W.J. Angus (éd.) *The World Wheat Book: a history of wheat breeding*. Intercept Limited, Andover, Angleterre, p **3-58**.

Feldman.1976. « Taxonomic Classification and Names of Wild, Primitive, Cultivated, and Modern Cultivated Wheats ». Dans : Simmonds, N.W. (éd)., *Evolution of Crop Plants*. Longman, Londre. p **120-128**.

Filali-Maltouf.2002. Adaptations hydrique et photosynthétique du blé dur et du blé tendre au stress salin, *Copyright © 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS*

Fernandez-Ballester G., Vicente M., Dionisio R.,Antonio C. 1998. Changes in inorganic and organic solutes in *Citrus* growing under saline stresses. *J. Plant Nutr.* 21, p. **2497–2514**

- Fouroughi-Wehr B. G. Wenzel .1990.** Recurrent selection alternating with haploid steps - A rapid breeding procedure for combining agronomic traits in inbreeders. *Theor. Appl. Genet.* 80: **564-568**.
- Franks, P. J. 2003.** Use of the pressure probe in studies of stomatal function. *J. Exp. Bot.* 54(387): **1495-1504**.
- Franks, P. J., Cowan, I. R. , G. D. Farquhar .1998.** A study of stomatal mechanics using the cell pressure probe. *Plant Cell Environ* 21(1): **94-100**.
- Franks, P. J., I. R. Cowan, G. D. Farquhar.1997.**The apparent feed forward response of stomata to air vapor pressure deficit: information revealed by different experimental procedures with two rainforest trees. *Plant Cell Environ* 20(1): **142-145**.
- Franks, P. J., T. N. Buckley, J. C. Shope, & K. A. Mott. 2001.** Guard Cell Volume and Pressure Measured Concurrently by Confocal Microscopy and the Cell Pressure Probe. *Plant Physiol.* 125(4): **1577-1584**.
- Foroughi-Wehr B, Zeller FJ. 1990.** *In vitro* microspore reaction of different German wheat cultivars. *Theor Appl Genet* 79: **77-80**.
- Gamal M. Abdel-Fattah Abdul-Wasea A. Asrar .2012.** Arbuscular mycorrhizal fungal application to improve growth and tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants grown in saline soil *Acta Physiol Plant* (2012) 34:**267-277**.
- Gamborg O L, Miller R. A, Ojimak. 1968.** Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cell, *Exp. Cell Res* 50: **151-158**.
- Garg, J.Kim, T.Owens, A. Ranwala, Y.Choi, V. Kochian and R.J.Wu.2002.** Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: p**15898-15903**.
- Genc · Y; K. Oldach ·; A. P. Verbyla ; G. Lott · M. Hassan ; M. Tester ; H. Wallwork ; G. K. McDonald. 2010.** Sodium exclusion QTL associated with improved seedling growth in bread wheat under salinity stress *Theor Appl Genet* (2010) 121:**877-894**
- Girona J, Mata M, Fereres E, Gholdhames DA, Cohen M. 2002.** Evapotranspiration and soil water dynamics of peach trees under water deficits. *Agricultural Water Management* 2002; 54 : **107-122**.
- Gonzalez A, Martin I, Ayerbe L .1999.** Barley yield in water stress conditions. The influence of precocity, osmotic adjustment and stomatal conductance. *Field Crop Res* ; 62 : **p23-34**.
- Gorico RK.1985.** Résistance stomatique et transfert hydrique dans les organes aériens de l'aubergine (*Solanum melongina*). *Revue Ezzaitouna* 1985 : **2-5**.
- Greenway H. R. Muns.1980.** Mechanisms of salt tolerance in non halophytes, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31 (1980) **149-190**.

Grennan A.K.,2006. High Impact Abiotic Stress in Rice. An “Omic” Approach; *Plant Physiology*, April 2006, Vol. 140, p 1139–1141

Grouzis Jp .1973. Relation Entre Phosphorylation Cyclique et Absorption Du Calcium Dans Les Chloroplaste Vol (11 4) P 643 - 654.

Griffing JB .1975. Efficiency changes due to use of doubled haploids in recurrent selection methods. *Theor Appl Genet* 46 : 367-386

Grossniklaus U., Nogler G. et Van Dijk P. 2001. How to avoid sex: the genetic control of gametophytic apomixis. *The Plant Cell* 13 : 1491-1497.

Guerrier G .1983. Variation des teneurs en Na⁺ et Ca⁺ d’embryons et de jeunes plantes lors de la germination en milieu salé *OYTON*,43 (2) , 141-152.

Guerrier G.1984. Relation entre la tolérance ou la sensibilité à la salinité lors de la germination des semences et les composantes de la nutrition en sodium. *Biol. Planta*, 26, (1) p 22-28.

Gustafson S-P. Et A.R. Dera .1989. Alien gene manipulation and expression in wheat Genome 31 : 134- 136.

Halitim A . 1985. Contribution à l’étude des soles salées des zones arides (hautes plaines steppique de l’Algérie), morphologie, distribution et rôle des sels dans la genèse et le comportement des sols , *Thèse doctorat Es. Sci Univ Renne* P 384.

Harrington, J.B. 1932. « Natural outcrossing in wheat, oats, and barley at Saskatoon, Saskatchewan ». *Scientific Agric.*, 12: 470-483.

Hayek .T, Ben salem M ; Zid E.2002.Mécanisme ou stratégie de résistance à la sécheresse : cas du blé, de l’ orge et du triticale. SIHEAM.p 287-290

Heller R Esnault S Lance C .1990. Physiologie Végétal, *Masson Paris* P 16.

Henchi B.1987. Effets des contraintes hydriques sur l’écologie et l’écophysiologie de *Plantago albicans* L. *Thèse de doctorat d’État, université de Tunis.*

Hsissou D.1994. Sélection in vitro et caractérisation de mutants de blé dur tolérants à la sécheresse. *Thèse de doctorat, faculté des sciences, université catholique de Louvain.*

Hu H. 1986.Variability and gamete expression in pollen-derived plants in wheat. p. 67- 78 III Haploids of higher plants in. Hu H. et H. Yang (Ed.). *China Academic Publishers*,Beijing.

Horlow C., Defrance M.C., Pollien J.M., Goujaud J., Delon R. et Pelletier G.1992 Transfer of cytoplasmic male sterility by spontaneous androgenesis in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Euphytica* 66(1-2) : p 45-53

Houshmand S, Arzani A, Maibody SAM, Feizi M .2005. Evaluation of salt-tolerant genotypes of durum wheat derived from in vitro and field experiments. *Field Crops Res.* 91: 345-354.

Huang J et Redmann R .1995. Salt tolerance of *Hordeum* and *Brassica* species during germination and early seedling growth. *Can J. Plant Science*, 75, **817- 819**.

Hubac, C. & Vieira Da Silva, J. 1980. Indicateurs métaboliques de contraintes mésologiques. *Physiol. Vég.* , 18, pp. **45-53**.

Huang, A-H-C. ; Cavalieri A-J. 1979. Proline oxidase and water stress-induced proline accumulation in spinach leaves. *Plant. Physiol.*, 63, pp. **531-535**.

Hucl, P. 1996. « Out-crossing Rates for Ten Canadian Spring Wheat Cultivars ». *Can. J. Plant Sci./Revue canadienne de phytotechnie*, 76:**423-427**. International Grains Council. 2002. *World Grains Statistics*. p **13-17**.

Hucl, P. et M. Matus-Cadiz. 2001. « Isolation distances for minimizing outcrossing in spring wheat. » *Crop Sci.*, 41:**1348-1351**.

Iraki N.M., N. Singh, K. Bressan, R.A. Caprita, N.C. Cell .1989. Walls of tobacco cell and changes in composition associated with reduced growth upon adaptation to water and saline stress, *Plant Physiol.* 91 (1989) **48–53**.

Jackson R.B., J.S. Sperry, T.E. Dawston .2000. Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions, *Trends Plant Sci.* 5 (11) (2000) **482–488**.

Jacquard, C.2007. Embryogenèse pollinique chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) : importance du prétraitement, Docteur de l'Université de Reims Champagne-Ardenne Spécialité : Biologie et Physiologie Végétales

Jahier .J., Ri voa l. R., Yu.M.Q, Ab e l a r d .P. ,Tanguy A.M., Barloy D., 1998, Transfert of genes for resistance to cereal cyst nematode from *Aegilops variabilis* Eig to Wheat", *J. Gene. & breed.* 52 : **253-257**

Jain, S.K. 1975. « Population structure and the effects of breeding system ». Dans : Frankel, O.H. et J.G. Hawkes (éd.), *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow*. Cambridge Univ. Press. p. **15-36**.

Jahne-Gartner A, Lorz H. 1999. Protocols for anther and microspore culture of barley. *Methods Mol Biol* 111: **269–279**.

Jähne A., Lazzeri PA, Jäger-Gussen M, Lörz H. 1991. Plant regeneration from embryogenic cell suspensions derived from anther cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 82: **74-80**.

Jalani BS, Moss JP.1980. The site of action of the crossability genes (Krl , Kr2) between *Triticum* and *Seule*. 1. Pollen germination, pollen tube growth, and number of pollen tubes. *Euphyrica* 29 : **571-579**.

Jensen, C.J. 1977. Barley monoploïds and doubled monoploïds : Techniques and experience. Dans :*Proceeding of the Third International Barley Genetics Symposium*, Italy, 7-12 July 1975.

Johansson I., M. Karlsson, U. Johanson, C. Larson, P. Kjellbom.2000. The role of aquaporins in cellular and whole plant water balance, *BBA/Biomembranes* 1465 (1–2) (2000) 324–342

Kameli A, Lösel DM.1995. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *J Plant Physiol* 1995 ; 145 : 363- 369.

Kasha, K.J., A. Ziauddin et U.H. Cho . 1990. Haploids in cereal improvement: anther and microspores culture. p. 213-235 Dans Gustafson, J.P. (ed.). *Gene manipulation in plant improvement II. Plenum Press, New York, U.S.A.* p 668.

Kayani SA, Narvi HH and Ting I .1990. Salinity effects on germination and mobilization of reserves in jojoba seed. *Crop.sc* , 30, 704-708.

Kameli, A. et Lösel, D.M. 1995. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *J. Plant Physiol.*, 145 : 363-366.

Kameli A, Lösel D .1998. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *J Plant Physiol* 1995 ; 145 : 363-366.

Kauss, H. 1977. Biochemistry of regulation. In Northcote (Ed): *Intenational Review of Biochemistry*, II, p. 119-139.

Kiani A. R. AND S. M. Mirlatifi .2012. Effect of different quantities of supplemental irrigation and its salinity on yield and water use of winter wheat (*Triticum aestivum*) *Irrigation and drainage Irrig. and Drain.* 61:89–98 (2012)

Kicherer S., Backes G., Walther U. et Jahoor A.2000. Localising QTLs for leaf rust resistance and agronomic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 100 : p 881-888

Kimber G. et Riley G.1963. Haploid angiosperms. *The Botanical Review*(29) : p 480-509

Kimber, G. E.R. Sears.1987. « Evolution in the Genus *Triticum* and the Origin of Cultivated Wheat ». Dans : Heyne, E.G. (éd), *Wheat and Wheat Improvement*. American Society of Agronomy, Madison (WI). P. 31.

Khlestkina, E.K. , E.A. Salina. 2001. « Genome-specific markers of tetraploid wheats and their putative diploid progenitor species ». *Plant Breeding*, 120: 227-232.

Knobloch, I.W. 1968. A Checklist of Crosses in the Graminae. Department of Botany and Plant Pathology, Michigan State University, *East Lansing (Michigan), États-Unis.* p. 47-52.

Knott, D.R. 1960. « The Inheritance of Rust Resistance. VI. The Transfer of Stem Rust Resistance from *Agropyron elongatum* to Common Wheat ». *Can. J. Plant Sci./Revue canadienne de phytotechnie*, 41:109-123.

Knox, R.E., J.M. Clarke et R.M. DePauw .2000. « Dicamba and growth condition effects on doubled haploid production in durum wheat crossed with maize ». *Plant Breeding*, 119: 289-298.

Knudsen S, Due IK, Anderson SB. 1989. Components of response in barley anther culture. *Plant Breed* 103: 241–246.

Knight H. et Knight M. 2001. Abiotic stress signalling pathway: specificity and cross-talk. *Trends in Plant Science* 6 : 262-267

Koltunow A. et Grossniklaus U. 2003. APOMIXIS: a developmental perspective. *Annual Review of Plant Biology* 54(1): 547-574

Kouakou Tanoh H., Mongomaké Kon, Daouda Kone , Yatty Justin Kouadio, Michel Zouzou. 2008. Réponse physiologique au stade juvénile du génotype R405-2000 de cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) au déficit hydrique induit par le polyéthylène glycol, *Sciences & Nature Vol. 5 N°j (2008) : 81 – 87.*

Lamia Hamroun ; Mohsen; Hanana Chédly ; Abdelly. 2011. Exclusion du chlorure et inclusion du sodium: deux mécanismes concomitants de tolérance à la salinité chez la vigne sauvage *Vitis vinifera* subsp. *Sylvestris* (var. ‘Séjnène), Abdelwahed Ghorbel *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2011 15(3), 387-400.

Langridge P., Paltridge N. et Fincher G.2006. Functional genomics of abiotic stress tolerance in cereals. *Briefings in Functional Genomics and Proteomics*. 4(4) : 343-354.

Labrani Z, Richard N, de Buyser J, Picard E. 2005. Plantes chlorophylliennes de blé dur obtenues par culture de microspores isolées: importance de prétraitements. *Comptes Rendus Biologies* 328: 713–723.

Lapitan N.L.V.. R.G. Sears, B.S. Gill. 1984. Translocations and other karyotypic structural changes in wheat x rye hybrids regenerated from tissue culture. *Theor. Appl. Genet.* 68. 547-554

Lamb, R., R. McKenzie, I. Wise, P. Barker, M. Smith et O. Olfert.2000.« Resistance to wheat midge, *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae), in spring wheat (*Gramineae*)» *Can. Entomol.* 132:591–95.

Lamb, R., M. Smith, I. Wise, P. Clarke et J. Clarke .2001. « Oviposition deterrence to *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae): a source of resistance for durum wheat (*Gramineae*).» *Can. Entomol.* 133:79–91.

Langridge P., Paltridge N. et Fincher G.2006. Functional genomics of abiotic stress tolerance in cereals. *Briefings in Functional Genomics and Proteomics*. 4(4) : 343-354.

Laurie DA, Bennett MD .1988. Chromosome behaviour in wheat x maize, wheat x sorghum and barley x maize crosses. In : Bradham PE, ed. *Kew chromosome conferences III* : 167-177. Her Majesty’s Stationary Office, London.

Laurie, D.A. et Bennett, M.D. 1986. Wheat × maize hybridisation. *Can. J. Genet. Cytol.*, 28 : 313-316.

Laurie DA, Bennett MD.1988. Chromosome behaviour in wheat × maize, wheat × sorghum and barley × maize crosses. In: Bradham PE, ed. Kew chromosome conferences III: 167-177. *Her Majesty's Stationary Office, London*

Laure Gaufichon, Jean-Louis Prioul, Bernard Bachelier.2010. Quelles sont les perspectives d'amélioration génétique de plantes cultivées tolérantes à la sécheresse ? *Fondation FARM, Paris.p61*

Laurie DA, Bennett MD.1989. The timing of chromosome elimination in hexaploid wheat × maize crosses. *Genome* 32: 953-961.

Levent Tuna A., Cengiz Kayab , David Higgs, Bernardo Murillo-Amador, Salih Aydemir , Ali R. Girgin .2007. Silicon improves salinity tolerance in wheat plants, *Environmental and Experimental Botany Elsevier.*121: 1- 7.

Levitt J .1980. Response of plants to environmental stresses. II chilling freezing, ad high temperature stresses. 2^{ed}. *Academic press.* p 640.

Levitt . J .1972. Response of plants to environmental stress, *Academic Press, New York and London..*

Lepage-Degivry. MT et Bulard . C .1988. L'acid abscissique dans la régulation du développement embryonnaire et de la germination. *Bull Soc. Bot. Fr,* 4,p 19-32.

Levy Y., Shalhevet J. 1999. Ranking the salt tolerance of citrus rootstocks, by juice analysis. *Sci. Hort.* 45,

Lian-Quan Zhang Ze-Hong Yan Qi Jiang Deng-Cai Liu Shou-Fen Dai Ya-Qing Ye You-Liang Zheng Yun-Fang Li Yang Yen .2010. Frequent occurrence of unreduced gametes in *Triticum turgidum*–*Aegilops tauschii* hybrids *Euphytica* (2010) 172:285–294

Lignowski, E.M. & Splittstoesser, W.E. 1971. Arginine synthesis, proline synthesis and related process. In John & Thompson (Eds): *The Biochemistry of plants*, 25, pp. 225-229.

Linsmaier E. M et Skoog F. 1965. Organic growth factor requirement of tobacco tissue cultures. *Physio. Plant* 18: 100-127

Lugan Raphaël. 2008. Phénotypage métabolique des réponses aux stress abiotiques chez *Arabidopsis thaliana*. Analyse fonctionnelle et intégrative du métabolisme **THESE Doctorat L'UNIVERSITE DE RENNES 1**

Luo Mc. C. Yen Et J.L. Yang. 1992. Crossability and percentages of bread landraces from Sichuan Province, *China, with rye. Euphytica* 61: 1-7.

Lutts S; Almansoure M; Kinet J M.2004. Salinity and water stress have contrasting effects on the relationship between growth and cell viability during and after stress exposure in durum wheat callus *Plant Sci,* 167:9-18.

Mamedov, J., N. Zencirci, Z. Kaya, Y. Anikster et W.T. Adams. 1996. « Diversity of *Aegilops* in Azerbaijan. » Proceedings of international symposium on *in situ* conservation of plant genetic diversity, *Antalya (Turquie)*, du 4 au 8 novembre 1996. p. **189-193**.

Malasses L.1996. Economie de production et de consommation; Ed *ujas*; p **32-40**

Maan S.S. 1983. Interspecific hybrid sterility components in wheat. p. **29-37** in Proceedings of the 6th **Internatinal** Wheat Genetics Symposium, Kyoto, **Japan**.

Mansfield T A and Wilson J A .1981. Regulation of gas exchange in water stressed plants in johnson C B (ed) physiological processus limiting plant production *Butter-Worths, London* p **237-252**.

Mansfield T A and Wilson J A .1981. Regulation of gas exchange in water stressed plants in johnson C B (ed) *physiological processus limiting plant production* pp **237-252**. Butter-Worths, London

Maas EV, Hoffman GJ. 1977. Crop salt tolerance. *Current Assessment. J Irrig Div, ASCE*; 103 : p**115-134**.

Malek – Maalej E, Boulasenem F, Bensalem M .1998. Effet de salinité sur la germination de graines des céréales cultivée en tunisie. *Cahier Agricultures. 7* , **153- 156**.

Marambe B, ndo T. 1995. Physiological basis of salinity tolerance of sorghum seeds during germination . *J. Agron. Crop Sci*, 174 (5), **291- 296**.

Martinez JP., H.Silva, JF.Ledent and M.Pinto. 2007.Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *European journal of agronomy. Jan.*, Vol. 26,1,p. **30-38**.

Mairon Y et Geslot A .1987. Etude expérimentale des conditions de la germination in vitro des semences de *Jasminum fruticans ecol medit11* (3), p **1- 9**.

Maas EV, Hoffman GJ. 1977. Crop salt tolerance. *Current Assessment. J Irrig Div, ASCE*; 103 : **115-134**.

Martin, T,J. 1990. « Out-crossing in Twelve Hard Red Winter Wheat Cultivars. » *Crop Sci*, 30:**59-62**.

Matzk, F.,and A Mahn. 1994. Improved technique for haploids production in wheat using chromosome elimination. *Plant breeding* 113, **125-129**

Mezni M., A. Albouchi, E. Bizid et M.Hamza.2002. Effet de la salinité des eaux d'irrigation sur la nutrition minérale chez trois variétés de luzerne pérenne (*Medicago sativa*).*Agro.*,(22)p**283–291**.

M'hedhbi K. Semis.1996. Cultures du blé et de l'orge dans les régions semi-arides de la tunisie. *E.S.A.K*, p **8-25**

Mihamou-Ziyyat A.1992. Réactions aux températures élevées du blé tendre au cours de l'androgenèse *in vitro* et conséquences sur la physiologie des plantes obtenues. II. Recherches sur les méthodes de production d'haploïdes doublées de blé dur (*Triticum durum* Desf). *Thèse de Doctorat, Université Paris Sud XI, 224p.*

Minolta Co. Ltd .1989. Chlorophyll meter SPAD-502 *Instruction manual.*

Missra S Kemode A And Bewley Jd .1984. Maturation Drying As The Switch That Terminates Seed Development and Promotes Germination In Molecular Form And Function Of The Plant Genome. *Plenum New York Van Volten Dating Croot And Hall Edi p113 128.*

Mogensen HL. 1996. The hows and whys of cytoplasmic inheritance in seed plants. *Am J Bot* 83: **p383-404.**

Moinuddin A., R.Fischer, K.Sayre, M.P.Reynolds.2005.Osmotic Adjustment+ Wheat in Relation to Grain Yield under Water Deficit Environments.*Agro.J.97:1062-1071.*

Morris, L.C. ; Thompson, J.F. & Johnson, C.M. 1969. Metabolism of glutamic and N-acetyl glutamic E. H. Tahri & *al.* – Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline... 87 acid in leaf discs and cell-free extracts of higher plants. *Plant Physiol.*, 44, pp. **1023-1026.**

Morant-Manceau A, E. Pradier, G.Tremblin .2004. Osmotic adjustment, gas exchanges and chlorophyll fluorescence of a hexaploid triticale and its parental species under salt stress. *J. Plant Physiol.* 161. **p25–33**

Morgan JM .1984. Osmoregulation and waterin higher plants. Wheat conference 2-9 May, Rabat, Marocco. *Annu Rev Plant Physiol* 1984 ; 35 : **299-319.**

Mounir Denden,Béchir Ben Tiba, Wassila Hlaoua .2008. L es caractéristiques morphologiques, anatomiques et physiologiques de tolérance à la sécheresse du pêcher, du poirier et du pommier *Cahiers Agricultures* vol. 17, n° 5, septembre-octobre 2008.

Mouritzen P, Holm PB. 1994. Chloroplast genome breakdown in microspore cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.) occurs primarily during regeneration. *J plant Physiol* 144: **586-593.**

Munns. R, D.P. Schachtman, A.G. Condon .1995. The significance of a two-phase growth reponse to salinity in wheat and barley, *Aust. J. Plant Physiol.* 22 (1995) **561–569.**

Munns R., J.B. Passioura, J. Guo, O. Chazen, G.R. Cramer. 2000. Water relation and leaf expansion: importance of time scale, *J. Exp. Bot.* 51 (350) (2000) **1495–1504.**

Munns R. 2002.Comparative physiology of salt and water stress; *Plant,Cell and environment* 25, **p239–250**

Munns R., A.J.Richard, A. Lauchli .2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 57, No. 5, p. **1025–1043.**

Mujeeb-Kazi A, M. Bernard. 1982. Somatic chromosome variation in backcross¹ progenies from intergeneric hybrids involving some Triticeae. *Cereal Res. Comm.* 10 : 41-45.

Murashige T, Skoog F. A, 1962. Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiological plantum.* 15 (3): 473-497

Mustapha Labhilili, Kouider Brahmī, Mohamed Jlibene, Nasralhaq Nasrallah and Wang, G.Z., N.T. Miyashita , K. Tsunewaki . 1997. « Plasmon analyses of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR-single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) analyses of organellar DNA. » *PNAS.*, 94: 14570-14577.

Munns R. 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environ.* 16, p. 15–24.

Mustapha Labhilili, Kouider Brahmī , Mohamed Jlibene, Nasralhaq Nasrallah and Abdelkarim Pervical DC, Proctor JTA, Privé JP .1998. Gas exchange stem water potential and leaf orientation of *Rubus idaeus* L are influenced by drought stress. *J Horti Sci Biotechnol* 1998 6 : 831-840.

Navarro A.R, F. Rubio.2006. High-affinity potassium and sodium transport systems in plants *Journal of Experimental Botany*; 57(5):1149-1160

Nieman R Hand Shannon MC .1976. Screening plants for salinity tolerance, p 359- 367 in MJ Wright AND sa Ferrari (e). Plant adaptation to mineral stress in problem soils, *cornel univ agril.*

Nogués S., Cotxarrera L., Alegre L. et Trillas M. 2002. Limitations to photosynthesis in tomato leaves induced by *Fusarium wilt*. *New Phytologist* 154 : 461-470

Ober, E.S. , Sharp, R.E. 1994. Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. *Plant. Physiol.*, 105, pp. 981-987.

Orshinsky BR, Mc Gregor JL, Johnson G I E, Hucl P, Kartha KK. 1990. Improved embryoid induction and green shoot regeneration from wheat anthers cultured in medium with maltose. *Plant Cell Reports* 9: 365-369.

Otani M, Shimada T. 1994. Pollen embryo formation Oweiss Th. Y ; Zhang H (1998) : Water use efficiency : index for optimizing supplemental irrigation of wheat in water scarce areas. *J. Applied Irrigation Sciences*, : 321- 36

Ottow E., M. Brinker, E. Fritz, T. Teichmann, W. Kaiser, M. Brosche, J. Kangasjarvi, X. Jiang, and A.Polle.2005. *Populus euphratica* Displays Apoplastic Sodium Accumulation, Osmotic Adjustment by Decreases in Calcium and Soluble Carbohydrates, and Develops Leaf Succulence under Salt Stress 1. *Plant Physiology*, Vol. 139, p. 1762–1772.

Özgen (M.), Türet (M.), Özcan (S.), Sancak (C.) .1996. Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos of winter durum wheat genotypes. - *Plant Breed.*, 1996, 115(6), p455-458.

- P. Ge & C. Ma & S. Wang & L. Gao & X. Li & G. Guo & W. Ma & Y. Yan. 2012.** Comparative proteomic analysis of grain development in two spring wheat varieties under drought stress *Anal Bioanal Chem* (2012) 402:1297–1313
- Parida A.K. and AB.Das. 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants: *Rev.Ecotoxicol. nviron. Safety*, 60: 324-349.
- Paul M.H ; Planchon C; Ecochard R. 1979.** Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement à la productivité chez le soja, *Ann. Amelio. Plantes*, 29 (5) : 479-492
- Pervical DC, Proctor JTA, Privé JP.1998.** Gas exchange stem water potential and leaf orientation of *Rubus idaeus* L are influenced by drought stress. *J Hortic Sci Biotechnol* 1998 ; 6 : 831-40.
- Picard E., E. Crambes, G.S. Liu Et A. Mihamou-Ziyyat .1994.** Evolution des méthodes d'haplodiploïdisation et perspectives pour l'amélioration des plantes. *C. R. Soc.aBiol.* 188: 109-141.
- Pickering R.A. et P. Devaux .1992.** Haploid production: approaches and use in plant breeding. p. 519-547 Dans P.R. Shewry (ed.). *Barley: Genetics, Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology* . Biotechnology in Agriculture series no. 5. Wailingford, Oxon,UK. P 610.
- Picard, E. 1995.** Histoire des méthodes d'haploïdisation de 1922 à 1988. *Biotechnologie Végétale, Haploïdisation. AUPELF-UREF.*
- Picard E., E. Crambes, G.S. Liu Et A. Mihamou-Ziyyat. 1994.** Evolution des méthodes d'haplodiploïdisation et perspectives pour l'amélioration des plantes. *C. R. Soc. Biol.* 188: 109-141
- Pooja Mehta, Anjana Jajoo, Sonal Mathur, Sudhakar Bharti. 2010.** Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves, *Plant Physiology and Biochemistry* ,(48)P 16-20
- Powell W., Thomas W.T.B. et Thompson D.M.1992.** The agronomic performance of anther culture derived plants of barley produced via pollen embryogenesis. *Annals of Applied Biology* 120 : p 137-150
- Poorter.H .1989.** Interspecific variation in relative growth rate: on ecological consequences. In : Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants.
- Prakash, J. et K-L. Giles .1987.** Induction and growth of androgenic haploids. *Int. Rev. Cytol.* 107: 273-292.
- Prazak, R. 2001.** « Cross direction for successful production of F1 hybrids between *Triticum* and *Aegilops* species. » *Plant Breeding Seed Sci.*, 45: 83-86.
- Rayapati, P.J. ; Stewart, C.R. 1991.** Solubilization of proline dehydrogenase from maize (*Zea mays* L.) mitochondria. *Plant Physiol.*, 95, pp. 787-791.

Rakoczy-Trojanowska M, S'miech M, Malpszy S. 1997. The influence of genotype and medium on rye (*Secale cereale* L.) anther culture. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 48:15–21

Raissac D .1992. Mécanismes d'adaptation à la sécheresse et maintien de la productivité des plantes cultivées. *Gro Trop.*46 : 29-39

Reynolds TL, Kitto SL. 1992. Identification of embryoid- abundant genes that are temporally expressed during pollen embryogenesis in wheat anther cultures. *Plant Physiol* 100: 1744-1750.

Reddy, P.S. ; Eeranjaneyulu, K. 1991. Proline metabolism in senescing leaves of horsgram (*Macrotyloma uniflorum* Lam.). *J. Plant. Physiol.*, 137, pp. 381-383.

Riera-Lizarazu, O., W .G Dewey, and J.G Carman.1992.Gibberelic acid and 2, 4 D treatments for wheat × barley hybridization using detached spikes, *Crop Sci.*32, 108-114.

Robinson RA et Stokes R. 1970. electrolyte solution. The measurement and interpretation of conductance, chemical, potential and diffusion in solutions of simple electrolyte, *Sed London, butterworths, bath*, p 571.

Rode A, Hartmann C, Dron M, Picard E, Quéfier F. 1985. Organelle genome stability in anther derived doubled haploids of wheat (*Triticum aestivum* L.) cv. Moisson. *Theor. Appl. Genet* 71: 320-324.

Royo C., N. Aparicio , R. Blanco , D. Villegas.2004. Leaf and green area development of durum wheat genotypes grown under Mediterranean conditions, *Europ. J. Agronomy* 20 (2004) 419–430

Roza Gholamin and Majid Khayatnezhad. 2011. The Effects of water and salt stresses on germination in two bread wheat genotypes *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(77), pp. 17805-17811, 5 December, 2011

Ruiz D., Martinez V., Cerda A. 1999. Demarcating specific ion (NaCl, Cl⁻, Na⁺) and osmotic effects in the response of two *Citrus* rootstocks to salinity. *Sci. Hort.* 80, p. 213–224.

Saadollah Houshmand, Ahmad Arzani, Seyed Ali Mohamad Maibody, Mohammad Feizi. 2005. Evaluation of salt-tolerant genotypes of durum wheat derived from in vitro and field experiments, *Elsevier, Field Crops Research* 91 (2005) 345–354

Sangwan RS, Sangwan-Norreel BS. 1987. Ultra structural cytology of plastids of pollen grains of certain androgenic and non androgenic plants. *Protoplasma* 138: 11-22.

Sanchez FJ, Manzanares M, De Andres EF, Tenorio JL, Ayerbe L.1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Res* 1998 ; 59 : 225-235.

Saidi, N .,S. Cherkaoui, A, Chlyah, and H Chlyah.1998. Production of green haploid durum wheat plants by pollination of wheat with maize. *Can J Bot* .76, 652-656

Sacher MC, Staples RC, Robinson RW. 1982. Saline tolerance in hybrids of *Lycopersicon esculentum* x *Solanum pennellii* and selected breeding lines. In : A San Pietro ed. *Biosaline Research. A look to the future.* Plenum Press, New York, **325-336.**

Sanchez FJ, Manzanares M, De Andres EF, Tenorio JL, Ayerbe L .1998. Maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Res* 1998 ; 59 : **225-235.**

Saadollah Houshmanda, Ahmad Arzanib, Seyed Ali Mohamad Maibodyb, Mohammad Feizi .2005. Evaluation of salt-tolerant genotypes of durum wheat derived from in vitro and field experiments, *Field Crops Research* 91 (2005) **345–354**

Sarrafi A, Amrani N, Alibert G .1994. Haploid regeneration from tetraploid wheat using maize pollen. *Genome* ; 37 :**176-178**

Savaskan C , Ellerbrook C, Fish LS, Snape JW.1997. Doubled haploid production in turkish durum wheats using crosses with maize. *Plant breed.* 116 :**229-301.**

Schulz-Schaeffer, J. 1969. « The *Triticum* x *Agropyron* hybridization project at Montana State University », *Wheat Information Service*, No 30. **p. 26-29.**

Schmidt JW, Morris R, Johnson VA, Mattern PJ .1966. Comparison of the chromosome substitution and monosomie methods for wheat quality studies. *Crop Sci* 6 : **370-372.**

Scikh And Mahmood.1986. Some studies on field distribution and seed germination of *sueada fructicosa* and *sporobolus arabicus* with reference to salinity and sodicity of the medium plant and soil, 93 P **333- 340.**

Sears E.R. 198 1. Transfer of alien genetic material to wheat. p. 75-89 In *Wheat science - today and tomom.* Evans L.T. et Peacockli W.J. (Eds). *Cambridge univernity press.*

Shagguan ZP, Saho MA, Dykmans J.2000. Nitrogen nutrition and water stress effects on leaf photosynthetic gaz exchange and water use efficiency in winter wheat. *J Environ Exp Bot* 2000 ; 44 **p114-116.**

Sharma H.C. 1995. How wide can a wide cross be? *Euphytica* 82: **43-64.**

Sharma, H. et B.S. Gill .1983. « Current status of wide hybridization in wheat. » *Euphytica*, 32: **p17- 31.**

Shagguan ZP, Saho MA, Dykmans J .2000. Nitrogen nutrition and water stress effects on leaf photosynthetic gaz exchange and water use efficiency in winter wheat. *J Environ Exp Bot* 2000 ; 44 : **141-149.**

Simane, B., Struik, P.C., Nachit, M.M. et Peacock, J.M. 1993. Ontogenic analysis of yield stability of durum wheat in water-limited environments. *Euphytica*, 71 : **211-219.**

Singh, T.N. ; Paleg, L.G. & Aspinall, D. 1973. Nitrogen metabolism and growth in barley plant during water stress. *Aust. J. Biol. Sci.*, 26, pp. **45-56.**

Sing N.K., P.C. LaRosa, D. Nelson, N. Iraki, N.C. Caprita, P.M. Hasegawa, R.A. Bressan. 1989. Reduced growth rate and change in cell-wall protein of plant cell adapted to NaCl, in: J. Cherry (Ed.), Biochemical and physiological mechanism associated with environmental stress tolerance in plant, *Springer Verlag, Berli*.

Slama A, Ben Salem M, Zid .2004. La proline est-elle un osmorégulateur chez le blé dur ? Communication aux 15^{es} Journées biologiques, 18-21 mars 2004, *Forum des sciences biologiques, Association tunisienne des sciences biologiques*.

Slama A.1996. Effet d'une contrainte hydrique édaphique sur le développement du système racinaire de deux variétés de blé dur. *DEA de physiologie végétale, faculté des sciences de Tunis*.

Slama F. 1982. Effet du chlorure de sodium sur la croissance et la nutrition minérale : étude comparative de 6 espèces cultivées. *Thèse Doct. Etat Univ. Tunis, 214p*.

Slama A .2002. Étude comparative de la contribution des différentes parties du plant du blé dur dans la contribution du rendement en grains en irrigué et en conditions de déficit hydrique. *Thèse de doctorat en biologie, faculté des sciences de Tunis*.

Stewart, C.R., Boggess, F., Aspinall, D. Paleg, I.G.1977. Inhibition of proline oxidation by water stress. *Plant Physiol.*, 59, pp. 930-932.

Snape JW, Chapman V, Moss J, Blanchard CE, Miller TE .1979. The crossability of wheat with *Hordeum bulbosum*. *Heridity* 42 : 29 1-298

Sorrells ME, Diab A, Nachit M .2000. Comparative genetics of drought tolerance. Options méditerranéennes série A (*Séminaires méditerranéens*) 2000 ; 40 : 191-201.

Stewart, C.R. & Lee, J.A. 1974. The role of proline accumulation in halophytes. *Planta*, 120, pp. 273-289.

Stoskopf N.C. 1993. Interspecific and intergeneric hybridization. p. 345-37. In Plant breeding. Theory and practice. *Westview Press, Boulder*.

Stanley Lutts, Malika Almansouri, Jean-Marie Kinet.2004. Salinity and water stress have contrasting effects on the relationship between growth and cell viability during and after stress exposure in durum wheat callus , *Plant Science* 167 (2004) 9–18

Steduto. P, R. Albrizio, P. Giorio, G. Sorrentino .2000. Gas exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity 144 (3) (2000) 243–255

Suenaga, K and K Nakajima.1989. Efficient production of haploid wheat (*Triticum aestivum*) through crosses between Japanese wheat and maize(*Zea mays*) .*Plant Cell Rep* .8,263-266

Surget, A ; Barron, C, (2005). Histologie du grain de blé, *Industrie des céréales* n°145, P4-7.

Talamali I .2000. La libération du marché des céréales en Algérie ; *Blé 2000 Enjeux et stratégies* :11-20

Tal, M. ; Rosenthal, I. 1979. Salt tolerance in *Simmondria chenensis* water balance and accumulation of chloride sodium and proline under low and high salinity. *Ann. Bot.*, 34, pp. 701-708.

Talame V., Ozturk N., Bohnert H. et Tuberosa R. 2007. Barley transcript profiles under dehydration shock and drought stress treatments: a comparative analysis. *Journal of Experimental Botany* 58(2) : 229-240

Teakle NL, TJ Flowers, D Real, TD Colmer.2007. *Lotus tenuis* tolerates the interactive effects of salinity and waterlogging by 'excluding' Na⁺ and Cl⁻ from the xylem. *Journal of Experimental Botany*, published online on May 17, 2007.

Thom. E.C .1992. Selective Chromosome ELimination in Barley : the 'Bulbosum S ystem' . Possibilities and Limitations in Plant Breeding. *Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden* p 63.

Thomas W., Forster B. et Gertsson B. 2003. Doubled haploid in breeding. In : M. Maluszynski, KJ. Kasha, BP. Forster and I. Szarejko (éds). Doubled haploid production in crop plants, *a manual. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers* : p 337-349

Touraev A., Pfosser M. et Heberle-Bors E. 2001. The microspore: a haploid multipurpose. *Advances in Botanical Research* 35 : p 53-109

Triboi E; Planchon J; Magne J .1985. Déterminisme du poids moyen du grain chez le blé. Effet sur la variation du rendement *CR Acad. Agri de France.* 71 : 871-886.

Trinchant J.C., A Boscari, G. Spennato, G. Van de Sype and D. Le Rudulier. 2004. Proline Betaine Accumulation and Metabolism in Alfalfa Plants under NaCl Stress. Exploring Its Compartmentalization in Nodules *Plant Physiology*, Vol. 135,p.1583-594

Tranquillini W.2008. Water relations and alpine timberline. In: Lange O, Knappen L, Schulze ED, eds. *Water and plant life.* Berlin ; Heidelberg ; New York : Springer Verlag., *Cahiers Agricultures* vol. 17, n° 5, septembre-octobre 2008

Troll W. J. Lindsley. 1955. A photometric method for the determination of proline; *J.Biochem:* 655-660.

Tsunewaki K. 1992. Aneuploid analysis of hybrid necrosis and hybrid chlorosis in tetraploid wheats using D genome substitution lines of durum wheat. *Genome* 35: 594-601.

Tuna A.L; Kaya C; Higgs D; Murillo Amador B; Aydemir S; Gergin A.R.2008. Silcon improve salinity tolerance in wheat plant *Enviro.Exp. Bot.* 62: 10-16

Turner NC .1986. Adaptation to water deficit: a changing perspective. *Aust J Plant Physiol* 1986 ; 13 : 175-190.

- Turesson IKD, Pedersen S, Andersen SB. 1989.** Nuclear genes affecting albinism in wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. *Theor Appl Genet* 78: **879-883**.
- Van Slageren, M.W.1994.** Wild wheats: a monograph of Aegilops L. and Amblyopyrum (Jaub.& Spach) Eig (Poaceae). *Wageningen Agriculture University Papers*, 1994(7).
- Vergne P, Riccardi F, Beckert M, Dumas C. 1993.** Identification of a 32 kDa anther Marker protein response in maize, *Zea mays* L. *Theor Appl Genet* 86: **843-850**.
- Verslues P., Agarwal M., Katiyar-Agarwal S., Zhu J. et Zhu J. 2006.** Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal* 45 : **523-539**
- Vieira D ; Silva; J ; Pham . THI and Zuily Fodil . Y .1990.** Workshop Européen sur la physiologie, la Biochimie et la génétique de la résistance à la sécheresse chez les plantes. *Colloque.Sci. Bot. Fr*, **P 147**
- Vlentin C .1994.** Sécheresse et érosion au sahel *Rev. Sécheresse* , 5, **191-198**.
- Walker RR., Torokfalvy E., Downton JS. 1982.** Photosynthetic responses of the *Citrus* varieties *Rangpur lime* and *Etrog citron* to salt treatment. *Aust. J. Plant Physiol.* 9, p. **783–790**
- Wall, AM, R. Ripley , M.D. Gale.1971.** « The position of a locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing ». *Genet Res.*, 18: **329-339**.
- Wang X.Z. , H. Hu. 1985.** The chromosome constitution of plants derived from pollen of hexaploid triticale x common wheat F1 hybrid. *Theor. Appl. Genet.* 70: **92-96**.
- Wangxia Wang ., Basia Vinocur ., Arie Altman.2003.** Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance, *Planta* **218: 1–14**
- Wang M, Höekstra S, van Bergen S, Lamers GEM, Oppedijk BJ, van der Heijden MW, van Bergen S, Lamers GEM, Oppedijk BJ, Schilperroort RA.1999.** Programmed cell death during androgenesis in *Hordeum vulgare* L. In: Clement C, Pacini E, Audran JC (eds) *Anther and Pollen: From Biology to Biotechnology*. Springer, verlag, Berlin, Heidelberg, Tokyo. pp. **201-209**.
- Winter E, Lauchli A. .1982.** Salt tolerance of *Trzfbilion alexandrinum* L. 1. Comparison of the salt response of *T. alexandrinum* and *T. pratense*. *Aust J Plant Physiol* ; 9 : **221-226**.
- Wyn Jones, R.G. and Gorham, J. 1989.** Use of physiological traits in breeding for salinity tolerance. Dans : *Drought Resistance in Cereals*, Baker F.W.G. (ed.). *CAB International, Wallingford*.
- Yanhai Zheng Aijun Jia, Tangyuan Ning, Jialin Xu, Zengjia Li, Gaoming Jiang.2008.** Potassium nitrate application alleviates sodium chloride stress in winter wheat cultivars differing in salt tolerance, *Journal of Plant Physiology* 165 (2008) **1455-1465**

Yang J. , R.G.Sears, B.S. Gill & G.M. Paulsen .2002. Growth and senescence characteristics associated with tolerance of wheat-alien amphiploids to high temperature under controlled conditions *Euphytica* 126: **185–193**, 2002.

Ykhlef N. 1993. Effet de l'addition de l'azote et du potassium sur la tolerance du poivron doux à l'eau d'irrigation sale. Séminaire Maghrébin sur la protection de la nature, Novembre 1993, ISN Annaba Algérie.

Ykhlef N Djekoun A ; Bensari M ; Vignes D.1998.L'efficacité d'utilisation de l'eau : Marqueur physiologique de la résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf), Sciences&TechnologieN°10 :**87-92**.

Yeo, A.R and Flowers T. J .1982. Accumulation and localization of sodium ion, within the shoots of rice (*Oryza sativa*) varieties differing in : salinity resistance *PL physiol.* 56 : **343-348**.

Yeo AR, Flowers TJ. 1986.Salinity resistance in rice (*Coryza sativa* L.) and pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. *Aust J Plant Physiol* ; 13 : **163-173**.

Zerrad W, Hillali S, Mataoui B.S, Elantri E, Elhmyene A .2006. Etude des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur, *congrée internationale de biochimie Agadir* 09-12 Mai 2006.

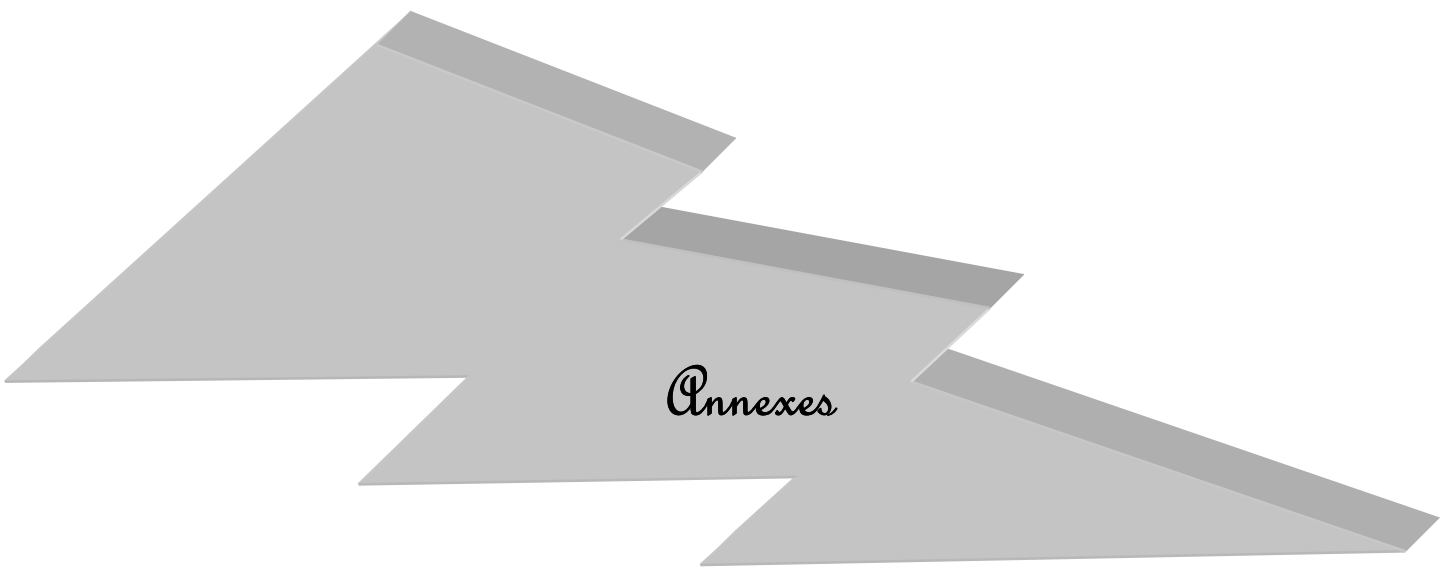
Zhao K., R. Munns, R.W. King .1991. Abscissic acid synthesis in NaCl treated barley, cotton and saltbush, *Aust. J. Plant Physiol.* 18 (1991) **17–24**.

Zhang J, Nguyen HT, Blum A .1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crops plants. *J Exp Bot* 1999 ; 50 : **291-302**.

Zentkeler M, Nitzsche W 1984. Wide hybridization experiments in cereals. *Theor Appl Genet* 68 : **311-315**.

Ziauddin, A., A. Marsolais, E. Simion et KJ. Kasha .1992. Improved plant regeneration from wheat anther and barley microspore culme using phenylacetic acid (PAA). *Plant Cell Rep.* 11 : **489-498**.

Zhuang J., X. Jia, Gq. Chen Et S. Shancheng. 1985. Factors affecting the induction of pollen plants of intergeneric hybrids of *Triticum aestivum* × *Triticum-Agropyron*. *Theor. Appl. Genet.* 70: **294-299**.



Annexe I : Milieu MS (Murashag et Skoog, 1962)

Constituant	Solution mère (mg/l)	Volume à ajouter ml/l)	Concentration finale (mg/l)
Macro – éléments 20X			
NH ₄ NO ₃	33000	50ml	1650
KNO ₃	38000		1900
CaCl ₂ – 2H ₂ O	8800		440
MgSO ₄ – 7 H ₂ O	7400		370
KH ₂ PO ₄	3400		170
Micro – éléments 100X			
MnSO ₄ – H ₂ O	2230	10ml	22.3
ZnSO ₄ – 7H ₂ O	860		8.6
H ₃ BO ₃	620		6.2
KI	83		0.83
Na ₂ MoO ₄ – 2H ₂ O	25		0.25
CuSO ₄ – 6H ₂ O	2.5		0.025
CoCl ₂ – 6H ₂ O	2.5		0.025
Fer 100 X		10ml	
Na ₂ EDTA	3730		37.3
FeSO ₄ – 7H ₂ O	2780		27.8
Acides aminés et Vitamines 10X			
Glycine	20 mg pour 100 l	10ml	2.0
Ac.Nicotinique	5 mg pour 100 l		0.5
Pyridoxine – HCl	5 mg pour 100 l		0.5
Thiamine - HCl	1 mg pour 100 l		0.1
Sucres			
Myo – inositol			100
Saccharose			30000
Agar			10000

Annexe II

Tableau I : Composition chimique du milieu de Gamborg (B5) utilisé en culture des embryons

constituants	Concentration	
Macro-éléments	mg/l	Mm/l
KNO ₃	2500	25
CaCl ₂ .2H ₂ O	150	1
MgSO ₄ .7H ₂ O	250	1
(NH ₄) ₂ SO ₄	134	1
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	150	1.1
Micro-élément	Mg/l	µm/l
KI	0.75	4.5
H ₃ BO ₃	3.0	48.6
MnSO ₄ .4H ₂ O	10.0	59
ZnSO ₄ .7H ₂ O	2.0	7
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	.25	1
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.1
CoCl ₂ .6H ₂ O	.025	0.1
Na ₂ FDTA	37.3	100
H ₂ OFeSO ₄ .	27.8	100
Vitamines	Mg/l	µm/l
Méso-inositol	100.0	1110
Acide nicotinique	1.0	8
Thiamine HCl	10.0	3
Pyridoxine HCl	1.0	4.8
Acides amines	Mg/l	µm/l
L-asagine	10	66.60
L-cysteine	20	165.70
L-alanine	50	561.23
L-leucine	10	76.23
L-trypyophane	10	49
saccharose	20 g/l	
Agar	7.5g/l	
PH	5.5	

Tableau II: Composition des solutions mère et finales du milieu de culture

constituants	Solution mère (g/l)	Concentration finale (mg/l)	Volume à ajouter (ml/l)
Macro-éléments ×10 KNO ₃ CaCl ₂ .2H ₂ O MgSO ₄ .7H ₂ O (NH ₄) ₂ SO ₄ NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	25 1.5 2.5 1.34 1.5	2500 150 250 134 150	100 ml de la solution mère des macroéléments pour préparer 1 Litre du milieu de culture
Micro-éléments ×100 KI H ₃ BO ₃ MnSO ₄ .4H ₂ O ZnSO ₄ .7H ₂ O Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O CuSO ₄ .5H ₂ O CoCl ₂ .6H ₂ O	0.075 0.3 1.0 0.2 0.025 0.0025 0.00125	0.75 3.0 10.0 2.0 0.25 0.025 0.025	10ml de la solution mère des micro-éléments pour préparer 1Litre de milieu de culture
Fer ×10 Na ₂ FDTA H ₂ OFeSO ₄ .	0.01 0.1	37.3 27.8	100 ml de la solution mère de Fe-EDTA pour préparer 1 Litre de milieu de culture
Vitamins ×10 Acide nicotinique Thiamine HCl Pyridoxine HCl	0.01 0.1 0.01	(g/100ml) 1.0 10.0 1.0	10 ml de la solution mère des vitamines pour préparer 1 litre de milieu de culture
Acides aminés ×10 L-asagine L-cysteine L-alanine L-leucine L-trypyophane	0.1 0.2 0.5 0.1 0.1	(g/100 ml) 10 20 50 10 10	10 ml de la solution mère des acides aminés pour préparer 1 litre de milieu de culture
Sucres Méso-inositol saccharose	- -	100 20000	- -
agar	-	7500	-

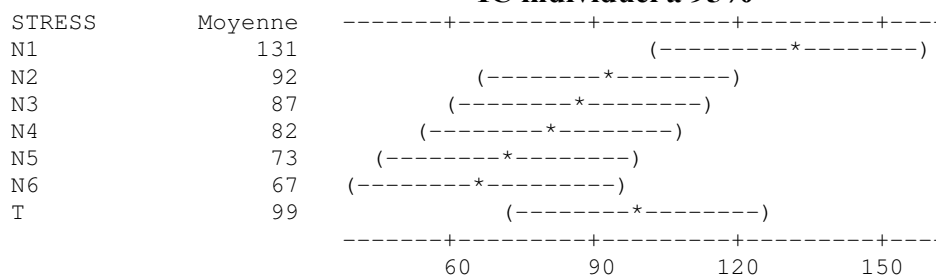
Annexe III- L'étude statistique pour le chapitre (III)

ANOVA à deux facteurs contrôlés : TG (Taux de germination) en fonction de STRESS (stress salin) ; (Variété) VAR

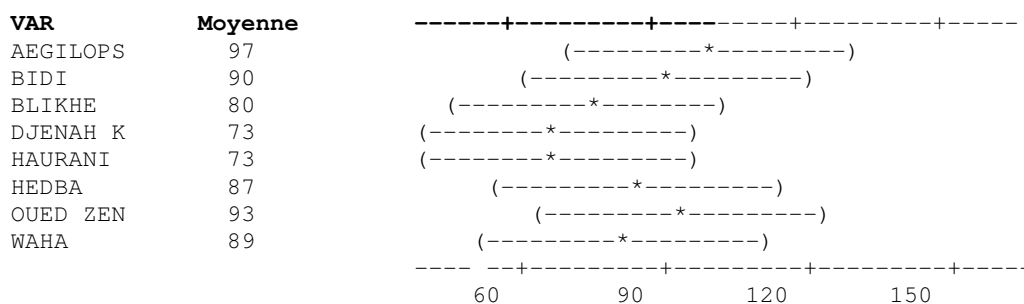
Analyse de variance pour TG

Source	DL	SC	CM	F	P
STRESS	6	62763	10460	2,28	0,041
VAR	7	58588	8370	1,82	0,089
Interaction	42	186993	4452	0,97	0,531
Erreur	112	513840	4588		
Total	167	822183			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

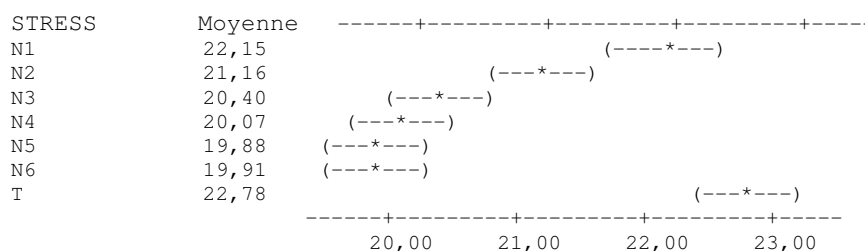


ANOVA à deux facteurs contrôlés : VG (Vitesse de germination) en fonction de STRESS(stress salin) ; VAR (Variété)

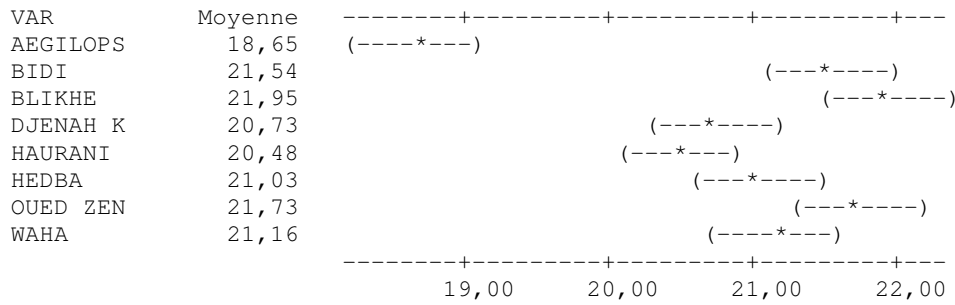
Analyse de variance pour VG

Source	DL	SC	CM	F	P
STRESS	6	195,092	32,515	32,75	0,000
VAR	7	157,799	22,543	22,71	0,000
Interaction	42	29,920	0,712	0,72	0,889
Erreur	112	111,187	0,993		
Total	167	493,998			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

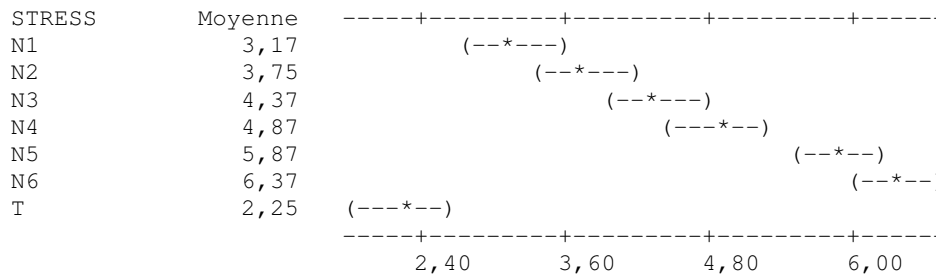


ANOVA à deux facteurs contrôlés : DG (Durée de germination) en fonction de STRESS (Stress salin) ; VAR (Variété)

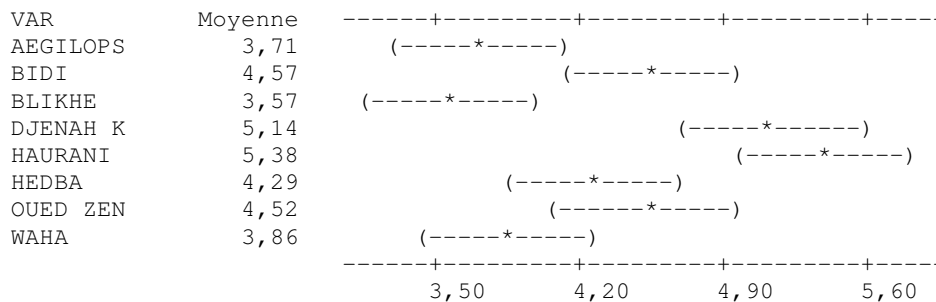
Analyse de variance pour DG

Source	DL	SC	CM	F	P
STRESS	6	308,79	51,46	51,46	0,000
VAR	7	63,43	9,06	9,06	0,000
Interaction	42	77,40	1,84	1,84	0,006
Erreur	112	112,00	1,00		
Total	167	561,62			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

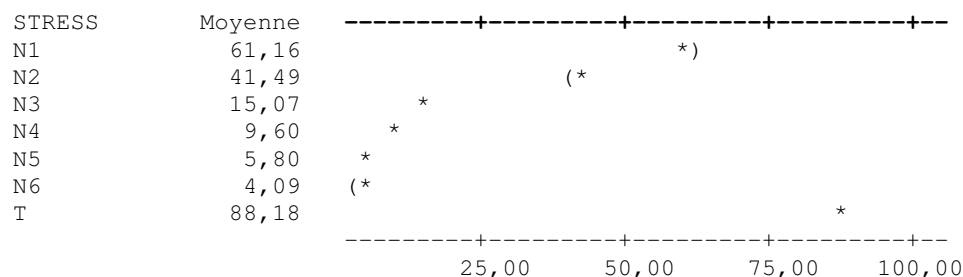


ANOVA à deux facteurs contrôlés : HR (Hauteur de la radicule) en fonction de Stress salin et variété (Var)

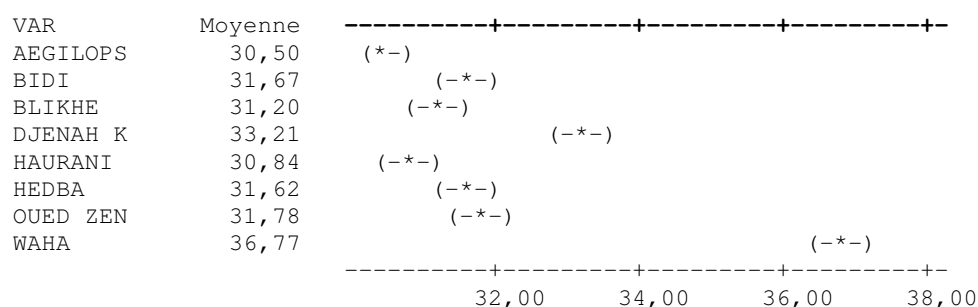
Analyse de variance pour HR

Source	DL	SC	CM	F	P
STRESS	6	152408,6	25401,4	3,4E+04	0,000
VAR	7	597,9	85,4	115,92	0,000
Interaction	42	4886,1	116,3	157,89	0,000
Erreur	112	82,5	0,7		
Total	167	157975,0			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

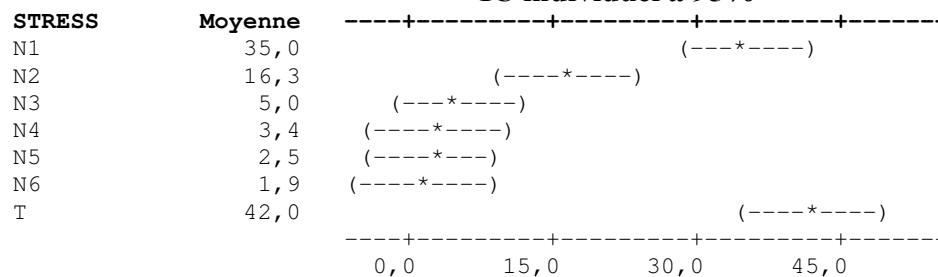


ANOVA à deux facteurs contrôlés : HE (Hauteur de l'épicotyle) en fonction de STRESS (Stress salin) ; (Variété) VAR

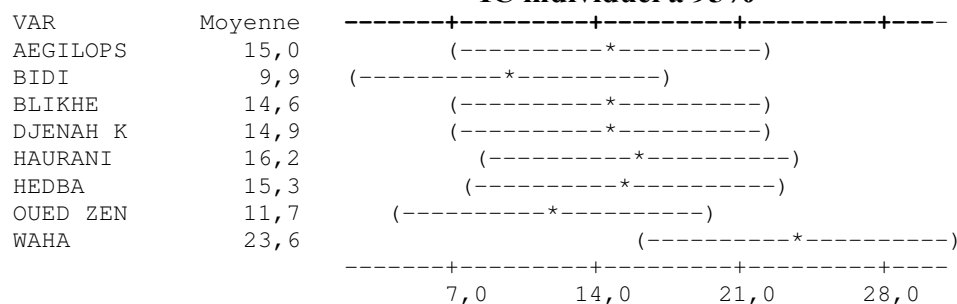
Analyse de variance pour HE

Source	DL	SC	CM	F	P
STRESS	6	40786	6798	21,24	0,000
VAR	7	2379	340	1,06	0,393
Interaction	42	17186	409	1,28	0,156
Erreur	112	35851	320		
Total	167	96202			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%



Corrélations: HR (Hauteur radicule); HE (Hauteur d'épicotyle); TG (Taux de germination); VG (Vitesse de germination); DG (durée de germination)

	HR	HE	TG	VG
HE	0,659			
TG	0,184	0,118		
VG	0,640	0,444	0,040	
DG	-0,693	-0,494	-0,149	-0,406

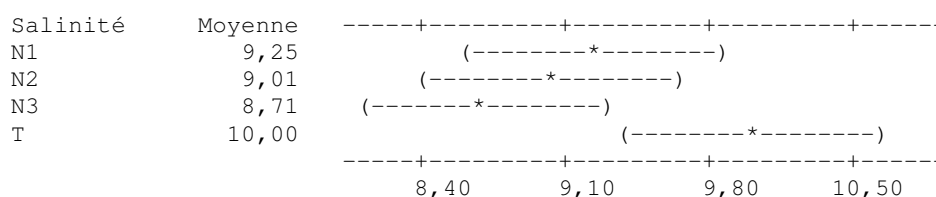
Annexe IV- L'étude statistique pour le chapitre (IV)

ANOVA à deux facteurs contrôlés : Hauteur de la plante en fonction de la Salinité; variété (stade tallage)

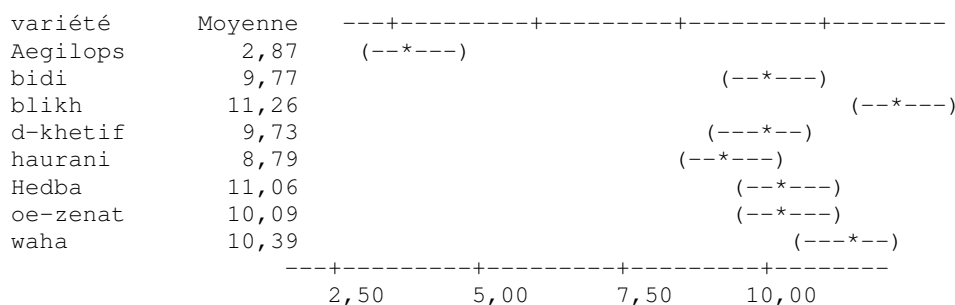
Analyse de variance pour Hauteur

Source	DL	SC	CM	F	P
Salinité	3	21,79	7,26	3,15	0,029
Variété	7	609,22	87,03	37,71	0,000
Erreur	85	196,18	2,31		
Total	95	827,19			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

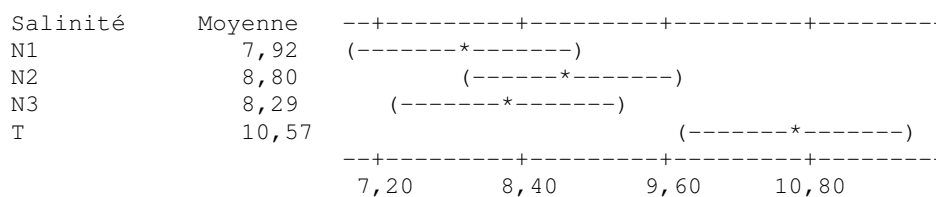


ANOVA à deux facteurs contrôlés : Surface foliaire en fonction de Salinité; variété (stade tallage)

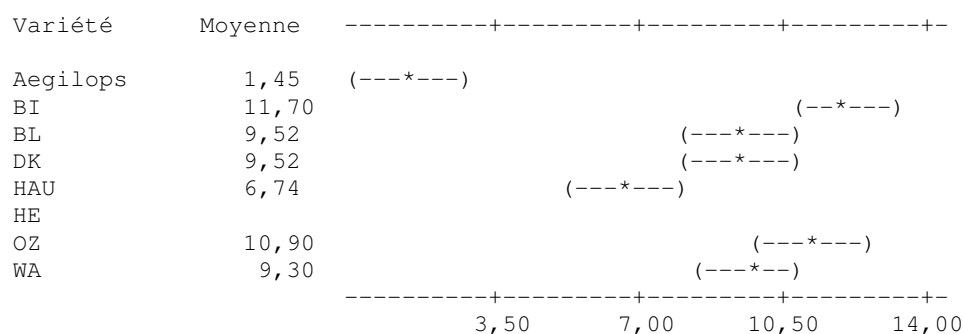
Analyse de variance pour Surface

Source	DL	SC	CM	F	P
Salinité	3	99,77	33,26	6,32	0,001
Variété	7	992,88	141,84	26,94	0,000
Erreur	85	447,56	5,27		
Total	95	1540,21			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

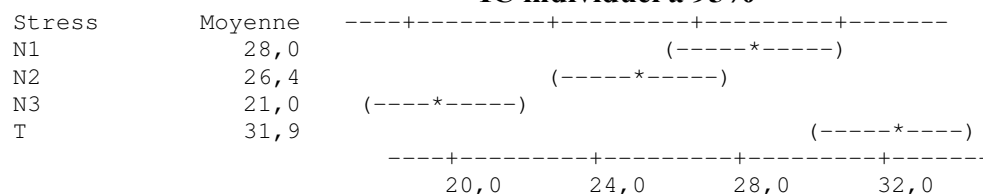


ANOVA à deux facteurs contrôlés : la hauteur en fonction de stress; variété (stade épiaison)

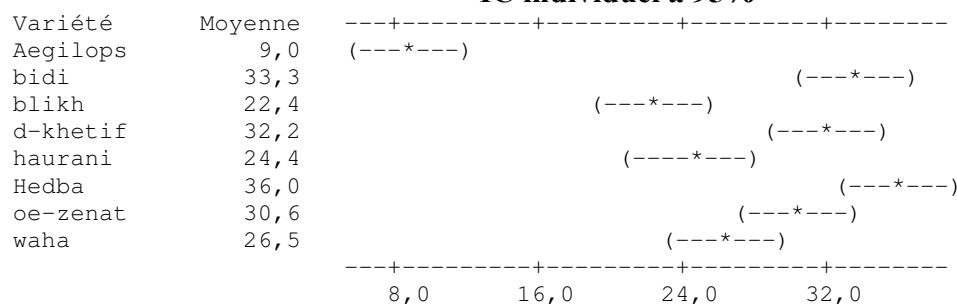
Analyse de variance pour la haute

Source	DL	SC	CM	F	P
Stress	3	1474,6	491,5	15,51	0,000
Variété	7	6149,1	878,4	27,73	0,000
Erreur	85	2692,9	31,7		
Total	95	10316,6			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

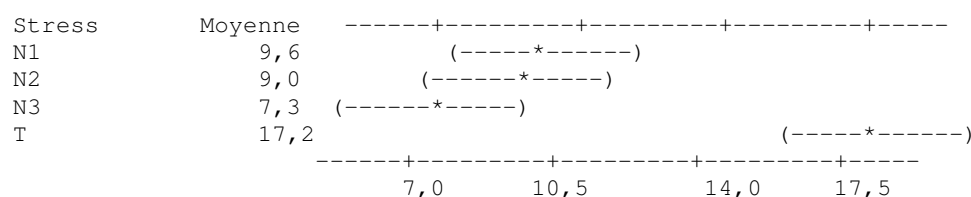


ANOVA à deux facteurs contrôlés : surface foliaire en fonction de stress; variété (stade épiaison)

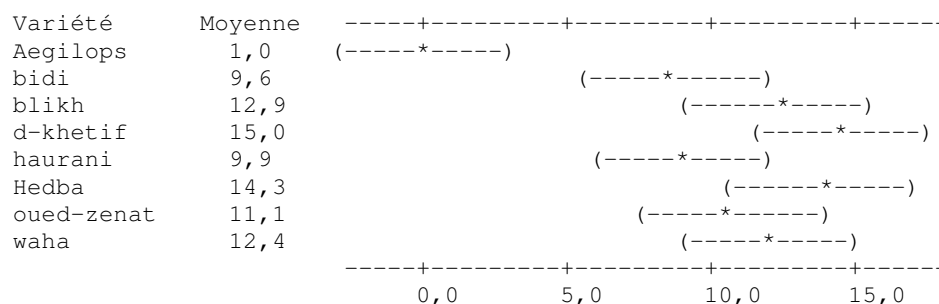
Analyse de variance pour surface

Source	DL	SC	CM	F	P
Stress	3	1405,7	468,6	15,50	0,000
Variété	7	1625,3	232,2	7,68	0,000
Erreur	85	2569,5	30,2		
Total	95	5600,4			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

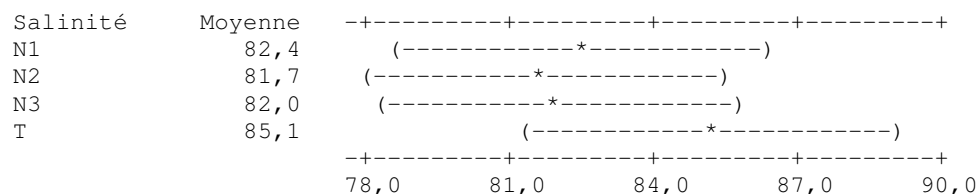


ANOVA à deux facteurs contrôlés : Teneur relative en fonction de Salinité; variété(stade tallage)

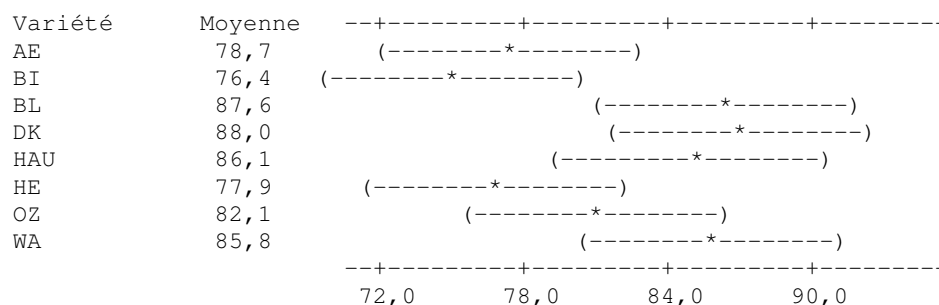
Analyse de variance pour Teneur relative en eau

Source	DL	SC	CM	F	P
Salinité	3	171,4	57,1	0,63	0,598
Variété	7	1830,8	261,5	2,88	0,010
Erreur	85	7723,3	90,9		
Total	95	9725,4			

IC individuel à 95%



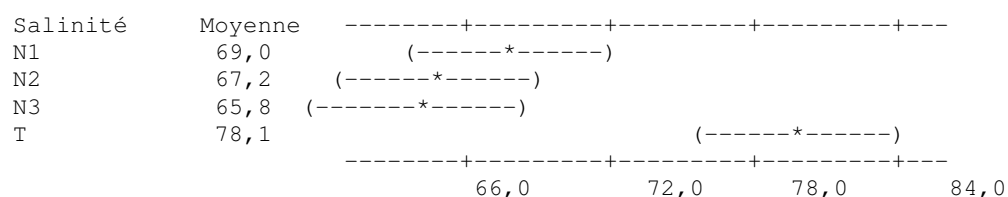
IC individuel à 95%



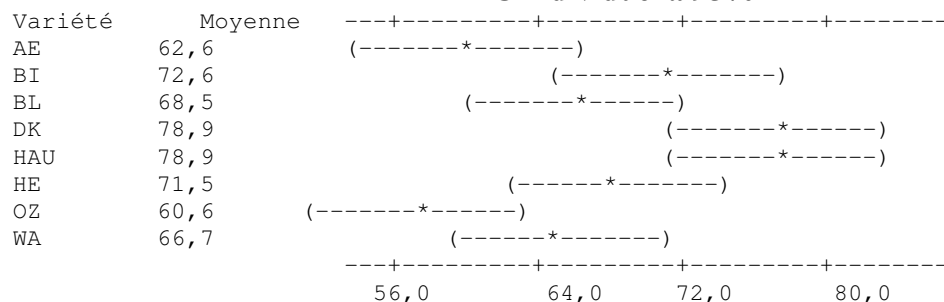
Analyse de variance pour la Teneur relative en eau stade épiaison

Source	DL	SC	CM	F	P
Salinité	3	2212	737	6,28	0,001
Variété	7	3880	554	4,72	0,000
Erreur	85	9975	117		
Total	95	16068			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

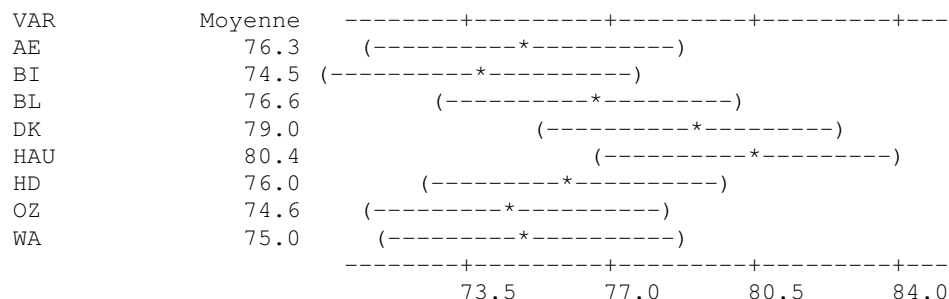


ANOVA à deux facteurs contrôlés : TRE en fonction de VAR; DUR

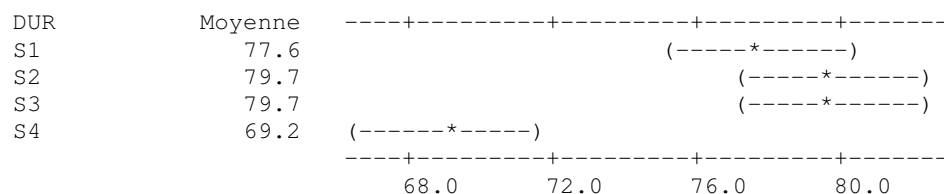
Analyse de variance pour TRE

Source	DL	SC	CM	F	P
VAR	7	376.7	53.8	1.29	0.268
DUR	3	1818.7	606.2	14.57	0.000
Interaction	21	2771.7	132.0	3.17	0.000
Erreur	64	2663.0	41.6		
Total	95	7630.1			

IC individuel à 95%



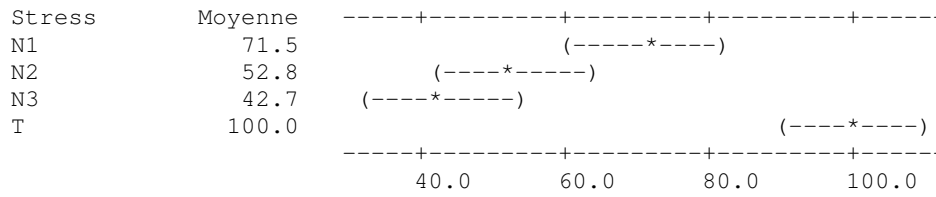
IC individuel à 95%



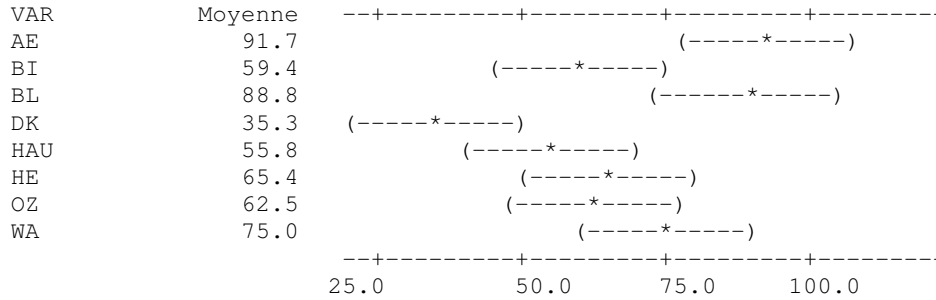
ANOVA à deux facteurs contrôlés : Taux de croissance relatif en fonction de la salinité; Variété au stade tallage

Source	DL	SC	CM	F	P
Stress	3	15233	5078	24.07	0.000
VAR	7	9424	1346	6.38	0.000
Erreur	21	4431	211		
Total	31	29088			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

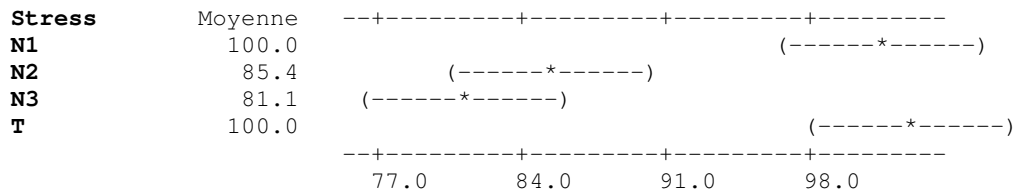


ANOVA à deux facteurs contrôlés : Taux de croissance relatif en fonction de stress; Variété au stade épiaison

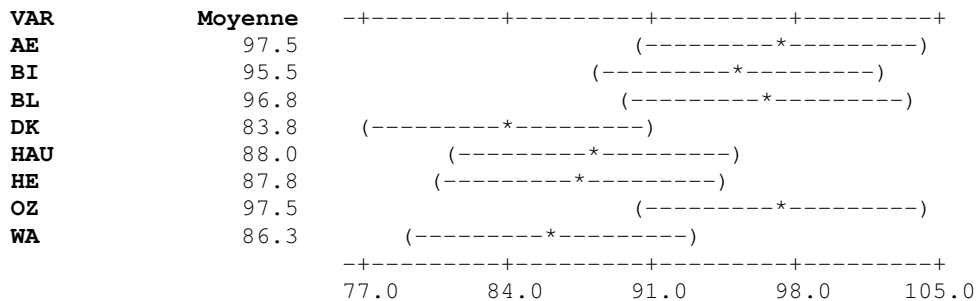
Analyse de variance pour Taux de croissance relatif

Source	DL	SC	CM	F	P
Stress	3	2316.8	772.3	16.98	0.000
VAR	7	917.5	131.1	2.88	0.028
Erreur	21	955.3	45.5		
Total	31	4189.5			

IC individuel à 95%



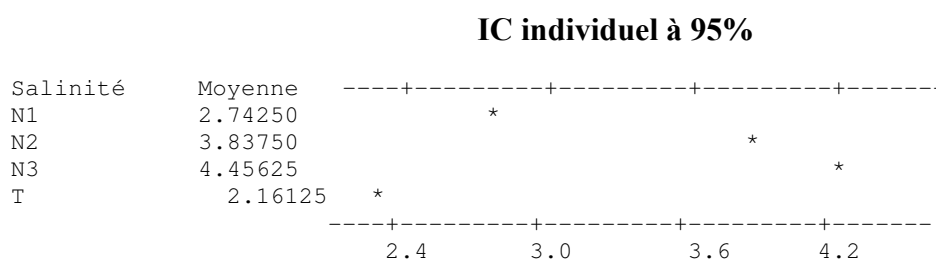
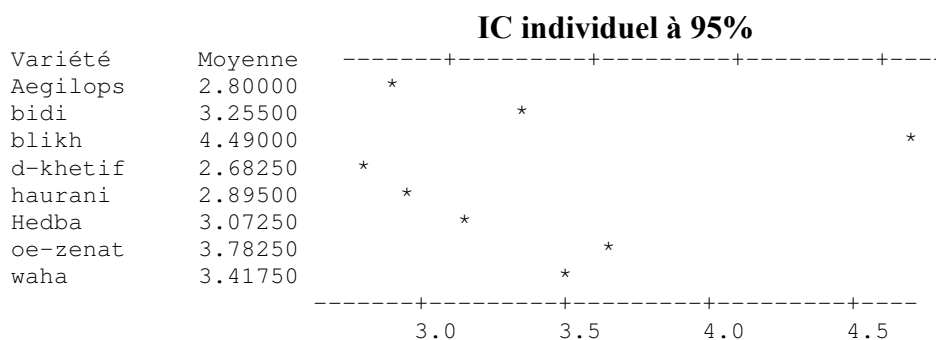
IC individuel à 95%



ANOVA à deux facteurs contrôlés : Résistance stomatique en fonction de variété; Salinité (stade tallage)

Analyse de variance pour Résistance

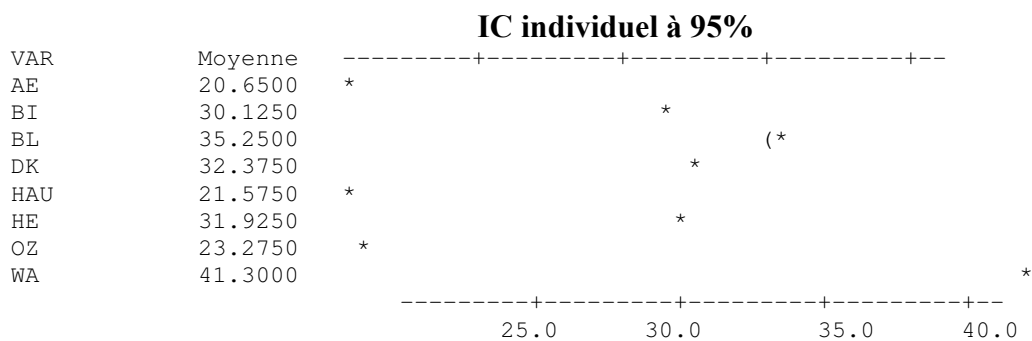
Source	DL	SC	CM	F	P
Variété	7	30.1419	4.3060	1.9E+16	0.000
Salinité	3	77.6010	25.8670	1.2E+17	0.000
Interaction	21	19.3173	0.9199	4.1E+15	0.000
Erreur	64	0.0000	0.0000		
Total	95	127.0602			



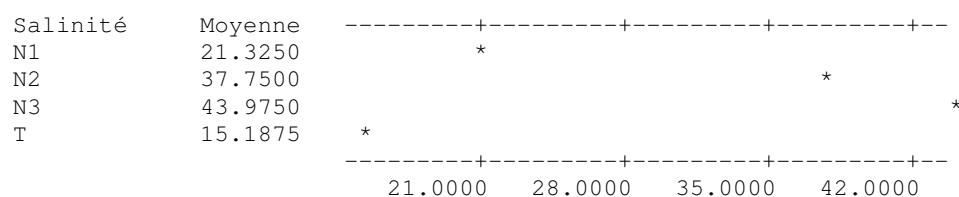
ANOVA à deux facteurs contrôlés : Résistance stomatique en fonction de VAR; salinité (stade épiaison)

Analyse de variance pour Résistance

Source	DL	SC	CM	F	P
VAR	7	4400.28	628.61	1.1E+16	0.000
Salinité	3	13182.06	4394.02	7.7E+16	0.000
Interaction	21	2656.08	126.48	2.2E+15	0.000
Erreur	64	0.00	0.00		
Total	95	20238.41			



IC individuel à 95%

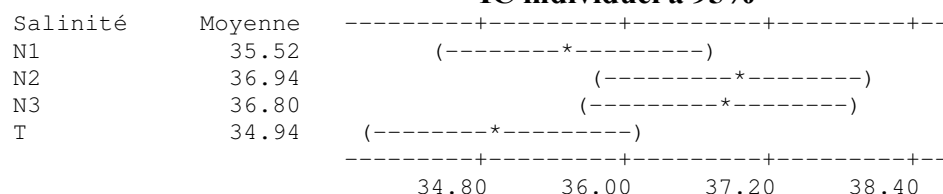


ANOVA à deux facteurs contrôlés : Chlorophylle en fonction de Salinité; variété (stade tallage)

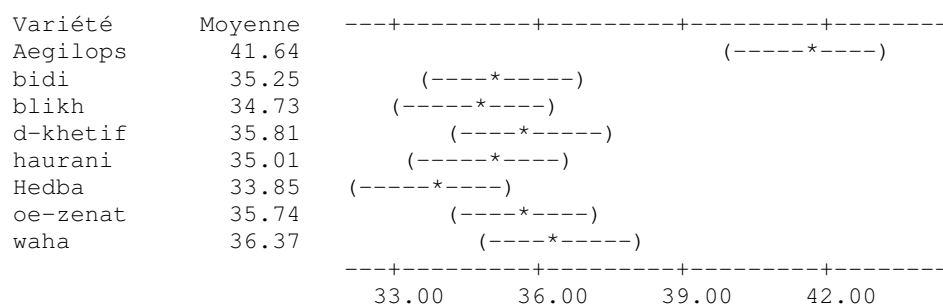
Analyse de variance pour Chlorophylle

Source	DL	SC	CM	F	P
Salinité	3	68.85	22.95	2.96	0.039
Variété	7	477.85	68.26	8.81	0.000
Interaction	21	467.94	22.28	2.87	0.001
Erreur	64	496.07	7.75		
Total	95	1510.71			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

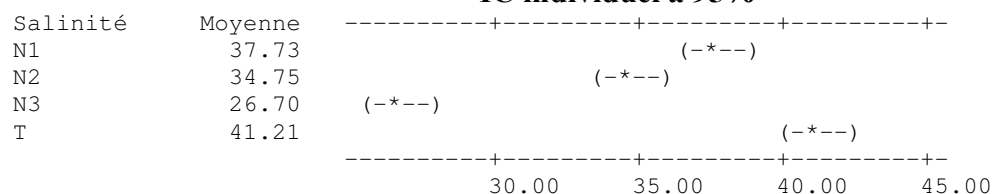


ANOVA à deux facteurs contrôlés : chlorophylle en fonction de la salinité, variété (stade épiaison)

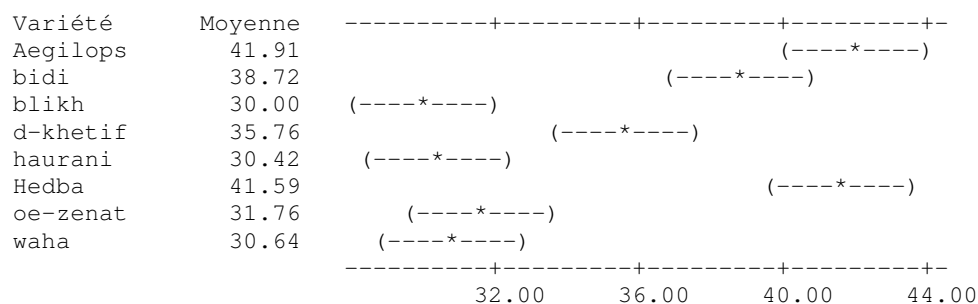
Analyse de variance pour chlorophylle

Source	DL	SC	CM	F	P
Salinité	3	2758.0	919.3	77.95	0.000
Variété	7	2171.9	310.3	26.31	0.000
Interaction	21	4796.6	228.4	19.37	0.000
Erreur	64	754.8	11.8		
Total	95	10481.3			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

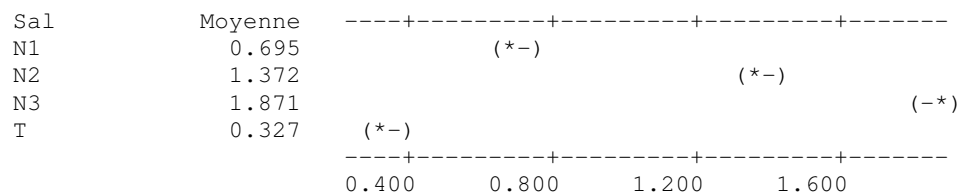


ANOVA à deux facteurs contrôlés : La teneur foliaire en Na⁺ en fonction de la salinité et de la variété

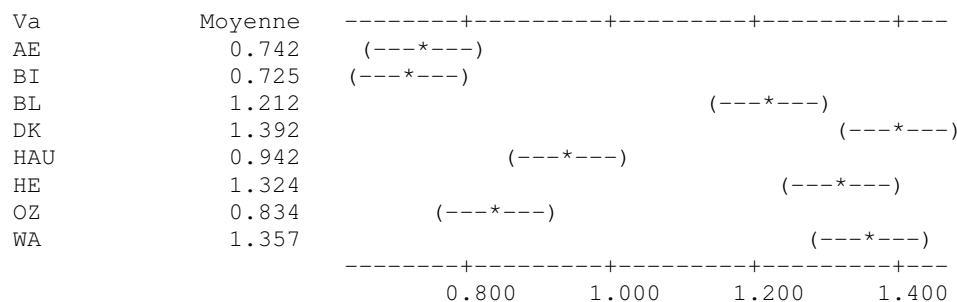
Analyse de variance pour Na⁺

Source	DL	SC	CM	F	P
Sal	3	22.7841	7.5947	582.18	0.000
Va	7	4.5568	0.6510	49.90	0.000
Interaction	21	6.2077	0.2956	22.66	0.000
Erreur	32	0.4174	0.0130		
Total	63	33.9659			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

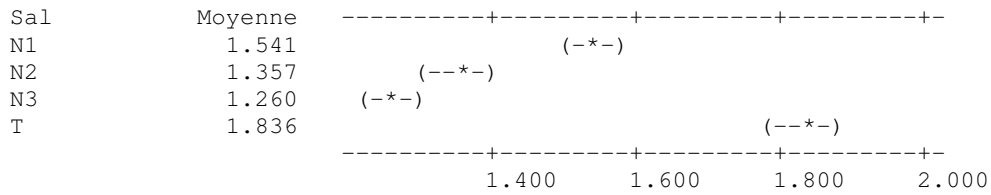


ANOVA à deux facteurs contrôlés : K⁺ en fonction de : salinité ; variété

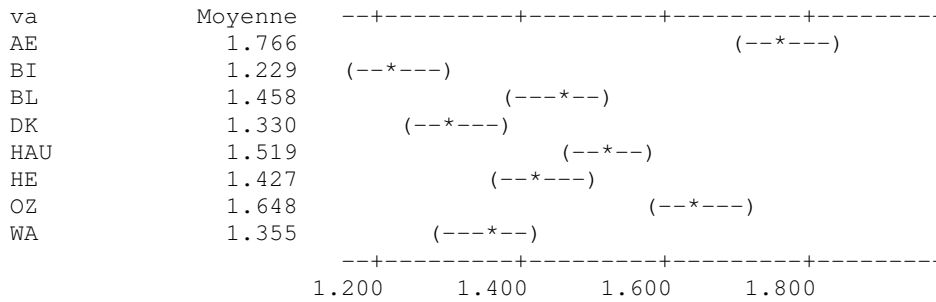
Analyse de variance pour K⁺

Source	DL	SC	CM	F	P
Sal	3	3.07550	1.02517	113.43	0.000
Va	7	1.61736	0.23105	25.56	0.000
Interaction	21	0.49759	0.02369	2.62	0.007
Erreur	32	0.28921	0.00904		
Total	63	5.47965			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

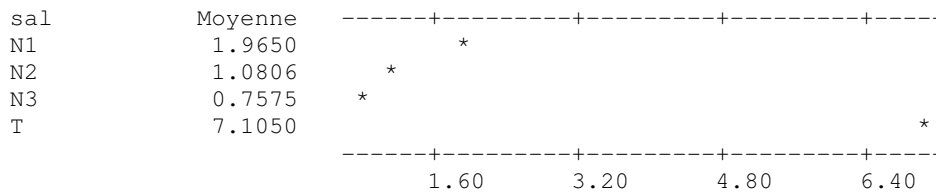


ANOVA à deux facteurs contrôlés : K^+/Na^+ en fonction de la salinité ; variété

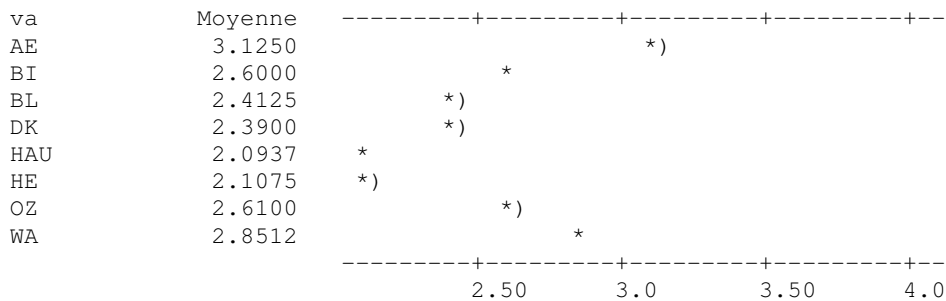
Analyse de variance pour K^+/Na^+

Source	DL	SC	CM	F	P
sal	3	421.3921	140.4640	2.2E+05	0.000
va	7	21.9962	3.1423	4893.14	0.000
Interaction	21	95.8061	4.5622	7104.15	0.000
Erreur	32	0.0205	0.0006		
Total	63	539.2149			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

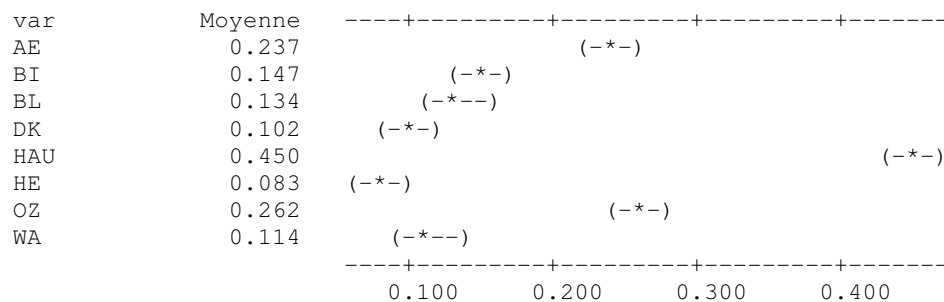


ANOVA à deux facteurs contrôlés : proline (stade tallage) en fonction de var; salin

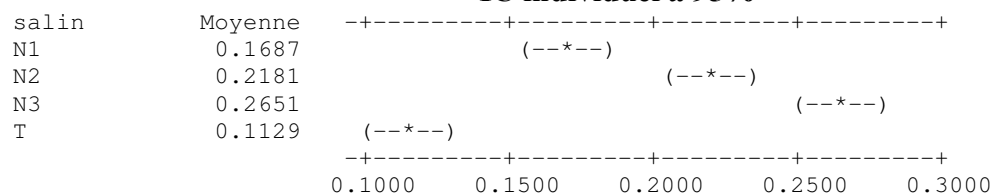
Analyse de variance pour proline

Source	DL	SC	CM	F	P
var	7	0.839715	0.119959	136.77	0.000
salin	3	0.204946	0.068315	77.89	0.000
Interaction	21	0.058651	0.002793	3.18	0.002
Erreur	32	0.028066	0.000877		
Total	63	1.131378			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

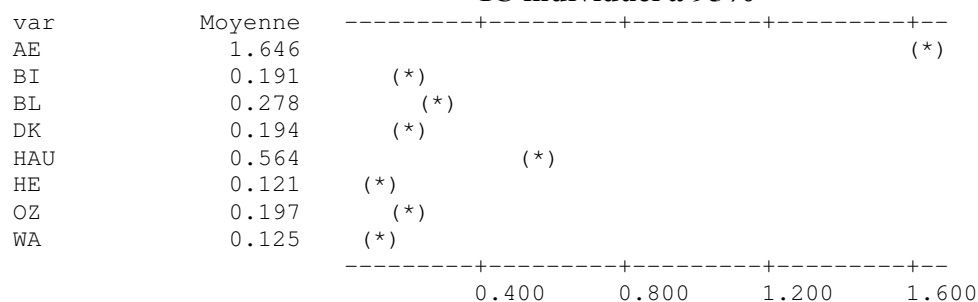


ANOVA à deux facteurs contrôlés : proline (stade épiaison) en fonction de var; salin

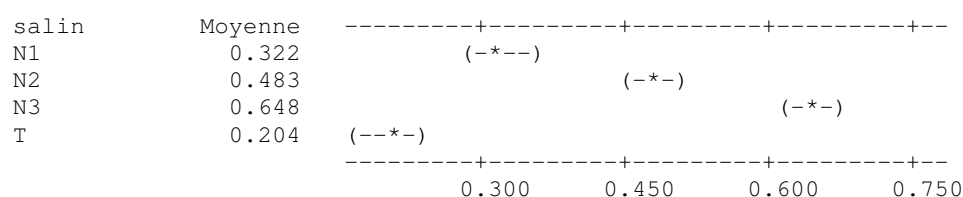
Analyse de variance pour proline

Source	DL	SC	CM	F	P
var	7	14.99827	2.14261	526.86	0.000
salin	3	1.79052	0.59684	146.76	0.000
Interaction	21	5.09540	0.24264	59.66	0.000
Erreur	32	0.13014	0.00407		
Total	63	22.01433			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

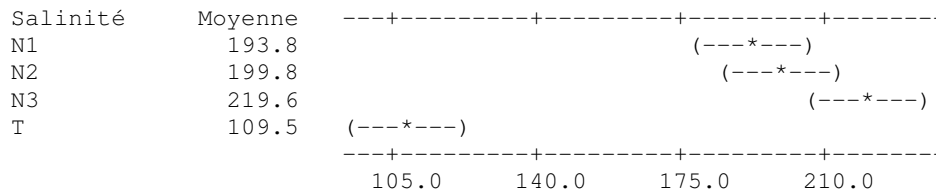


ANOVA à deux facteurs contrôlés : SUCRES en fonction de Salinité; variété

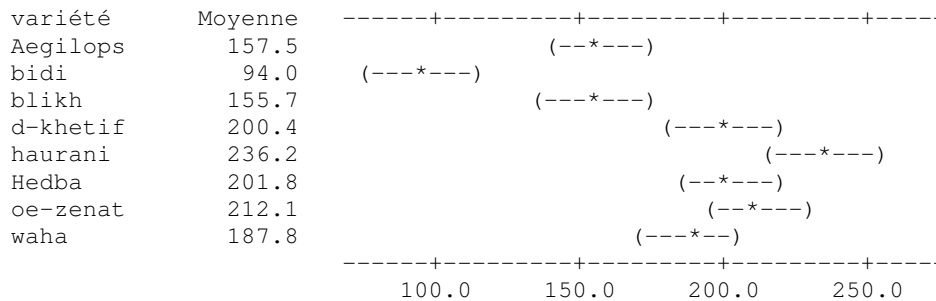
Analyse de variance pour sucres

Source	DL	SC	CM	F	P
Salinité	3	170747	56916	51.43	0.000
variété	7	163584	23369	21.12	0.000
Interaction	21	200771	9561	8.64	0.000
Erreur	64	70820	1107		
Total	95	605922			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

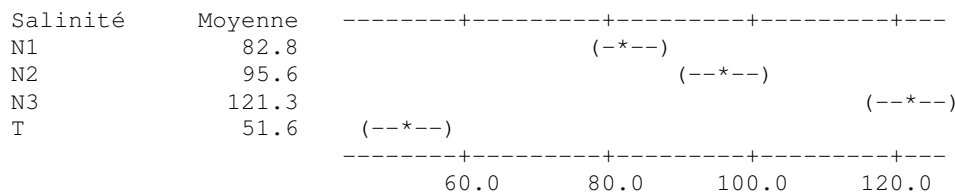


ANOVA à deux facteurs contrôlés : Les sucres en fonction de Salinité; variété

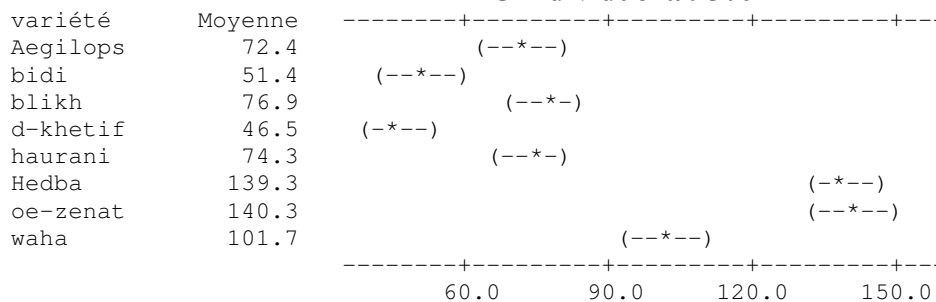
Analyse de variance pour sucre (épiaison)

Source	DL	SC	CM	F	P
Salinité	3	60342	20114	99.15	0.000
Variété	7	110084	15726	77.52	0.000
Interaction	21	18054	860	4.24	0.000
Erreur	64	12984	203		
Total	95	201464			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%



Corrélations : Résistance s; Chlorophylle; Surface foliaire ; Teneur relative ; Hauteur

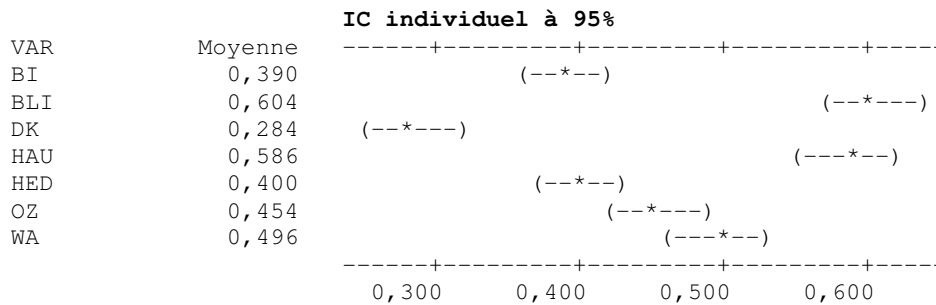
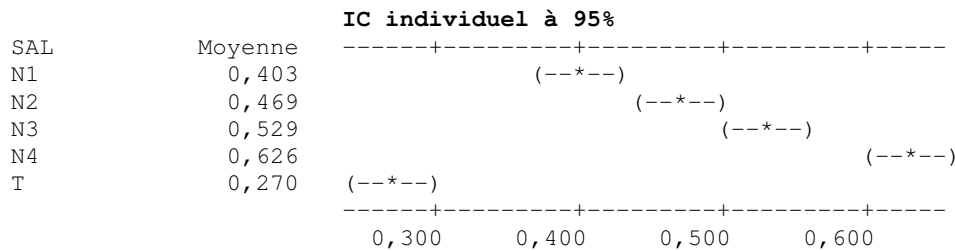
	Résistan	Chloroph	Surface	Teneur r	Hauteur	proline	chloro e	sucres ep	Na ⁺
Chloroph	0,439								
Surface	-0,381	-0,428							
Teneur r	0,032	-0,187	-0,064						
Hauteur	-0,462	-0,438	0,716	0,174					
proline	0,102	-0,103	-0,092	0,115	-0,062	0,318			
chloro e	0,143	0,132	0,057	-0,185	-0,130	-0,390	-0,650		
Sucres ep	0,115	0,049	0,124	-0,164	0,148	0,420	0,129	-0,165	
Na ⁺	0,432	0,233	-0,100	-0,240	-0,185	0,282	0,201	-0,179	0,60
K ⁺	-0,328	-0,148	0,201	0,054	0,179	-0,480	-0,187	0,230	-0,25 -0,621

Annexe V- L'étude statistique pour le chapitre (V)

1-Stress

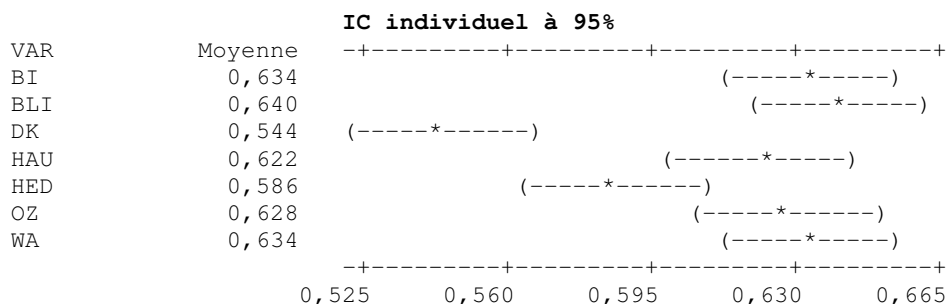
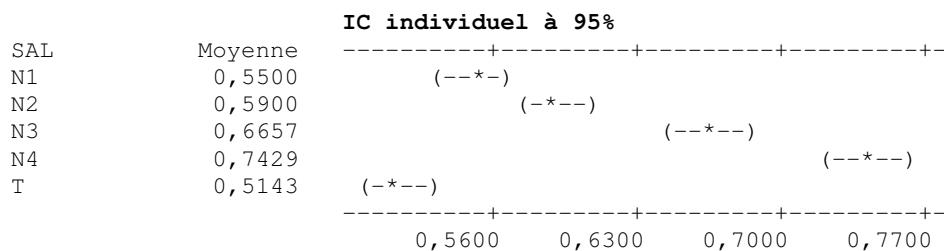
ANOVA à deux facteurs contrôlés : PROLINE_{feuille} en fonction de SAL; VAR Analyse de variance pour PROLINE

Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	1,00238	0,25059	81,95	0,000
VAR	6	0,77415	0,12902	42,19	0,000
Erreur	59	0,18042	0,00306		
Total	69	1,95695			



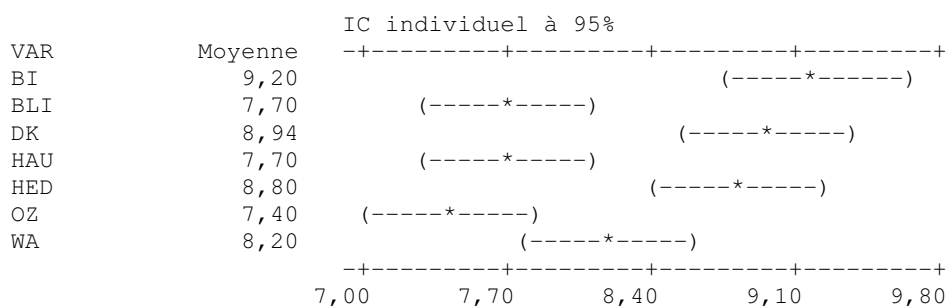
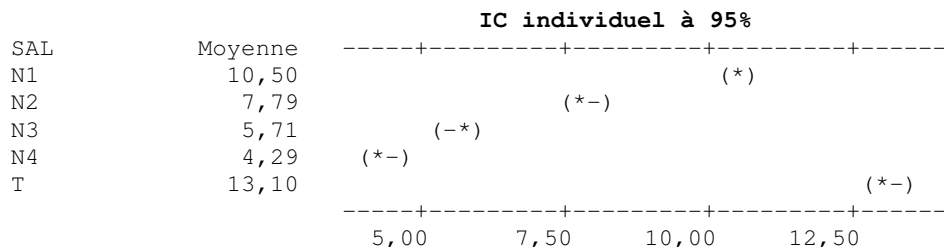
ANOVA à deux facteurs contrôlés : PROLINE_(cal) en fonction de SAL; VAR Analyse de variance pour PROLINE

Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	0,47437	0,11859	100,37	0,000
VAR	6	0,07406	0,01234	10,45	0,000
Erreur	59	0,06971	0,00118		
Total	69	0,61814			



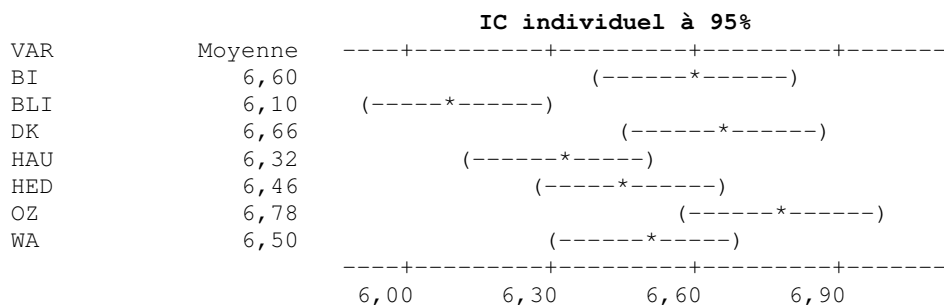
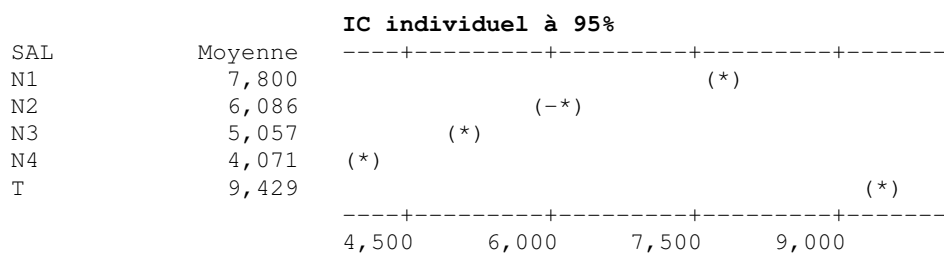
ANOVA à deux facteurs contrôlés : TENEUR (Cal) en fonction de SAL; VAR
Analyse de variance pour TENEUR C

Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	713,192	178,298	379,06	0,000
VAR	6	30,059	5,010	10,65	0,000
Erreur	59	27,752	0,470		
Total	69	771,003			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : TENEUR en eau (Feuille) en fonction de SAL; VAR
Analyse de variance pour TENEUR F

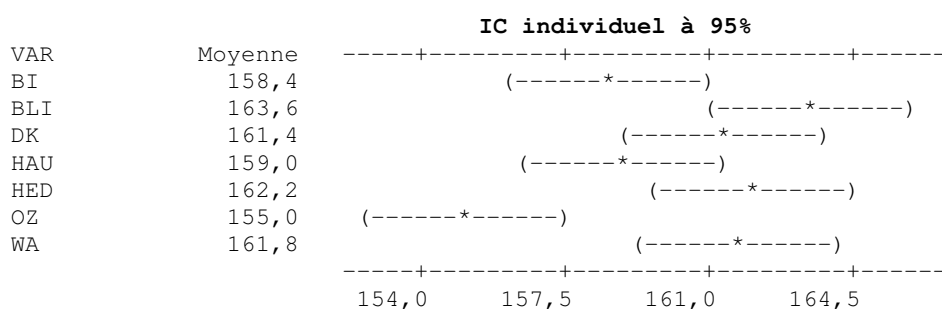
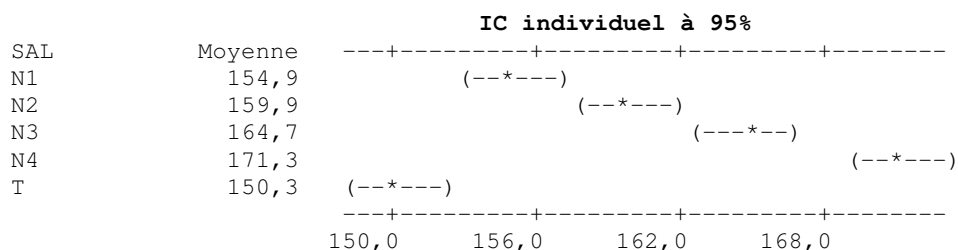
Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	257,842	64,461	642,68	0,000
VAR	6	3,071	0,512	5,10	0,000
Erreur	59	5,918	0,100		
Total	69	266,831			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : SUCRE (cal) en fonction de SAL; VAR

Analyse de variance pour SUCRE CA

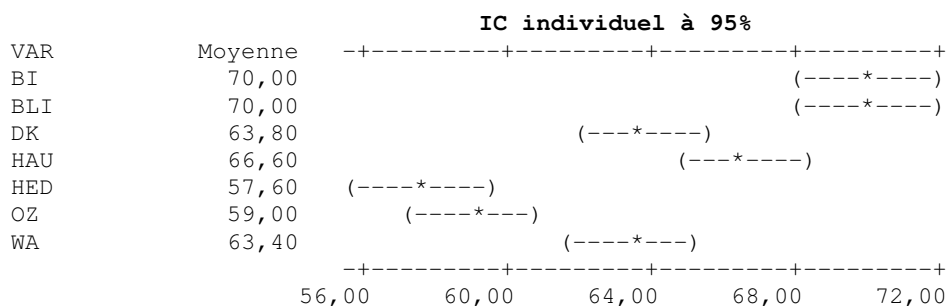
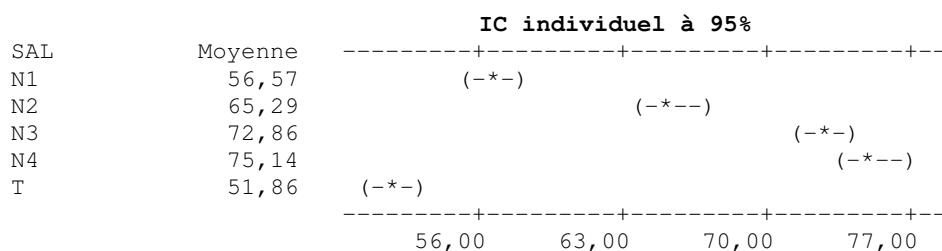
Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	3783,2	945,8	63,04	0,000
VAR	6	512,8	85,5	5,70	0,000
Erreur	59	885,2	15,0		
Total	69	5181,2			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : SUCRE (Feuille) en fonction de SAL; VAR

Analyse de variance pour SUCRE FE

Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	5688,34	1422,09	159,98	0,000
VAR	6	1442,97	240,50	27,06	0,000
Erreur	59	524,46	8,89		
Total	69	7655,77			

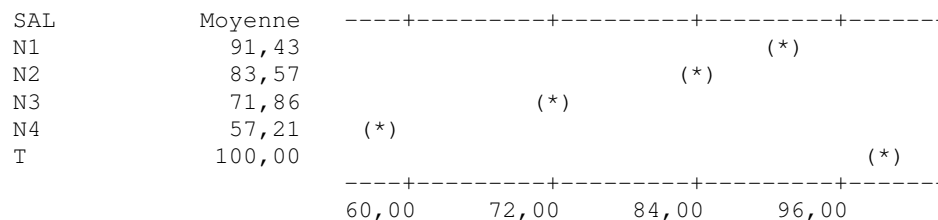


ANOVA à deux facteurs contrôlés : POIDS_(cal) en fonction de SAL; VAR

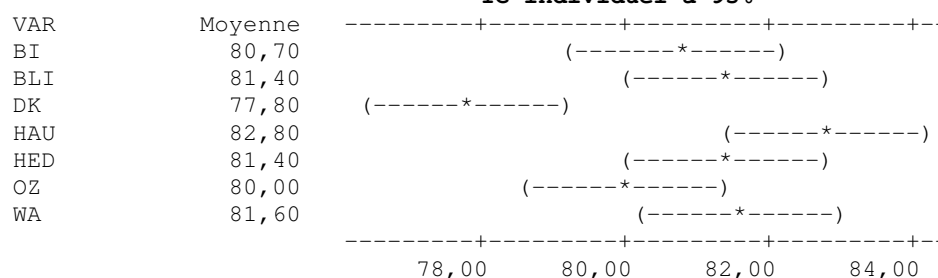
Analyse de variance pour POIDS CA

Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	15757,66	3939,41	712,21	0,000
VAR	6	150,09	25,01	4,52	0,001
Erreur	59	326,34	5,53		
Total	69	16234,09			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

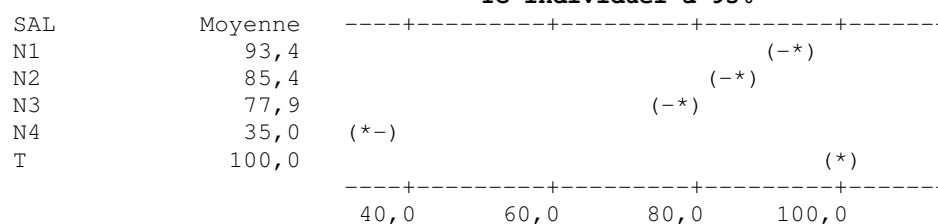


ANOVA à deux facteurs contrôlés : POIDS_(Feuille) en fonction de SAL; VAR

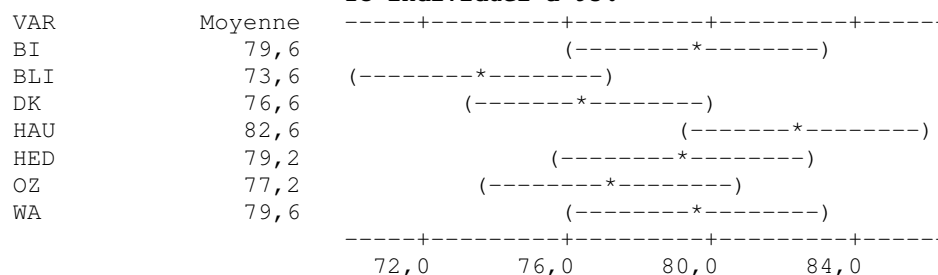
Analyse de variance pour POIDS FE

Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	36759,2	9189,8	295,96	0,000
VAR	6	488,6	81,4	2,62	0,025
Erreur	59	1832,0	31,1		
Total	69	39079,8			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%



Corrélations : PROLINE F; PROLINE C; TENEUR CA; TENEUR F; SUCRE CAL; SUCRE FEUIL

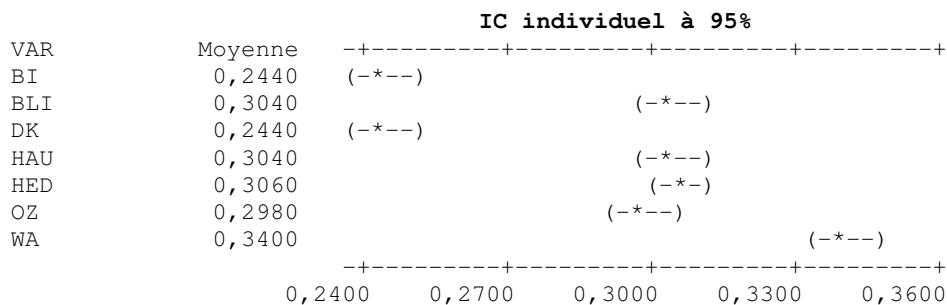
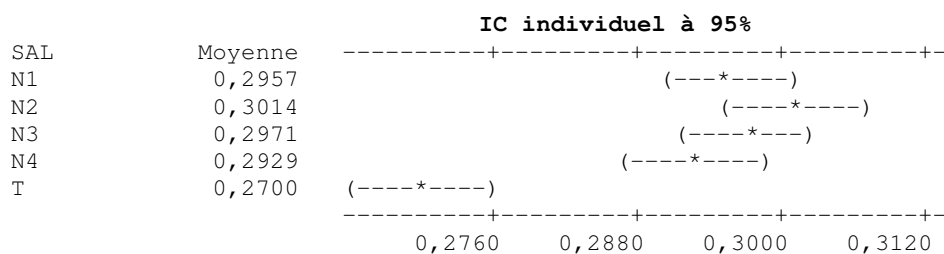
	PROLINE feuille	PROLINE cal	TENEUR cal)	TENEUR (Feuille)	SUCRE cal	sucré (Feuille)	POIDS cal
PROLINE cal	0,803						
TENEUR cal	0,778	-0,824					
TENEUR (Feuille)	-0,739	-0,828	0,954				
SUCRE cal	0,644	0,747	-0,804	-0,836			
SUCRE (Feuille)	0,743	0,834	-0,819	-0,852	0,773		
POIDS CA	-0,618	-0,829	0,920	0,932	-0,823	-0,799	
POIDS (Feuille)	-0,600	-0,808	0,795	0,810	-0,790	-0,698	0,920

2-Récupération

ANOVA à deux facteurs contrôlés : PROLINE feuille en fonction de SAL; VAR

Analyse de variance pour PROLINE

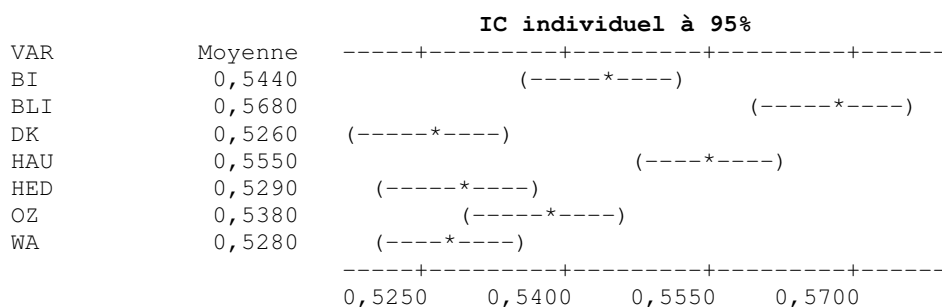
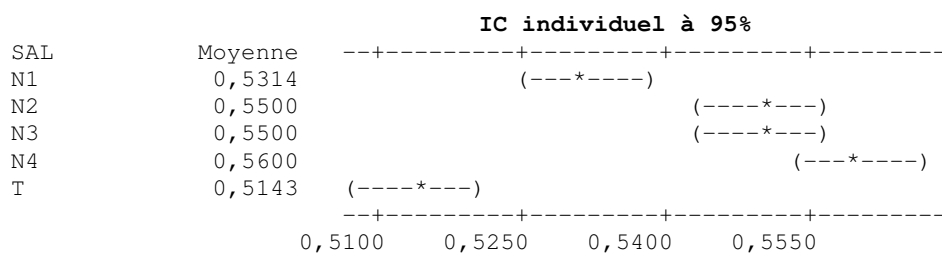
Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	0,008571	0,002143	18,62	0,000
VAR	6	0,074297	0,012383	107,62	0,000
Erreur	59	0,006789	0,000115		
Total	69	0,089657			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : PROLINE cal en fonction de SAL; VAR

Analyse de variance pour PROLINE

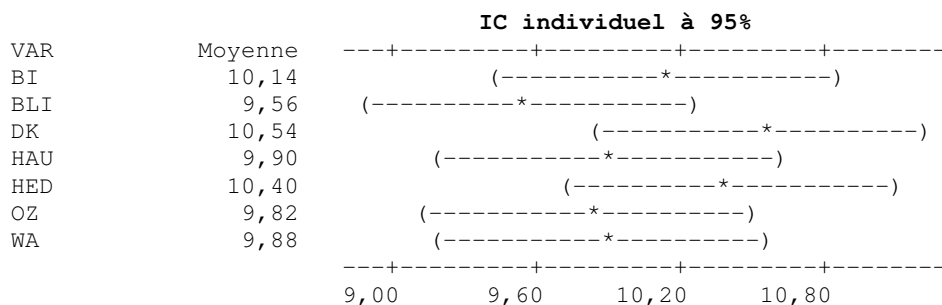
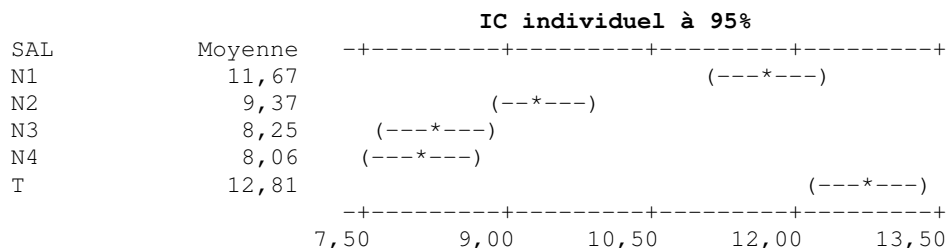
Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	0,018594	0,004649	28,85	0,000
VAR	6	0,014809	0,002468	15,32	0,000
Erreur	59	0,009506	0,000161		
Total	69	0,042909			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : TENEUR en eau_{cal} En fonction de SAL; VAR

Analyse de variance pour TENEUR C

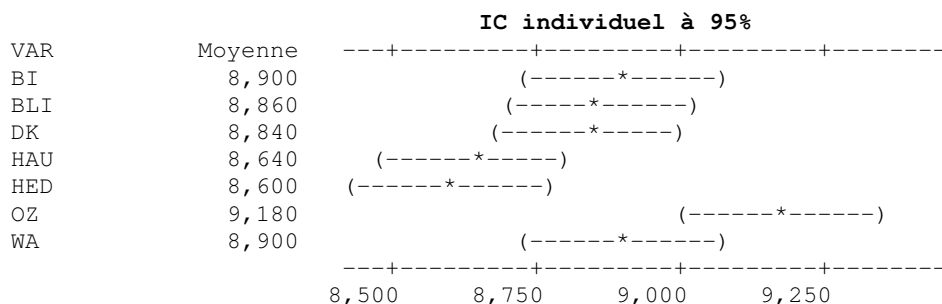
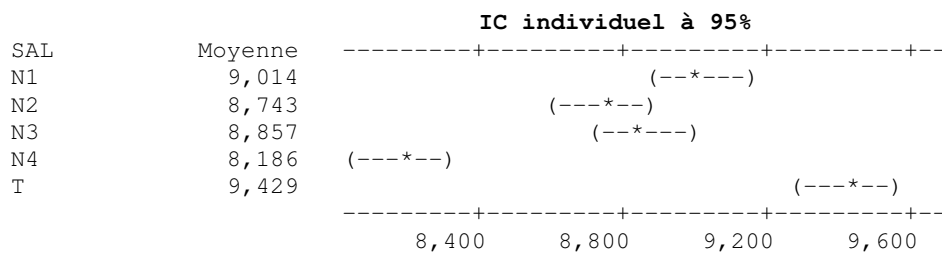
Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	250,78	62,69	50,78	0,000
VAR	6	7,13	1,19	0,96	0,458
Erreur	59	72,85	1,23		
Total	69	330,76			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : TENEUR en eau_(feuille) en fonction de SAL; VAR

Analyse de variance pour TENEUR F

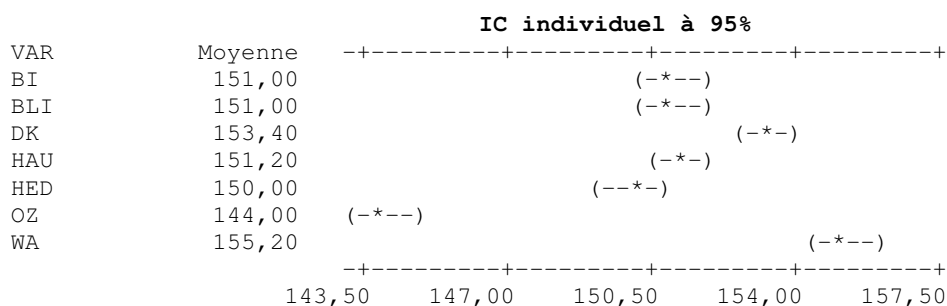
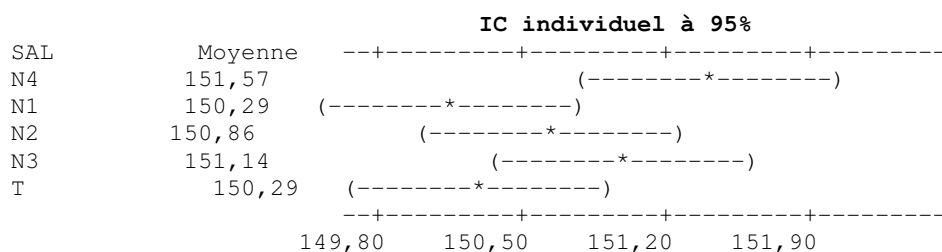
Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	11,4023	2,8506	39,24	0,000
VAR	6	2,2057	0,3676	5,06	0,000
Erreur	59	4,2857	0,0726		
Total	69	17,8937			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : SUCRE_{cal} en fonction de SAL; VAR

Analyse de variance pour SUCRE CA

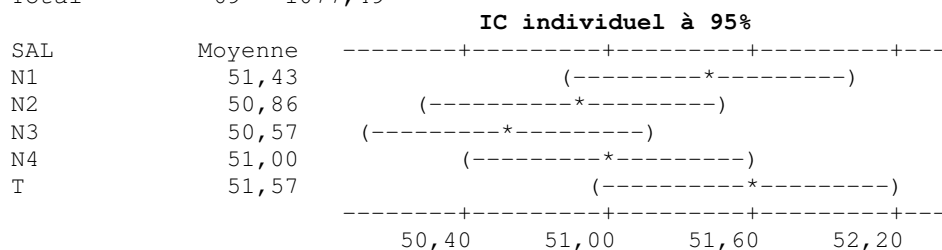
Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	17,37	4,34	3,19	0,019
VAR	6	732,34	122,06	89,76	0,000
Erreur	59	80,23	1,36		
Total	69	829,94			

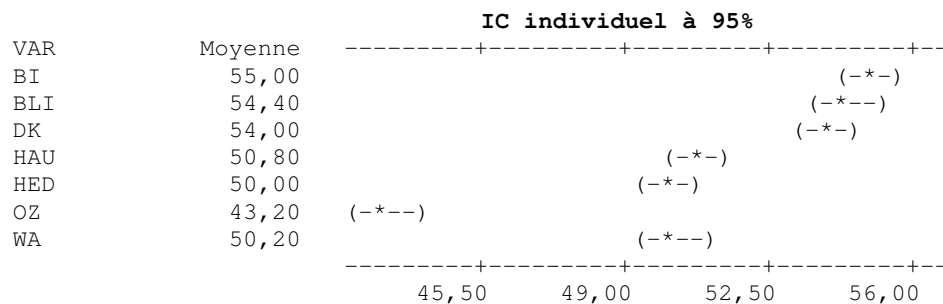


ANOVA à deux facteurs contrôlés : SUCRE_{FEUILLE} en fonction de SAL; VAR

Analyse de variance pour SUCRE FE

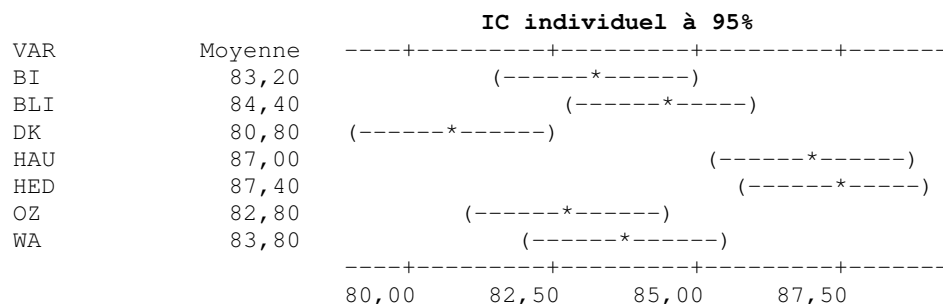
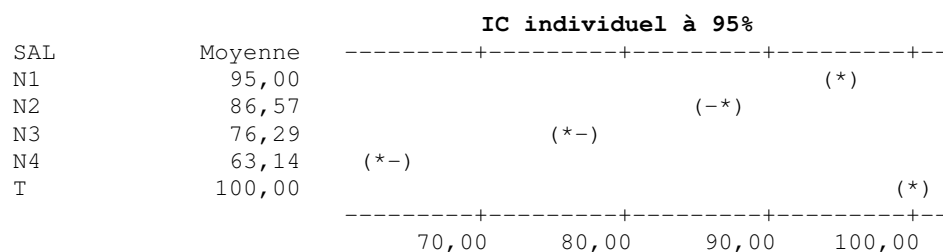
Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	9,49	2,37	1,80	0,141
VAR	6	990,29	165,05	125,30	0,000
Erreur	59	77,71	1,32		
Total	69	1077,49			





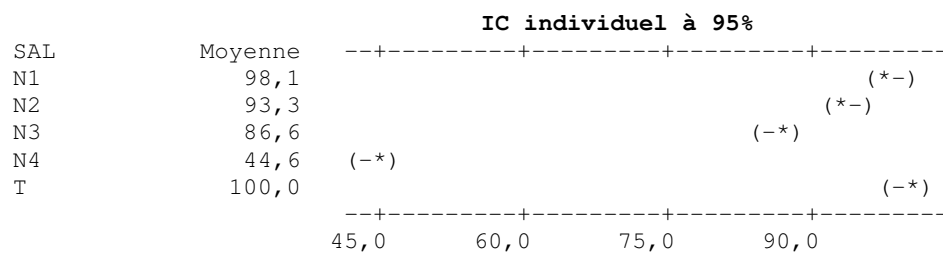
ANOVA à deux facteurs contrôlés : POIDS_{cal} en fonction de SAL; VAR
Analyse de variance pour POIDS CA

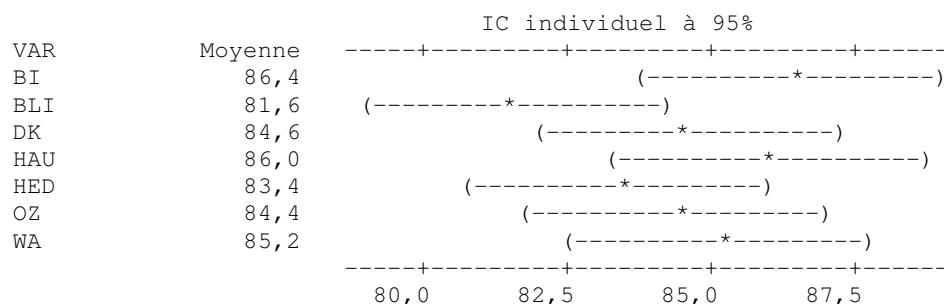
Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	12291,20	3072,80	415,81	0,000
VAR	6	328,00	54,67	7,40	0,000
Erreur	59	436,00	7,39		
Total	69	13055,20			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : POIDS_{FEUILLE} en fonction de SAL; VAR
Analyse de variance pour POIDS FE

Source	DL	SC	CM	F	P
SAL	4	29430,1	7357,5	412,82	0,000
VAR	6	159,9	26,6	1,50	0,196
Erreur	59	1051,5	17,8		
Total	69	30641,5			





Corrélations : PROLINE F; PROLINE C; TENEUR CA; TENEUR F; SUCRE CAL; SUCRE FEUIL

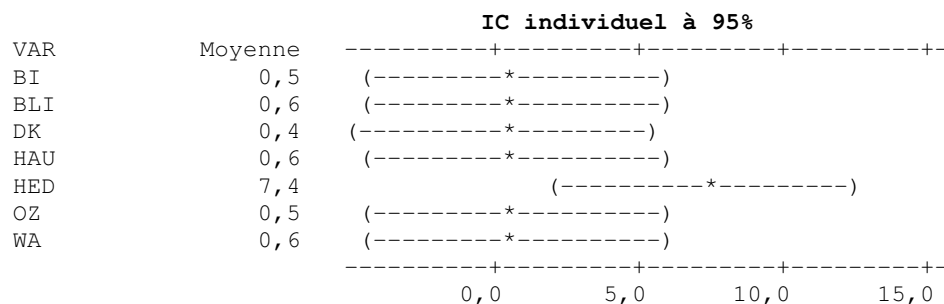
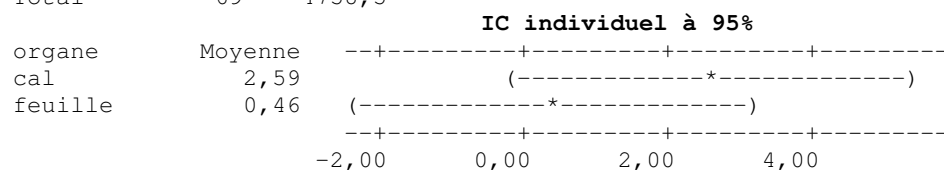
	PROLINE PROLINE	TENEUR C	TENEUR F	SUCRE CA	SUCRE FE	POIDS CA
PROLINE	0,211					
TENEUR C	-0,240	-0,586				
TENEUR F	-0,199	-0,424	0,617			
SUCRE CA	0,067	-0,048	0,047	-0,171		
SUCRE FE	-0,451	0,087	0,098	-0,080	0,631	
POIDS CA	-0,087	-0,551	0,798	0,687	-0,030	0,061
POIDS FE	-0,078	-0,476	0,626	0,669	-0,029	0,014
						0,879

3- Effet de l'organe (cal, feuille)

ANOVA à deux facteurs contrôlés : proline en fonction d'organe; VAR

Analyse de variance pour proline

Source	DL	SC	CM	F	P
organe	1	79,8	79,8	1,16	0,286
VAR	6	406,1	67,7	0,98	0,445
Erreur	62	4272,6	68,9		
Total	69	4758,5			

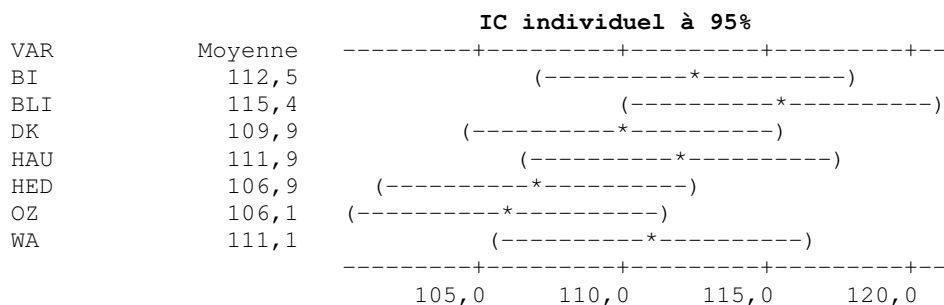
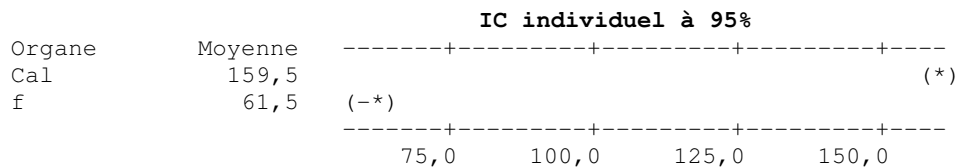


XXX

ANOVA à deux facteurs contrôlés : sucre en fonction d'organe; VAR

Analyse de variance pour sucre

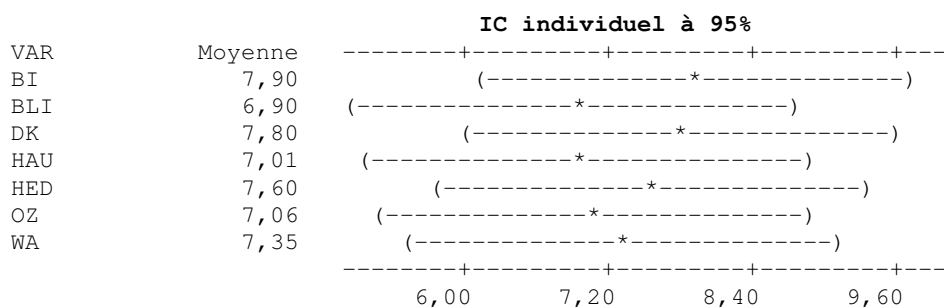
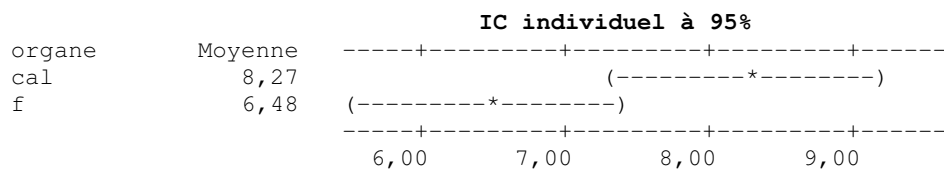
Source	DL	SC	CM	F	P
Organe	1	168070,0	168070,0	2218,32	0,000
VAR	6	630,0	105,0	1,39	0,235
Erreur	62	4697,4	75,8		
Total	69	173397,4			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : TE (Teneur en eau) en fonction d'organe ; VAR

Analyse de variance pour TE

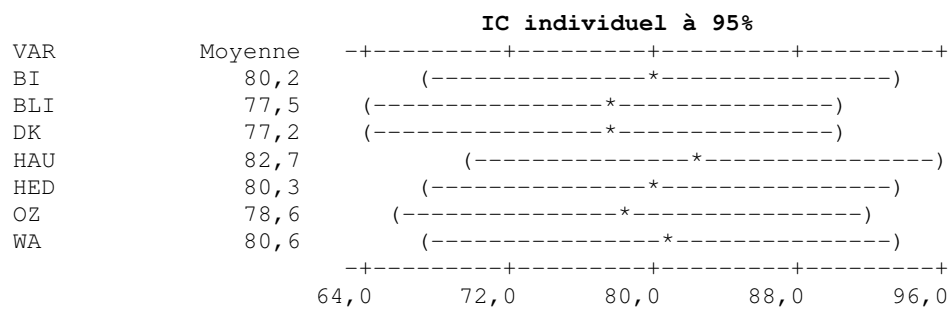
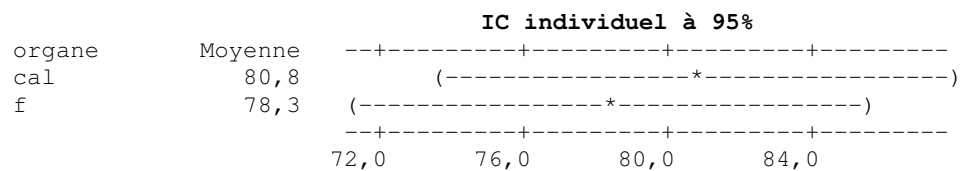
Source	DL	SC	CM	F	P
organe	1	55,98	55,98	6,83	0,011
VAR	6	9,66	1,61	0,20	0,977
Erreur	62	508,52	8,20		
Total	69	574,15			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : PF (poids frais) en fonction d'organe; VAR

Analyse de variance pour PF

Source	DL	SC	CM	F	P
organe	1	107	107	0,24	0,625
VAR	6	226	38	0,09	0,998
Erreur	62	27431	442		
Total	69	27764			



Corrélations : proline ; sucre; TE; PF

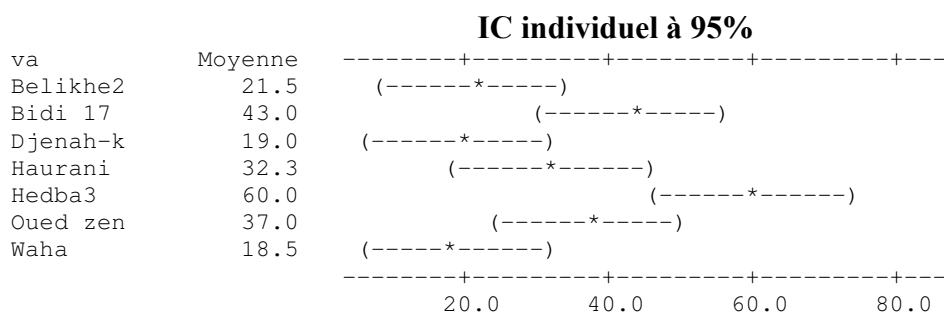
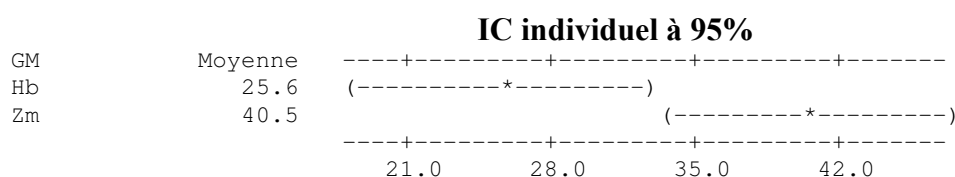
	proline	sucre	TE
sucre	0,150		
TE	-0,107	0,179	
PF	-0,128	-0,068	0,754

Annexe VI- L'étude statistique pour le chapitre (VI)

ANOVA à deux facteurs contrôlés : N%(Nouaison) en fonction de GM (génotype mâle); va (Variété)

Analyse de variance pour N%

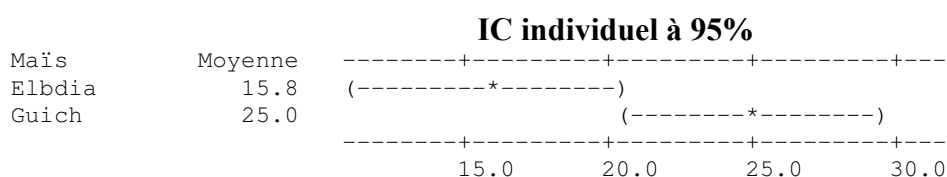
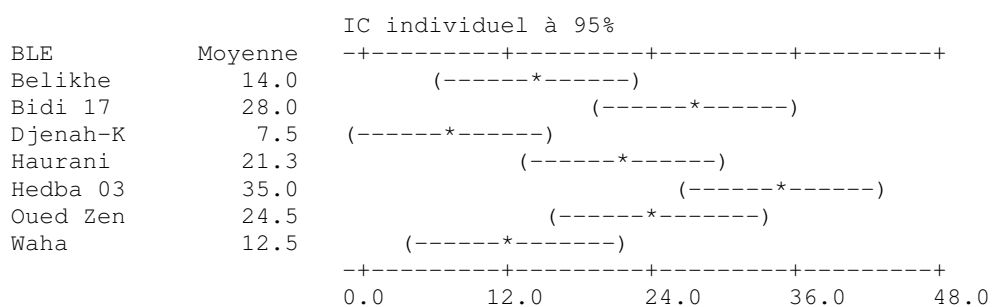
Source	DL	SC	CM	F	P
GM	1	780.0	780.0	12.96	0.011
va	6	2768.1	461.4	7.67	0.013
Erreur	6	361.1	60.2		
Total	13	3909.2			



ANOVA à deux facteurs contrôlés : N % en fonction de blé; Maïs

Analyse de variance pour N %

Source	DL	SC	CM	F	P
BLE	6	1116.5	186.1	7.70	0.013
Maïs	1	297.2	297.2	12.30	0.013
Erreur	6	145.0	24.2		
Total	13	1558.6			

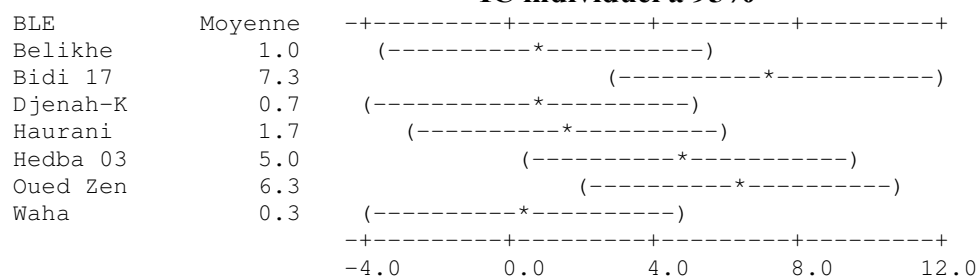


ANOVA à deux facteurs contrôlés : NE (nombre d'embryons) en fonction de blé; POL (pollinisateur)

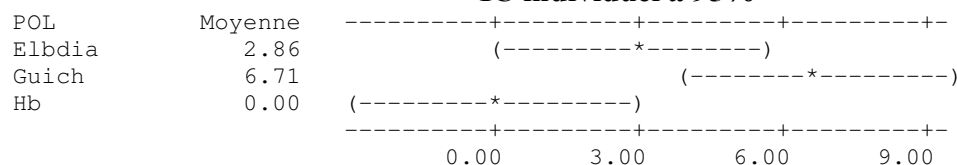
Analyse de variance pour NE

Source	DL	SC	CM	F	P
BLE	6	155.9	26.0	2.05	0.137
POL	2	159.0	79.5	6.26	0.014
Erreur	12	152.4	12.7		
Total	20	467.2			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%

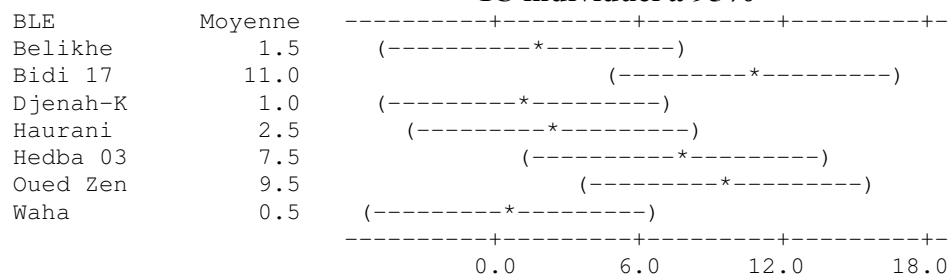


ANOVA à deux facteurs contrôlés : NE (nombre d'embryons) en fonction de Blé; Maïs

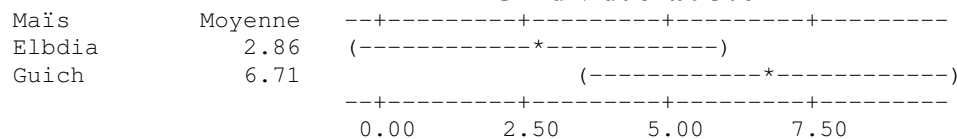
Analyse de variance pour NE

Source	DL	SC	CM	F	P
BLE	6	233.9	39.0	3.14	0.095
Maïs	1	52.1	52.1	4.20	0.086
Erreur	6	74.4	12.4		
Total	13	360.4			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%



ANOVA à un facteur contrôlé : NE/N% en fonction de VAR

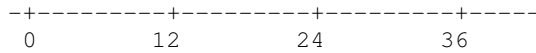
Analyse de variance pour NE/N%

Source	DL	SC	CM	F	P
VAR	6	3354,40	559,07	559,07	0,000
Erreur	14	14,00	1,00		
Total	20	3368,40			

IC individuel à 95%

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
Belikhe	3	13,000	1,000	(*)
Bidi	3	41,570	1,000	(*)
Djenah-k	3	25,640	1,000	(*)
Haurani	3	6,250	1,000	(*)
Hedba	3	9,740	1,000	(*)
Oued zen	3	19,380	1,000	(*)
Waha	3	1,170	1,000	(*)

Ecart-type groupé = 1,000



ANOVA à deux facteurs contrôlés : NPV (nombre des plantes vertes) en fonction de Blé; Maïs

Analyse de variance pour NPV

Source	DL	SC	CM	F	P
BLE	6	42.429	7.071	22.85	0.001
Maïs	1	8.643	8.643	27.92	0.002
Erreur	6	1.857	0.310		
Total	13	52.929			

IC individuel à 95%

BLE	Moyenne	
Belikhe	1.00	(---*---)
Bidi 17	4.00	(---*---)
Djenah-K	0.00	(---*---)
Haurani	2.00	(---*---)
Hedba 03	1.00	(---*---)
Oued Zen	5.00	(---*---)
Waha	0.50	(---*---)

IC individuel à 95%

Maïs	Moyenne	
Elbdia	1.14	(---*---)
Guich	2.71	(---*---)

ANOVA à un facteur contrôlé : NPV/N% en fonction de VAR

Analyse de variance pour NPV/N%

Source	DL	SC	CM	F	P
VAR	6	495,024	82,504	96,25	0,000
Erreur	14	12,000	0,857		
Total	20	507,024			

IC individuel à 95%

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
Belikhe	3	3,750	1,000	(--*--)
Bidi	3	15,110	1,000	(-*--)
Djenah-k	3	0,000	0,000	(-*--)
Haurani	3	5,000	1,000	(--*--)
Hedba	3	1,300	1,000	(--*--)
Oued zen	3	10,200	1,000	(-*--)
Waha	3	5,310	1,000	(--*--)

Corrélations : NFP; N%; NE; NE/N%; NPV; NPV/N%

	NFP	N%	NE	NE/N%	NPV
N%	0,106				
NE	-0,221	0,795			
NE/N%	-0,794	0,114	0,591		
NPV	-0,116	0,502	0,797	0,468	
NPV/N%	-0,072	0,349	0,700	0,563	0,830

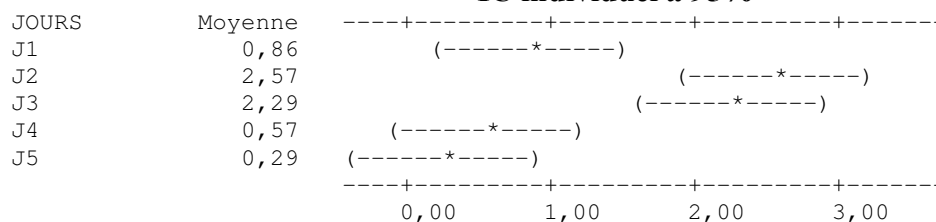
Contenu de la cellule : corrélation de Pearson

ANOVA à deux facteurs contrôlés : EMBRY en fonction de JOURS; VAR (variété)

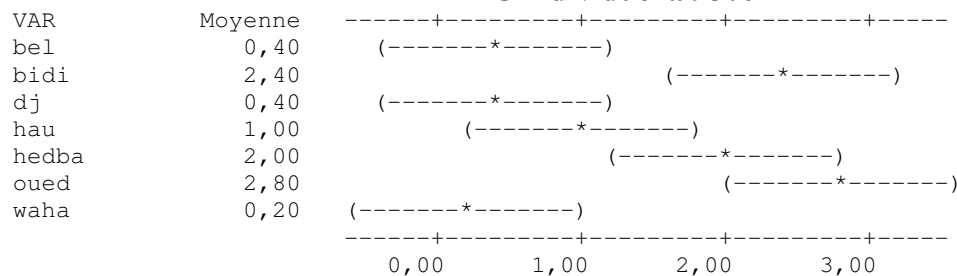
Analyse de variance pour EMBRY

Source	DL	SC	CM	F	P
JOURS	4	30,400	7,600	10,86	0,000
VAR	6	34,343	5,724	8,18	0,000
Erreur	24	16,800	0,700		
Total	34	81,543			

IC individuel à 95%



IC individuel à 95%



ANOVA à deux facteurs contrôlés : PLA VERT en fonction de JOURS; VAR

Analyse de variance pour PLA VERT

Source	DL	SC	CM	F	P
JOURS	4	12,571	3,143	7,67	0,000
VAR	6	8,171	1,362	3,33	0,016
Erreur	24	9,829	0,410		
Total	34	30,571			

IC individuel à 95%

