

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**Université Mentouri Constantine**  
**Faculté de biologie**  
**Département de Biologie Végétale et écologie**

N° d'ordre : 327/Mag/2009  
N° de série : 23/SN/ 2009

### **MEMOIRE**

En vue d'obtention du diplôme de magistère en Biotechnologies Végétales  
Option : Génomique et Techniques avancées des Végétaux



Présenté par: **Zadri Fethia**

Soutenue le : 20 /07 / 2009, **devant le jury:**

**Président: Mr A. Djekoun**

**Rapporteur: Mlle N. Ykhlef**

**Examineur:**

**Mr M.M Senoussi**  
**Mme L. Boudour**

Prof. Université Mentouri, Constantine

Prof. Université Mentouri, Constantine

M.C à l'Université de Oum El Bouaghi.

M.C à l'Université Mentouri, Constantine.

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail à toute ma grande famille, je leur remercie pour leur patience avec moi, leurs encouragements et leurs aides. Je vous aime tous.

- ✚ A la mémoire de mes grands-parents : Saïd et Salah.
- ✚ A ma mère Zoubida et mon père Houcine, mes sœurs Ammoura, Mounira et mon frère Halim.
- ✚ A tata Noura, tonton Abdou et mes cousins : Soumaya, Raouf , Yasmine et Abd Essamed.
- ✚ A khalou Djamel, tata Nouara et mes cousins : Amine, Karima, Abdou, Imène et Dounia.
- ✚ A Amou Omor, tata Nadia et mes couins : Nasser Eddine, Mehdi, Nina.
- ✚ A Khalou Omar, tata Samya et mes cousins : Sallah Eddine, mehdi Samir et Sid Ahmed.
- ✚ A Amti Yamina, tonton Rachid et mes cousins : Mohamed Badri, Assia
- ✚ A ma soeur Souad et son mari mokhtar et les bouts de chou Racha Belkis et Bouchra Raghed.
- ✚ A mes cousines :
  - 🌸 Sonia, son mari Saadoun et leurs enfants : Rayane, Aya et Abd El Rahmane.
  - 🌸 Roufayda, son mari Mourad et leurs enfants : Mohammed, Khalil et Marame.
  - 🌸 Faiza, son mari Samir et la jolie
- ✚ A mes cousins :
  - 🌸 Adel et sa femme Nedjma.
  - 🌸 Sameh et sa fiancée Moufida.
  - 🌸 Bilel et sa fiancée Chahra.
- ✚ A mes amies : Namira et Radja ainsi que leurs familles et époux.

Je dédie ce modeste travail à la meilleure amie et compagne de ces longues années d'étude, Mlle **Nassar Meryem** et sa famille.

✚ A mes amies d'étude et copines de chambre ainsi que leurs familles :

« Amira, Nadjia, Hafiza, Hakima, Hanène, Houda, kenza, Ranja, Samra, Sihem, Souad, Wafa » Je n'oublierais jamais nos souvenirs.

✚ Très spécialement à Sabrina et Meryem, je vous remercie de nous avoir hébergées chez vous cette année.

✚ A tous mes collègues de la promotion « Génomique et Biotechnologies végétales », vos souvenirs sont à jamais gravés dans ma mémoire, je vous souhaite tous succès et bonheur.

✚ A hadjar, Amina, Mouna, fatima, sophia et Borhène.

✚ A nedjwa, lilia et Sihem, je vous remercie du fond du cœur pour m'avoir accueilli chaleureusement dans vos honorables familles. Sans oublier les bouts de chou : Syrine, yahia, Mehdi et Abd El Rahim.

✚ A mes collègues de la promotion « Biotechnologies Végétales » de l'Ecole Doctorale : Fahima, Sihem, Amira, Hamida, Radia, Sophia et Aicha. Spécialement à Rima, Mahmoud et Adra que je remercie pour son accueil chaleureux à sa maison, ainsi que toute sa famille.

Au cours de mon passage au laboratoire, j'ai été entouré de collègues brillants et braves. En guise de remerciements pour vos conseils, votre aide et vos encouragements, je vous dédie ce travail :

✚ Mlle bouziane Zahira, Mme Bouatrousse Yamina, Mme Bousbaa Ratiba, Mlle ghatouchi Ahlem, Mme kacem Sandra, Mlle Kachid maya, Mme Maougal Rym et Mme Riah Nacira.

✚ Mr Baaziz, Mr Sadek, Mr Bouhouhou, Mr Laid.

## **Remerciements**

Sans l'aide précieuse de beaucoup de gens, ce travail m'aurait été pénible. Je tiens énormément qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.

A M I l e Ykhl ef Nadia, Professeur à l'Université de Constantine. Tous les mots d'amour et d'affection, de remerciement, de gratitude et de reconnaissance, seront insuffisant pour vous témoigner ma profonde gratitude, pour avoir accepté de diriger cette thèse et pour tous ce que vous m'avez donné et appris toutes ces années. Vous êtes un exemple de bravoure et de dévouement, mais surtout de bonté et de gentillesse.

Je dois adresser mes vifs remerciements :

Au président du jury Mr A. Djekoun Recteur de l'Université Mentouri de Constantine, responsable du laboratoire d'Amélioration des Plantes. Qui m'a fait l'honneur de présider ce jury. Je le remercie également pour ces précieux conseils et son intérêt pour mon travail.

A Mr M.M SenouSSI Maitre de Conférence à l'Université de Oum El Bouaghi, pour l'honneur que vous m'avez fait d'accepter de juger ce travail. Veuillez agréer l'expression de ma reconnaissance et de mes remerciements les plus sincères.

A MME L. Boudour Maitre de Conférence à l'Université Mentouri de Constantine, de m'avoir honorée en acceptant de faire partie de ce jurée. Veuillez trouvez ici mes remerciements les plus sincères.

Mr Kel I ou KaMel , je ne vous remercierez jamais assez pour votre aide inestimable dans mon travail. Vous étiez un guide pour moi, vous l'avez assumé avec beaucoup d'honnêteté et de dévouement. Que Dieu vous comble de ces biens.

Au chef- d'orchestre de notre laboratoire, Mr Bel Bekri, je vous suis très reconnaissante pour votre aide inestimable, vos conseils, votre intérêt pour mon travail.

A MMe Tourki, merci pour vos conseils, vos encouragements, votre joie et humour qui nous ont aidés à surmonter fatigue et découragement.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude A Mr A. ZeghidA, Directeur de l'Institut Technique des Grandes Cultures, pour m'avoir aidé chaque fois que je frappais à ces portes.

A MMe N. Bahidj et MMe L. ALLouAt pour m'avoir conseillé et aidé au sein de la bibliothèque de l'Institut Technique des Grandes cultures.

A MMe F. Dj enaDi je la remercie pour sans aide dans l'étude statistique et de ses conseils précieux.

A MMe F. BAAI i, je la remercie vivement pour la patience avec laquelle elle a réalisé ce document.

## Résumé

Le genre *Aegilops* apparenté au genre *Triticum* est une source précieuse d'importants traits d'intérêt économiques pour l'amélioration de la production du blé tel que la résistance aux maladies et aux divers stress abiotiques en particulier la résistance à la sécheresse contrainte majeure de la production en Algérie de cette céréale, d'où l'objectif de ce travail. A cet effet trois espèces du genre *Aegilops* : (*Aegilops geniculata* Roth), (*Aegilops triuncialis* L) et (*Aegilops ventricosa* Tauch) ont été croisées avec quatre variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) : Vitron, Waha, Ouez Zenati et Montpellier. Deux traitements hormonaux par le 2,4-D (100 ppm) et le GA<sub>3</sub> (75 ppm) sont effectués respectivement, avant et après la pollinisation, pour soutenir l'obtention d'embryons. Les embryons immatures sont placés sur milieu de culture B5 additionné de Kinétine (0.25 mg /l) et de l'AIB (1mg/l). Les résultats obtenus montrent qu'il existe des différences entre les affinités de croisements entre les espèces d'*Aegilops* et les variétés de blé dur. Le coefficient de corrélation significatif ( $r = 0,57$ ), indique l'influence des paramètres étudiés sur le nombre d'hybrides obtenus. Tous les embryons récupérés sur milieu de culture ont régénéré des plantules vertes, manifestant des caractéristiques des espèces du genre *Aegilops*, deux d'entre eux ont atteint le stade d'acclimatation. Deux graines hybrides ont pu être obtenues sans recours au sauvetage d'embryons, ces caryopses ressemblent à ceux des parents femelles. Les diagrammes électrophorétiques des hybrides, obtenus par SDS-PAGE, révèlent une grande similitude avec ceux des parents femelles. Les mobilités des bandes de chaque hybride sont très proches du parent femelle correspondant. Ces résultats nous ont permis de conclure que l'hérédité est de type maternel.

## Mots clés :

*Aegilops*, blé dur, variabilité génétique, tolérance à la sécheresse, croisement interspécifique, amélioration du blé, protéines de réserve.

## Summary

Wild related species of *Aegilops* are very interesting for wheat breeding programs. They are source of economical useful traits, such as resistance to diseases and abiotic stress, especially resistance to drought, the main limiting factor of wheat production in Algeria. For this aim, three *Aegilops* species (*Aegilops geniculata* Roth., *Aegilops triuncialis* L. and *Aegilops ventricosa* Tauch) were crossed with four varieties of durum wheat *Triticum durum* Desf. (Montpellier, Waha, Oued Zenati and Vitron). Two hormonal treatments with 2, 4-D (100 ppm) and GA<sub>3</sub> (75 ppm), were applied respectively, before and after pollinisation to enhance embryo development. Embryos formed were cultured on B<sub>5</sub> medium, additionnated with Kinetine (0.25 mg /l) and AIB (1 mg/l). Results obtained show differences in crossing affinity between *Aegilops* species and durum wheat varieties. Significant correlation coefficient ( $r = 0.57$ ) indicates the influence of studied parameters on the number of embryos formation. All embryos regenerated green plants having some characters of *Aegilops* genus, witch two achieved development until acclimatation phase. Two hybrid seeds were obtained without embryo rescue, witch the caryopsis are similaire to the female parent ones (*Aegilops*). Electrophoretic diagrams of hybrids, obtained by SDS-PAGE revealed big similarities with those of females parents. Mobilities of each hybrid's bands are similar to those of correspondent female parent. These results indicate that heritability in this case of interspecific crossing is maternal type.

## Key words:

*Aegilops*, durum wheat, genetic variability, drought tolerance, interspecific crossing, wheat improvement, storage proteins.

## الملخص

إن النوع البري *Aegilops* يحمل تنوعاً جينياً هاماً وهو مصدر لعدة صفات زراعية مهمة ومفيدة لتحسين إنتاج القمح من بينها تحمل الجهد المائي الذي يعد أول عائق لإنتاج القمح في الجزائر.

لهذا الغرض تم التصالب بين 3 أصناف من النباتات البري *Aegilops geniculata* Roth.

*Aegilops triuncialis* *Aegilops ventricosa* وأربع سلالات من القمح الصلب

(*Triticum durum* Desf) (Viton, Oued zenati, Montpellier, Waha)

خلال هذه الدراسة تم استعمال هرمون حمض 2,4-D بتركيز 100 وحدة وحمض الجبيريليك

GA3 بتركيز 75 وحدة من أجل تدعيم الفرص للحصول على أجنة هجينة، وضعت الأجنة

المتشكلة في وسط غذائي B5 مضاف إليه *Kinétine* (0,25mg/l) AIB النتائج

المحصل عليها تبين وجود اختلاف في التصالب بين أصناف النباتات البري *Aegilops*

وسلالات القمح الصلب مما يبين تأثير العوامل المدروسة على عدد الأجنة المتشكلة كل الأجنة

المزروعة في وسط غذائي أعطت نباتات خضراء تحمل صفات النبات البري *Aegilops* من

بينهم اثنان وصلوا إلى مرحلة التأقلم

لقد تم الحصول على بحرئين من غير المرور بمرحلة الوسط الغذائي تحملان صفات

مورفولوجية شبيهة بالنبات البري.

## الكلمات المفتاحية

*Aegilops*، القمح الصلب، التباين الجيني، تحمل الجهد المائي، التصالب الصنفي، تحسين

القمح



## Liste des Abréviations

**2,4-D** : Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique.

**AIB** : Acide Indole Butyrique.

**C%** : Bisacrylamide (gr)/ (Acrylamide+Bisacrylamide) (gr) x 100.

**DTT** : Dithiotreitol.

**ICARDA** : International Center for Agricultural Research in the Dry Areas.

**IBPGR**: International Bank for Plant Genetic Resources.

**GA<sub>3</sub>** : Acide gibbérellique.

**P/v** : Poids/volume.

**SDS** : Sodium Dodécyl-Sulfate.

**SDS-PAGE** : Sodium Dodecyl-Sulfate Polyacrylamide Gel electrophoresis.

**SG-HPM** : Sous unité Gluténines de Haut Poids Moléculaire.

**SG-FPM** : Sous unité Gluténines de faible Poids Moléculaire.

**T%** : Acrylamide + Bisacrylamide (gr)/Total x 100.

Index des Figures	Pages
<b>Figure 01:</b> Photos représentant les épis : a) <i>Aegilops geniculata</i> . b) <i>Aegilops triuncialis</i> . c) <i>Aegilops ventricosa</i> .....	25
<b>Figure 02 :</b> Répartition géographique des trois espèces tétraploïdes d' <i>Aegilops</i> en Algérie selon la prospection de l'ICARDA en 1990.....	28
<b>Figure 03 :</b> Les étapes de l'évolution du blé dur (Jauhar et al., 1999).....	30
<b>Figure 04 :</b> les étapes de la castration .....	53
<b>Figure 05 :</b> La pollinisation d'un épi castré d' <i>Aegilops triuncialis</i> .....	53
<b>Figure 06 :</b> Support pour les tiges d'espèces <i>Aegilops</i> .....	55
<b>Figure 07:</b> Application des hormones de croissance.....	55
<b>Figure 08 :</b> Extraction des gluténines selon la méthode de Singh et al., 1991.....	66
<b>Figure 09 :</b> Dendrogramme des différents croisements réalisé.....	67
<b>Figure 10:</b> Caryopses des hybrides en comparaison avec les parents.....	80
<b>Figure 11:</b> Plante d' <i>Aegilops ventricosa</i> retrouvée dans la serre.....	82
<b>Figure 12 :</b> Graine de l'hybride <i>Aegilops ventricosa</i> /Montpellier endommagée.....	82
<b>Figure 13:</b> Embryons de taille normale.....	84
<b>Figure 14:</b> Embryon de taille petite .....	84
<b>Figure 15:</b> La germination d'un embryon (une semaine) .....	86
<b>Figure 16 :</b> Développement des vitro-plants .....	86
<b>Figure 17 :</b> Les vitro-plants avant leur transfert sur pots : a- <i>Aegilops geniculata</i> /Waha. b- <i>Aegilops geniculata</i> /Vitron .....	88
<b>Figure 18 :</b> Quelques types de diagrammes électrophorétiques des SG-HPM.....	91
<b>Figure 19 :</b> Quelques diagrammes électrophorétiques des SG-FPM.....	98
<b>Figure 20 :</b> Dendrogramme des profils électrophorétiques.....	104

<b>Tableau 01 :</b> Traits agronomiques intéressants de quelques espèces de graminées pérennes. In Bommineni & Jauhar (1997). .....	19
<b>Tableau 02 :</b> Classification de Van Slageren (1999) des genres <i>Aegilops</i> et <i>Amblyopyrum</i> .....	22
<b>Tableau 03 :</b> Les espèces du genre <i>Aegilops</i> considérées comme sources Potentielles de résistances aux maladies. In Zaharieva,(1996).....	40
<b>Tableau 04 :</b> Liste des espèces d' <i>Aegilops</i> considérées comme sources potentielles de résistance aux Parasites. In Zaharieva, (1996).....	41
<b>Tableau 05 :</b> Liste des espèces d' <i>Aegilops</i> considérées comme sources potentielles de résistance aux stress abiotiques. In Zaharieva, (1996).....	43
<b>Tableau 06 :</b> Transfert chez le blé de gènes de résistance aux maladies et aux parasites, issus de différentes espèces du genre <i>Aegilops</i> . In Zaharieva, (1996).....	44
<b>Tableau 07 :</b> Origine et Caractéristiques des variétés de blé dur ( <i>Triticum durum</i> Desf) utilisées dans les croisements (anonyme, 1996) .....	50
<b>Tableau 08 :</b> Composition chimique du milieu de culture B <sub>5</sub> , utilisé comme milieu de culture des embryons immatures.....	57
<b>Tableau 09 :</b> Composition des solutions mères du milieu de culture B <sub>5</sub> .....	59
<b>Tableau 10:</b> Présentation du matériel végétal caractérisé par l'électrophorèse SDS-PAGE.....	63
<b>Tableau 11 :</b> Solutions d'extraction des gluténines.....	65
<b>Tableau 12 :</b> Constituants des gels de séparation et de concentration.....	68
<b>Tableau 13 :</b> Résultats Obtenus par croisement, selon les paramètres étudiés .....	71
<b>Tableau 14 :</b> Matrice de corrélation entre les paramètres étudiés .....	72
<b>Tableau 15 :</b> Nombre d'embryons formés à partir des différentes combinaisons de croisements .....	74
<b>Tableau 16 :</b> Moyennes relatives à la période de l'essai.....	78
<b>Tableau 17:</b> Nombre d'embryons transférés sur milieu de culture et nombre de plantules régénérées.....	83

<b>Tableau 18.a :</b> Nombre et mobilités des sous unités HPM des parents.....	92
<b>Tableau 18.b :</b> Nombre et mobilités des sous unités HPM des hybrides <i>Aegilops</i> /blé dur.....	92
<b>Tableau 18.c :</b> Nombre et mobilités des sous unités HPM des hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i> .....	93
<b>Tableau 18.c :</b> Suite du nombre et mobilités des sous unités HPM des hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i> .....	94
<b>Tableau 18.d :</b> Nombre et mobilités élevés des sous unités HPM de quatre hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i> .....	95
<b>Tableau 19:</b> Fréquences des bandes du parent Oued Zenati retrouvées chez la descendance F <sub>3</sub> .....	96
<b>Tableau 20.a :</b> Nombre et mobilités des sous unités FPM des parents.....	99
<b>Tableau 20.b :</b> Nombre et mobilités des sous unités FPM des hybrides <i>Aegilops</i> /blé dur .....	99
<b>Tableau 20.c :</b> Nombre et mobilités des sous unités FPM des hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i> .....	100
<b>Tableau 20.d:</b> Nombre élevés des sous unités FPM de neuf hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i> .....	101
<b>Tableau 20.d: Suite du</b> nombre élevés des sous unités FPM de neuf hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i> .....	102
<b>Tableau 21:</b> Les hybrides présentant un nombre élevé de sous unités HPM et FPM.....	103

## Sommaire

	Pages
<b>Introduction</b> .....	16
<b><u>Chapitre I : Synthèse Bibliographique</u></b>	
Introduction .....	18
1-Présentation du genre <i>Aegilops</i> .....	21
1-1 Classification des <i>Aegilops</i> .....	21
1-2 Description botanique du genre <i>Aegilops</i> .....	23
1-2-1 Description botanique et constitution génomique	
a- <i>Aegilops geniculata</i> Roth. ....	23
b- <i>Aegilops triuncialis</i> L. ....	24
c- <i>Aegilops ventricosa</i> Tausch .....	26
1-3 Répartition géographique du genre <i>Aegilops</i> .....	27
2- Origines des génomes du blé .....	30
2-1 Le génome A .....	31
2-2 Le génome B .....	31
2-3 Le génomeD .....	31
3- Génome du blé et d' <i>Aegilops</i> : Affinité de croisements .....	32
4- L'hybridation naturelle entre le blé et les espèces apparentées .....	35
4-1 Croisement Blé tendre X <i>Aegilops cylindrica</i> Host : un exemple réel du risque d'introgession vers les espèces sauvages.....	37
5- Le genre <i>Aegilops</i> : Un grand Intérêt pour l'amélioration du blé.....	39
6- Les croisements interspécifiques .....	45
7- Les protéines de réserves .....	47
<b><u>Chapitre II : Matériel et Méthodes</u></b>	
1-Matériel végétal .....	49
2- Conduite de l'essai .....	51
2-1 Dispositif expérimental .....	51
2-1-1 Pré-germination .....	51
2-1-2 Installation de l'essai .....	51
2-2 Les étapes du croisement .....	51

2-2-a l'émasculation des épis d' <i>Aegilops</i> .....	51
2-2-b La pollinisation .....	52
2-3 Le traitement hormonale .....	54
3- La culture In Vitro .....	56
3-1 Le milieu de culture .....	56
3-2 La stérilisation .....	58
3-3 La technique de sauvetage d'embryons .....	60
3-1-1 Prélèvement des caryopses .....	60
3-1-2 Dissection des caryopses et mise en culture des embryons.....	60
4- Transfert des plantules dans le sol .....	61
5- L'Électrophorèse .....	62
5-1 Principe des techniques électrophorétiques .....	62
5-2 Electrophorèse en présence de Sodium Dodécyl-Sulfate (SDS-PAGE) .....	62
5-2-1 Extraction des gluténines .....	64
5-3 La séparation des protéines par SDS-PAGE.....	67
5-3-1 La préparation des gels .....	67
a- Le gel de séparation .....	67
b- Le gel de concentration .....	69
5-3-2 Le tampon d'électrophorèse .....	69
5-3-3 La migration .....	69
5-3-4 La coloration des gels .....	70
6- L'étude statistique .....	70

### **Chapitre III : Résultats et Discussion**

Présentation des résultats .....	71
1- Etude de l'influence des paramètres étudiés sur la formation d'hybrides .....	72
2- Croisabilité entre les génomes parentaux.....	74
3- Effet de la désynchronisation des floraisons des deux parents sur la production d'hybride.....	78
4- Récolte d'hybride en caryopse .....	79
5- Sauvetage d'embryons .....	81
5-1 La morphologie des embryons .....	83

5-2 Germination et développement des embryons in <b>vitro</b> .....	85
6- Phase d'acclimatation .....	87
7- Etude comparative des diagrammes électrophorétiques des hybrides et des parents .....	89
7-1 Etude comparative des diagrammes électrophorétiques des Sous unités gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM).....	90
7-2 Etude comparative des diagrammes électrophorétiques des Sous unités de faible poids moléculaire (SG-FPM).....	97
Conclusion & Perspectives .....	107
Références Bibliographiques .....	110
Annexes .....	125

## Introduction

La sélection a commencé avec la sédentarisation de l'homme. Elle s'est raffinée par la suite, en découvrant les lois de l'hérédité et le progrès qu'a connu la génétique, à grands pas elle a évolué, devenant l'outil de choix des améliorateurs pour face à l'augmentation de la demande sur la nourriture, en conséquence d'une croissance démographique accélérée.

Les céréales figurent parmi les cultures qui ont le plus bénéficié des programmes de sélection et d'amélioration. Ainsi beaucoup de variétés ont été améliorées ou créées et ont conquis de nouvelles zones de culture. Plus loin encore, des espèces nouvelles ont vu le jour.

En effet, les céréales fournissent environ 2/3 des besoins énergétiques et 70% des apports protéiques dans une ration alimentaire moyenne (FAO, 2003).

Le stress hydrique est principalement le facteur environnementale limitant la production des céréales dans la région méditerranéenne, dans la quelle l'orge (*Hordeum vulgare* L.), le blé dur (*Triticum turgidum* var. *durum* L.) et le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) sont les cultures principales (Araus et al., 2003).

En plus, pour la sécheresse (et les autres stress abiotiques), le transfert de la résistance par les approches traditionnelles est limité par la complexité des caractéristiques de tolérance (Patnaik & Khurana, 2001).

La sélection pressée, l'introduction de variétés améliorées en concurrence avec celles existantes et leur utilisation intensive, ont conduit à une perte de diversité et à la vulnérabilité des cultivars face aux maladies et aux stress abiotiques.

En Algérie, une grande diversité des blés cultivés était observée. En effet, au début du siècle une multitude de variétés et /ou populations de terroirs étaient cultivées, mais depuis la fin des années soixante, la gamme variétale locale a commencé à régresser sous les introductions massives des blés dits à haut potentiel génétique (Abdelguerfi & Laouar, 2000).



Le regard c'est tourné vers les espèces sauvages, pleines de gènes de rusticité vue leur adaptation à différents climats.

Le genre *Aegilops* apparenté au genre *Triticum* est une source précieuse d'importants traits économiques pour l'amélioration du blé (Valkoun et *al.*, 1985; Holubec et *al.*, 1993 In Zaharieva et *al.*, 2003).

Les espèces d'*Aegilops* adaptées aux zones semis arides où les quantités d'eau sont limitées, sont un réservoir potentiel de gènes pour l'amélioration de la tolérance à la sécheresse des blés cultivés (Baalbaki et *al.*, 2006).

Des hybrides naturels ont été observés dans la nature entre *Aegilops* x blé dur, où ces espèces sauvages poussent à proximité des champs de blé (David et *al.*, 2003), ainsi le but de ce travail est de vérifier la possibilité d'un tel croisement et d'obtenir des hybrides interspécifiques, servant de matériel de départ pour la sélection de gènes de résistance à introduire dans les variétés de blé dur.

La présente étude se compose de trois chapitres:

- ✚ La Synthèse Bibliographique dont la quelle nous présentons les deux espèces ainsi que la littérature relative à notre thème.
- ✚ Le chapitre Matériel et Méthodes sous le quel sont rassemblées la description du matériel végétal ainsi que les techniques utilisées pour la réalisation de notre objectif.
- ✚ Vous trouverez enfin dans le dernier chapitre Résultats et Discussions, l'ensemble des résultats obtenus et leur interprétation.

## Introduction

Le blé tendre (*Triticum aestivum* L), le blé dur (*Triticum turgidum* L), le riz (*Oryza sativa* L), le maïs (*Zae mays*), l'orge (*Hordeum vulgare* L), le rye (*Secale cereale* L), le sorgho (*Sorghum bicolor* (L) Moench), le millet (*Pennisetum glaucum* (L) R. Br.) sont des céréales qui appartiennent à la famille des *Poaceae*, des plantes monocotylédones. Leur utilisation dans l'alimentation humaine remonte à l'âge Néolithique, environ 10,000 ans avant, et représentent actuellement les deux tiers de l'approvisionnement mondiale en nourriture (Borlaug, 1998).

De 1930 à 1970 le monde a connu une augmentation importante dans les rendements des cultures notamment celle des céréales (Khush, 1999), grâce à l'application des principes de la génétique et de la cytogénétique dans le domaine de l'amélioration des plantes. En effet, le rendement en grain des grandes céréales : blé, maïs, sorgho et millet a augmenté progressivement depuis 1930 (Fehr, 1984 ; Brown & Kane, 1994).

La fameuse révolution verte à commencé avec l'introduction en Asie, des variétés améliorées de blé et de riz aux années 1960 et 1970, obtenues par l'incorporation de gènes de nanisme (Khush, 1999).

Les espèces des céréales aussi bien annuelles que pérennes, recèlent de nombreux caractères agronomiques intéressants (Bommineni & Jauhar, 1997) (Tableau 01).

L'hybridation interspécifique et intergénérique a joué un rôle crucial dans l'amélioration des céréales, par l'introduction dans des différents cultivars, de nombreux traits désirables, à partir des espèces apparentées (Jauhar, 1993 ; Jiang et al, 1994 ; Friebe et al., 1996 ; Jauhar & Chibar, 1999 ; Gale & Miller, 1987 ; Doebley ,1990).

**Tableau 01 :** Traits agronomiques intéressants de quelques espèces de graminées pérennes. In Bommineni & Jauhar (1997).

<b>Espèces/cultivar</b>	<b>Traits intéressants</b>	<b>Références</b>
<i>Triticeae</i>		
1. <i>Agropyron ciliare</i>	Résistance au virus du nanisme jaune de l'orge (BYDV),	Liu et al., 1990
2. <i>Agropyron sp.</i>	aux rouilles, au stress salin, aux caries, à l'oïdium, tolérance aux températures basses et à la sécheresse.	Citer par Larkin et al., 1995 et Hohmann et al., 1996.
3. <i>Aegilops longissima</i>	Résistance à l'oïdium (Pm13).	Ceoloni et al., 1996
<i>Aegilops elongatum</i>	Résistance à la rouille des feuilles (Lr19).	
4. <i>Aegilops markgrafi</i>	Taux élevé en protéines, résistance à l'oïdium, à la rouille striée des feuilles, tolérance au stress salin (chromosome 5)	Potz et al., 1996 koebner et al., 1996
<i>Avena sp:</i>		
<i>Avena fatua</i> & <i>A. sterilis</i>	Résistance à la rouille noire, BYDV (virus du jaunissement nanisant de l'Orge), taux élevé en protéines.	Citer par Jellen et al., 1994a
<i>Rye</i>		
<i>Secale cereale</i>	Résistance à la mouche de Hesse (chromosome 6 rl), à l'oïdium et aux rouilles.	Citer par Delaney et al., 1995.
<i>Hordeum sp</i>		
<i>Hordeum bulbosum</i>	Tolérance à la sécheresse, résistance à l'oïdium, à la rouille jaune et brune.	Citer par Xi & Kasha, 1992.
<i>Oryza sp</i>		
<i>oryza alta</i>	Production élevée de biomasse	Mao et al., 1995.
<i>Eleusine sp.</i>	Tolérance à la sécheresse, haut rendement: nutrition	Barbeau & Hilu, 1993.
<i>Mais</i>		
Teosinte ( <i>Zea sp.</i> ) & <i>Tripsacum sp.</i>	Résistance à la sécheresse et aux maladies.	Citer par Kindiger & Beckett, 1992.

On s'est vite aperçu que les cellules et les tissus des plantes monocotylédones étaient récalcitrants à la régénération *in vitro*, et à la transformation par le biais d'*Agrobacterium* (Repellin et *al.*, 2001). En conséquence, les premières céréales transgéniques n'ont vu le jour qu'à la fin de l'année 1980 (Rhodes et *al.*, 1988 ; Toriyama et *al.*, 1988 ; Zhang & Wu, 1988).

Les céréales ont une faible réponse aux techniques de la culture *in vitro* en comparaison avec les dicotylédones. En effet, pour les céréales, seuls les tissus immatures ou les cellules d'un certain âge limité peuvent être induits pour une meilleure régénération (Repellin et *al.*, 2001).

Les protoplastes préparés à partir de culture en suspension des embryons immatures du millet, étaient parmi les premières cellules des monocotylédones à montrer le pouvoir de totipotence (Vasil & Vasil, 1980). En conséquence, des protocoles de régénération à partir de jeunes inflorescences, de jeunes feuilles, des anthères, des microspores et des apex racinaires ont été développés (Vasil, 1987). Actuellement ces explant (cellules ou tissus) sont utilisés dans les transformations, soit directement après l'isolement, soit après l'induction de l'embryogenèse (Bommineni & Jauhar, 1997) (In : Repellin et *al.*, 2001).

## **1- Présentation du genre *Aegilops***

### **1-1 Classification des *Aegilops***

Depuis la découverte des *Aegilops*, plusieurs classifications ont été proposées. En effet, les avis entre botanistes et généticiens sont divergents, l'ambiguïté réside dans le fait de classer les *Aegilops* avec les *Triticum* ou les traiter séparément et vis versa.

Ainsi (Zhukovsky, 1928) et (Eig, 1929) ont tout deux établi des classifications basées sur l'étude des caractères morphologiques et la distribution géographique.

La classification de (Kihara, 1954) a été proposée sur une analyse des génomes, avec des formules pour les différents génomes.

La classification la plus importante est celle de (Van Slageren, 1994) (tableau 02), elle traite les *Aegilops* en un genre séparé de *Triticum*. Selon lui deux genres sont retenus, le genre *Amblyopyrum* représenté par une seule espèce et le genre *Aegilops* divisé en cinq sections : *Aegilops*, *Comopyrum*, *Cylindricum*, *Sitopsis* et *Vertebrata*.

**Tableau 02 :** Classification de (Van Slageren, 1994) des genres *Aegilops* et *Amblyopyrum*

Génome	Espèces
	<b>Genre <i>Aegilops</i> L.      Sect. <i>Aegilops</i> L.</b>
UC	<i>Ae. triuncialis</i> L. Var. <i>triuncialis</i> Var. <i>percica</i> (Boiss.) Eig
SU	<i>Ae. peregrina</i> (Hackel in J. Fraser) Maire et Weiller Var. <i>peregrina</i> Var. <i>brachyathera</i> (Boiss.) Maire et Weller
SU	<i>Ae. kotschy</i> Boiss
UM	<b>Ae. biuncialis</b> Vis
MU	<i>Ae. geniculata</i> Roth
UM ou UMN	<i>Ae. neglecta</i> Reg. ex Bertol.
UM	<i>Ae. columnaris</i> Zhuk.
U	<i>Ae. umbellulata</i> Zhuk.
	<b>Sect. <i>Cylindropyrum</i> (Jaub. Et Spach) Zhuk</b>
CD	<i>Ae. cylindrica</i> Host
C	<i>Ae. caudata</i> L.
	<b>Sect. <i>Comopyrum</i> (Jaub. et Spach) Zhuk</b>
M	<i>Ae. comosa</i> Sm. in Sibth. et Sm Var. <i>comosa</i> Var. <i>subventricosa</i> Boiss.
N	<i>Ae. uniaristata</i> Vis.
	<b>Sect. <i>Vertabrata</i> Zhuk. emend. Kihara</b>
D	<i>Ae. tauschii</i> Cosso.
DN	<i>Ae. ventricosa</i> Tausch
DM ou DDM	<i>Ae. crassa</i> Boiss
DMU	<i>Ae. juvenalis</i> (Thell.) Eig
DMS	<i>Ae. vavilovii</i> (Zhuk.) Chennav.
	<b>Sect. <i>Sitopsis</i> (Jaub. et Spach) Zhuk</b>
S	<i>Ae. speltoides</i> Tausch Var. <i>speltoides</i> Var. <i>ligustica</i> (Savig.) Fiori
S <sup>b</sup>	<i>Ae. bicornis</i> (Forssk.) Jaub. et Sp. Var. <i>bicornis</i> Var. <i>anthera</i> Eig.
S <sup>1</sup>	<i>Ae. longissima</i> Schweinf. et Muschl.
S <sup>1</sup>	<i>Ae. charonensis</i> Eig.
S <sup>s</sup>	<i>Ae. searsii</i> Feldman et Kislev ex Hammer
	<b>Genre <i>Amblyopyrum</i> (Jaub. et Sp.) Eig</b>
T	<i>Ae. mutica</i> (Boiss.) Eig Var. <i>muticum</i> Var. <i>loliaceum</i> (Jaub. et Sp.) Eig

## **1-2 Description botanique du genre *Aegilops***

Les épis sont simples, articulés avec la tige et tombant à maturité d'une seule pièce. Les épillets sont indépendants, sessiles et alternes, placés par une de leurs faces dans des excavations du rachis et appliqués contre lui, à deux fleurs fertiles accompagnées de rudiments ou multiflores. L'épillet terminal fait exception et s'applique sur le rachis par le côté. Les glumes sont très difficiles à détacher du rachis, concaves, souvent renflées par le milieu, non carénées, à sommet tronqué et portant 1- 5 arêtes ou dents ; toutefois, parfois mutique ; non carénées (Quezel & Santa, 1962).

### **1-2-1 Description botanique et constitution génomique**

#### **a- *Aegilops geniculata* Roth.**

La semence est généralement dispersée avec l'inflorescence entière ou avec un épillet et une partie du rachis. L'épi contient 2 ou 3 épillets fertiles ventrus à la base, de plus en plus petits stériles au dessus. Les glumes sont à 4 arêtes scabres (fig.01-a).

La préfoliation de la plantule est enroulée, la gaine est cylindrique. Le limbe est de 20 à 50 fois plus long que large. La feuille est plus ou moins poilue. La ligule membraneuse est dentée et les oreillettes sont courtes.

La plante adulte est cespiteuse, elle atteint 30 à 40 cm de hauteur. Les feuilles sont glabres ou poilues. La surface de la gaine est toujours hérissée.

L'épi est distique, de moins de 3 cm, il est stérile au sommet. Avec 3 à 5 longues arêtes, les arêtes de la lemme presque aussi longues que celles de la glume. La déhiscence se produit au nœud de l'épillet fertile basal (Lonchamp, 2007.a).

## Constitution génomique

*Aegilops geniculata* Roth (syn. *Ae.ovata* L.) est une espèce annuelle, autogame (Hammer, 1980), allotétraploïde ( $2n = 4x = 28$ ), issue du croisement naturel entre deux espèces diploïdes : *Aegilops umbellulata* Zhuk. ( $2n = 2x = 14$ , UU) et *Aegilops comosa* Sm.in Sibth. & Sm. ( $2n = 2x = 14$ , MM). Ce qui donne la formule génomique UUMM (Kihara 1937, 1946, 1954 ; Kimber & AbuBakar 1981).

Elle pousse dans la région méditerranéenne, le Moyen Orient et les parties Sud de la Russie et de l'Ukraine.

### **b- *Aegilops triuncialis* L.**

La plantule présente une préfoliation enroulée, la gaine est cylindrique. Le limbe est de 20 à 50 fois plus long que large, les feuilles sont plus au moins poilues. La ligule membraneuse est dentée et les oreillettes sont courtes.

La plante adulte atteint 20 à 30 cm, c'est une plante cespiteuse. Les feuilles sont velues, assez étroites, plates, molles et aigues.

La longueur de l'épi varie de 4 à 6 cm, il comprend 4 à 7 épillets (fig.01-b), chaque épillet comprend 3 à 4 fleurs vertes, pâles et un peu glauques. Les glumes sont oblongues non ventruées avec 2 à 3 arêtes. La déhiscence se produit au nœud de l'épillet fertile basal (Lonchamp, J.-P. 2007.b).

Les arêtes glumaires peuvent être très longues et atteindre 7 cm. Les lemmes soit mutiques, soit à 3 dents ou arêtes courtes dans les épillets latéraux ; à une arête longue accompagnée de 2 arêtes courtes ou 2 dents dans l'épillet terminal. Rencontrée dans les broussailles, les pâturages, les champs et les clairières dans le Tell (plus rare à l'est) (Quezel & Santa, 1962).





**a**



**b**



**c**

**Figure 01:** Photos représentant les épis: **a.** *Aegilops geniculata*. **b.** *Aegilops triuncialis*. **c.** *Aegilops ventricosa*.

Eig (1929), selon les caractéristiques morphologiques a divisé cette espèce en deux sous espèces : *ssp. eu-triuncialis* et *ssp. orientalis*. La *ssp. eu-triuncialis* inclue 2 variétés « *typica* » et « *constantinopolitana* », *ssp orientalis* est constituée de 3 variétés « *assyriaca* » « *persica* » et « *anathera* ». Cela indique que l'espèce *Aegilops triuncialis* présente une grande variabilité intraspécifique (Nakai, 1981).

### **Constitution génomique**

*Aegilops triuncialis* L. ( $2n = 4x = 28$ ) est une espèce tétraploïde, c'est un amphiploïde résultant du croisement entre *Aegilops umbellulata* Zhuk. ( $2n = 2x = 14$ , UU) et *Aegilops caudata* L. ( $2n = 2x = 14$ , CC) (Kihara, 1940).

### **c- *Aegilops ventricosa* Tausch**

L'épi est cylindracé, moniliforme ou non, de 4-12 cm, dense et progressivement atténué au sommet, présentant parfois 1 à 2 épillets rudimentaires à la base (fig.01-c). Glumes à 6-10 nervures marquées ; celles des épillets latéraux tronquées et à 2 dents séparées par un sinus large ; celles de l'épillet terminal tridentées avec la dent médiane se prolongeant parfois en arête (les dents latérales peuvent alors manquer). Les lemmes peuvent être arisées ou non.

Rencontrée dans les Pâturages, champs et les clairières : dans le Tell. « Bou sout », « Sboulet el far », « Oum el ghenah » (Quezel & Santa, 1962).

### **Constitution génomique**

*Aegilops ventricosa* Tausch (synonymes *Agilops fragilis* Parl., *Triticum ventricosum* Ces.) est une espèce tétraploïde, avec la formule génomique DDNN (Kimber & Tsunewaki, 1988). Le génome N provient d'*Ae.uniariata* Vis. ( $2n = 14$ ) (Kimber et al., 1983 ; utilisant l'ancienne designation M ( $M^V$ ), Badaeva

et *al.*, 1996b). Le génome D est celui d'*Aegilops Squarrosa* L. (syn. *Aegilops tauschii* Cosson,  $2n = 2x = 14$  (Lilienfeld, 1951).

### **1-3 Répartition géographique du genre *Aegilops***

La distribution écogéographique des espèces d'*Aegilops* a été bien décrite par (Sankary, 1990) et (Van Slageren, 1994).

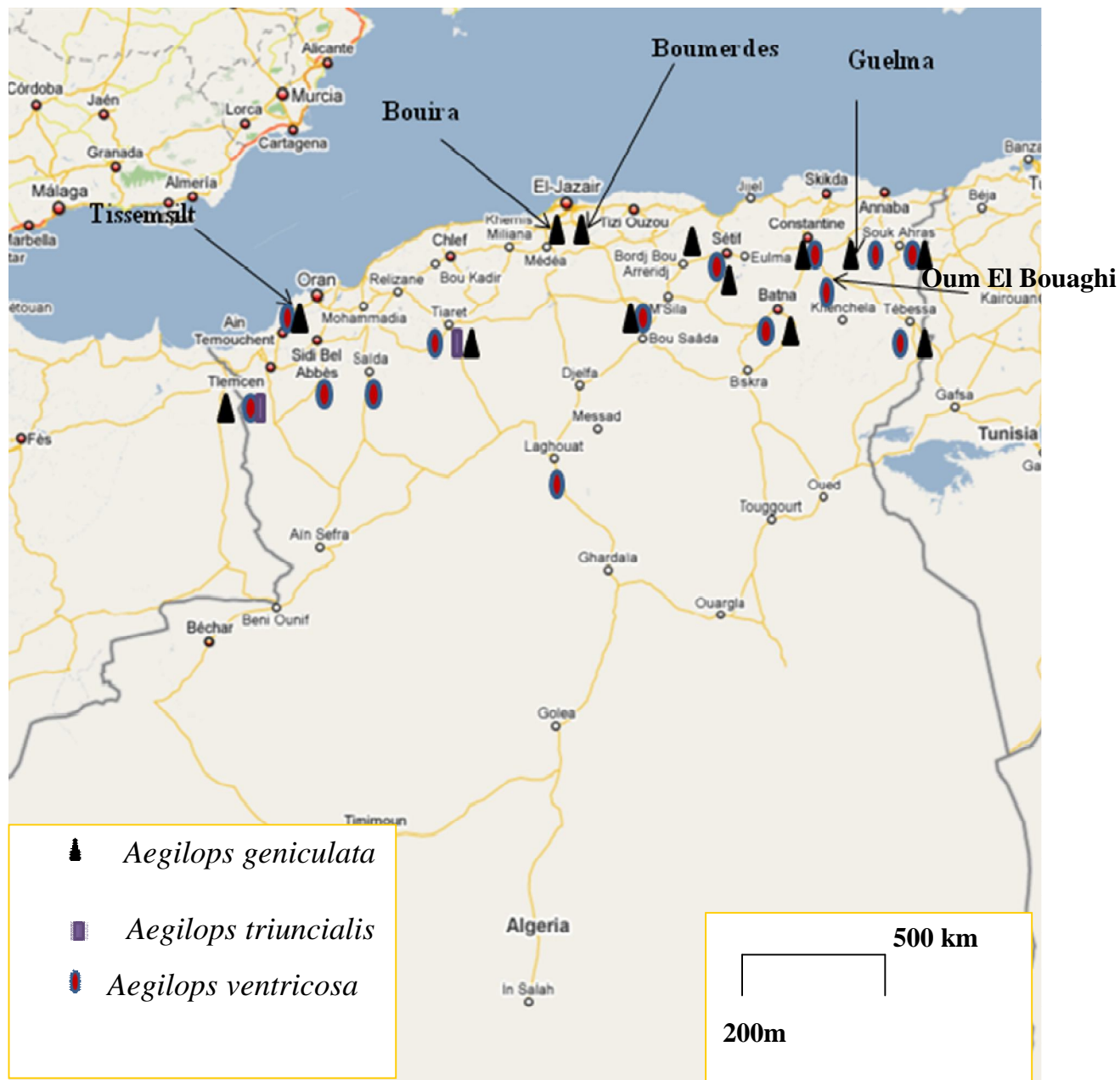
Un grand nombre des espèces du genre *Aegilops* se rencontrent dans les bords des champs de blé et de légumineuses, les pâturages et les maquis. A des altitudes entre 500 et 1200 m (Van Slageren, 1994).

Selon (Van Slageren, 1994) le genre *Aegilops* est réparti principalement:

- Dans le bassin méditerranéen: dans les régions centrales et méditerranéennes de l'Europe, en Afrique, dans les régions du Nord du Sahara.
- En Asie centrale et occidentale.

Les espèces d'*Aegilops* appartenant au groupe des *Triticeae* de la méditerranée sont principalement localisées dans les pays caractérisés par des hivers pluvieux et des étés chauds. La dormance des graines permet aux espèces d'*Aegilops* de survivre aux étés chauds (Zaharieva & Monneveux, 2006), ainsi que le mode de désarticulation de l'épi et leur mode de développement annuel.

En Algérie, la prospection réalisée par l'ICARDA en 1989-1990, a permis d'identifier 71 accessions d'*Aegilops*, qui sont maintenues dans sa banque de gènes, dont 70 ont été complètement caractérisées par l'unité de ressources génétiques de l'ICARDA. Ces 71 accessions représentent 3 espèces: *Aegilops*



**Figure 02** : Répartition des trois espèces d'*Aegilops* tétraploïdes en Algérie selon la prospection de l'ICARDA (1989-1990).

*geniculata* Roth avec 37 accessions, *Aegilops triuncialis* L (2 accessions) et *Aegilops ventricosa* Tausch avec 32 accessions. 86 de ces accessions ont été collectées par l'ICARDA et les 3 autres ont été fournies par l'IBPGR.

La figure 02 représente la distribution de ces trois espèces tétraploïdes sur le territoire nationale. L'Algérie est un pays du bassin méditerranéen, considéré par (Van Slageren, 1994) comme un centre secondaire d'évolution des *Aegilops*.

Quelques espèces diploïdes du genre *Aegilops* existent en Algérie. *Ae.umbellulata* (Souk-Ahras), *Ae. caudata* (Constantine) et *Ae. Tauschii* (Sétif, Constantine) ont fait l'objet d'une caractérisation biochimique par (Hamdi et al., 2007).

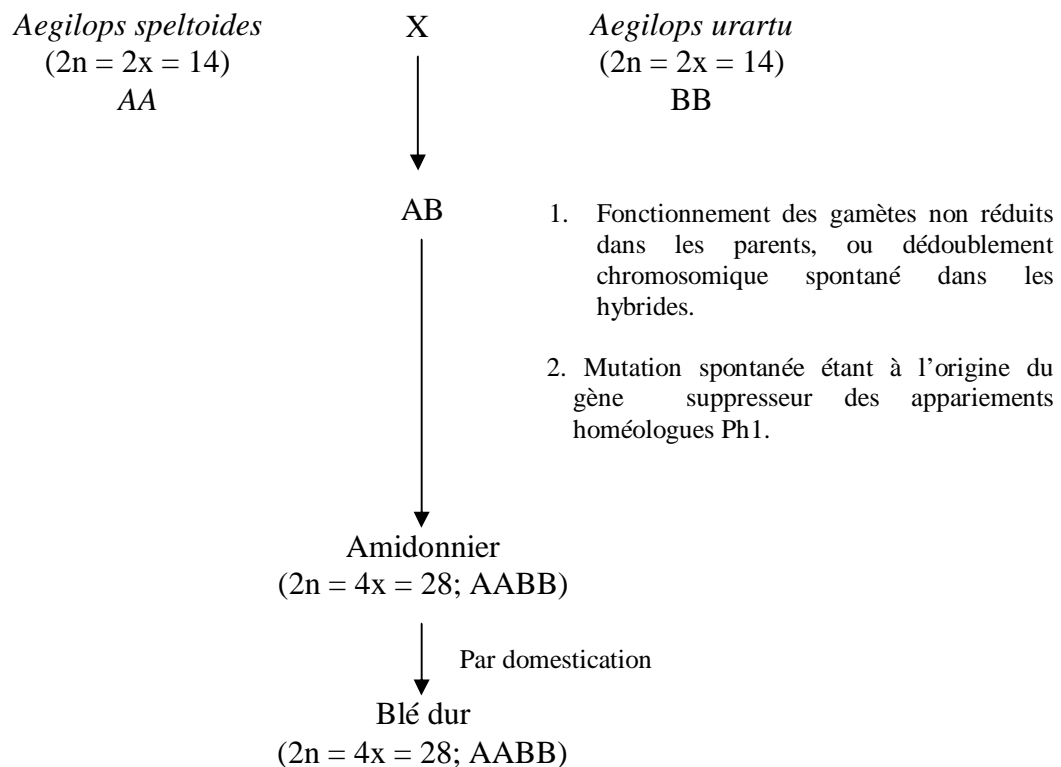
Selon Van Slageren (1994) les espèces diploïdes du genre *Aegilops* ont des aires de répartition limitées par rapport aux espèces tétraploïdes, caractérisées par une large distribution géographique.

*Aegilops geniculata* se retrouve en Algérie, dans une large gamme de conditions climatiques (Bandou et al., 2009). Ces auteurs ont collecté des populations de cette espèce sous des conditions bioclimatiques et écologiques différentes, allant des plaines côtières au Nord jusqu'aux hauts plateaux steppiques au Sud, incluant les montagnes de l'Atlas Tellien. Bandou, non publié In Bandou et al., (2009) déclare qu'en Algérie, l'espèce *Aegilops geniculata* forme des populations mixtes avec *Aegilops neglecta*. Ainsi des types intermédiaires, issus d'hybridations, peuvent être observés. Hamdi et al., (2007), dans leur étude, indiquent qu' *Aegilops neglecta* est collectée de Khenchla.

## 2- Origines des génomes du blé

Le blé dur est un hybride naturel, c'est un allotétraploïde avec la constitution génomique AABB. Ses deux génomes proviennent d'espèces diploïdes sauvages (*Aegilops urartu* et probablement *Aegilops speltoides* respectivement) (fig. 03).

Les deux progéniteurs originaires du Moyen Orient, se sont croisés dans la nature il y a 10,000 ans (Harlan, 1992) et ont donné naissance au blé tétraploïde « l'amidonnier » (*Triticum turgidum* var *dicoccoides* Korn), qui par domestication a donné le blé dur (Huang et *al.*, 2002).



**Figure 03:** Les étapes de l'évolution du blé dur (Jauhar et *al.*, 1999).

Un tel événement s'est produit soit par le fonctionnement des gamètes non-réduits dans les parents, ou bien par un dédoublement chromosomique spontané dans l'hybride, donnant naissance au blé tétraploïde. En même temps, une mutation est apparue étant à l'origine du gène suppresseur Ph1, qui a conféré une régularité méiotique et donc une stabilité de production à l'amidonnier (Jauhar et *al.*, 1999).

### **2-1 Le génome A**

Le donneur du génome A est *Triticum urartu* (Nishikawa, 1983; Dvorak et *al.*, 1993).

### **2-2 Le génome B**

L'origine du génome B reste incertaine, les propositions ont été diverses. Cependant plusieurs auteurs suggèrent que *Aegilops speltoides* est le donneur (Sarker & Stebbins, 1956 ; Chen & Gill, 1983, Bahrman et *al.*, 1988, Fernandez-Calvin & Orellana, 1990), ou l'une des espèces diploïdes de la section *Sitopsis* (espèces à génomes S) : *Aegilops longissima* (Tsunewaki & Ogihara, 1983), *Aegilops bicornis* (Sears, 1956), *Aegilops searsii* ( Kerby & Kuspira, 1988), *Aegilops sharonensis* ( Kushnir & Halloran, 1981).

### **2-3 Le génome D**

L'origine du génome D du blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et des blés hexaploïdes est bien définie. Kihara (1944) a établi que la source du génome D est *Aegilops squarrosa* syn. *Aegilops tauschii* Coss.

### 3- Génome du blé et d'*Aegilops* : Affinité de croisements

Les chromosomes du blé sont groupés en nombre 7, ce qui donne la formule  $2n=4x=28$ , pour le blé dur et  $2n=6x=42$  pour le blé tendre. X étant le nombre chromosomique de base, c'est le nombre de chromosomes dans un génome.

Les chromosomes de chaque génome sont appelés homologues, le terme homologue correspond à une paire de chromosome qui ont des allèles pour le même gène, à l'intérieur du génome.

Les chromosomes correspondants des deux génomes du blé sont appelés homéologues et du point de vue de l'évolution, il est considéré qu'ils ont une origine commune (Kimber & Feldman, 1987).

L'appariement entre ces chromosomes est inhibé par un gène appelé Ph1 « Pairing Homeologous1 » (Riley & Chapman, 1958 ; Sears, 1976). Le locus du gène Ph1 est cartographié sur le groupe de linkage du chromosome 5B (Riley & Chapman, 1958 ; Sears & Okamoto, 1958), le Ph1 agit comme un gène dominant, supprimant l'appariement des chromosomes homéologues, mais permettant l'appariement régulier des chromosomes homologues.

En conséquence, seulement des bivalents sont formés à la méiose (Hegde & Waines, 2004). Plus loin encore, le locus Ph1 prévient l'appariement des chromosomes homéologues entre le blé et quelques génomes apparentés dans les hybrides (Riley et al., 1959 ; Jauhar & Chibbar, 1999).

Les genres *Triticum* et *Aegilops* appartiennent à un complexe d'espèces sauvages et domestiquées, dont les membres allopolyploïdes se sont évolués par spéciation des hybrides (Kimber & Sears, 1987).



Le pool génétique primaire du blé comprend quatre espèces sauvages *Triticum monococcum* L. ssp. *agilopoides* (Link) Boiss, *Triticum uratu* Tumaniaux ex Grandilyan, *Triticum turgidium* L. ssp. *dicoccoides* (Korn ex. Asch. & Graebn.) Thell et *T.timopheevii* (Zhuk.) Zhuk et leurs formes domestiquées dans le genre *Triticum* L.

Le pool génétique secondaire est constitué en grande majorité du genre *Aegilops* (B/G et le genre *Amblyopyrum*) (Harlan & de West, 1971).

Les études caryologiques de (Kihara, 1937) et (Sears, 1941), sur plusieurs espèces d'*Aegilops* ont démontré que leur nombre chromosomique ( $x=7$ ) est le même que celui du blé.

Elles ont aussi démontré que comme le genre *Triticum*, le genre *Aegilops* peut être divisé en trois niveaux de ploïdie (diploïde  $2n=2x=14$ , tétraploïde  $2n = 4x =28$  et hexaploïde  $2n = 6x =42$ ). Selon (Van Slageren, 1994) le genre *Aegilops* comprend 11 espèces diploïdes, 10 tétraploïdes et 2 hexaploïdes.

Les espèces polyploïdes du genre *Triticum* et *Aegilops* constituent un exemple classique de l'évolution par amphiploïdie. Les espèces tétraploïdes ont un génome commun avec leurs ancêtres diploïdes (Zaharieva & Monneveux, 2006).

Zohary & Feldman (1962), proposent que l'hybridation introgressive a joué un rôle significatif dans la divergence intraspécifique des *Aegilops*.

Kimber (1988), distingue parmi les espèces polyploïdes d'*Aegilops* et de *Triticum* trois groupes dont chacun d'eux renferme des espèces polyploïdes ayant un génome en commun, appelé génome « pivot » (A, U ou D) qui a peu changé par allopolyploïdisation et par spéciation (Zohary & Feldman, 1962), pendant que le deuxième génome (ou bien le troisième) (M, N, C et S) a connu des modifications.

Les polyploïdes du groupe A, ont le génome de l'ancêtre commun diploïde *Triticum uratu*, ceux du groupe U portent le génome d'*Aegilops umbellulata* et ceux du D présentent le génome d'*Aegilops taushii*.

Cette structure génétique (un génome en commun et un ou deux différenciés) peut expliquer le taux comparativement élevé d'hybridation spontanée réussite (et par conséquent le flux de gènes) entre polyploïdes (Kimber & Yen, 1988). L'hybridation est facilitée par le génome commun, qui agit comme un tampon, assurant ainsi une certaine fertilité dans les hybrides résultants.

Les génomes différenciés qui proviennent de parents différents peuvent échanger leurs matériels génétiques et formés des génomes recombinés (Zaharieva & Monneveux, 2006).

L'effet du gène Ph1 est supprimé sous plusieurs facteurs génétiques, c'est le cas d'hybrides entre le blé tendre et quelques espèces diploïdes d'*Aegilops*.

Au sein des *Aegilops*, quelques gènes peuvent supprimer l'effet du locus Ph1 et donc permettre l'appariement des chromosomes homéologues (Hegde & Waines, 2004).

Cette suppression a été observé la première fois, sur des hybrides entre le blé tendre et *Aegilops speltoides* (Feldman & Mello-sampayo, 1967; Dover & Riley, 1972).

Depuis, cet effet a été observé sur des hybrides avec certains génotypes d'*Aegilops caudata* L., *Aegilops sharanonsis* Eig, *Aegilops longissima* Schweinf. & Muhl. Il se peut que tous les diploïdes d'*Aegilops* et de *Triticum* effectuent cette suppression (Van Slageren, 1994).

Un autre genre distant *Amblyopyrum*, où *Amblyopyrum muticum* (Jaub. & Spach) Gig (Synonyme : *Aegilops mutica* Boiss), effectue aussi la suppression de l'effet du Locus Ph1 (Dover & Riley, 1972).

Par contre, il n'est pas encore claire si les gènes au sein des espèces polyploïdes sont aussi capable de supprimer l'effet du Locus Ph1, favorisant ainsi l'appariement des chromosomes homéologues et donc l'introgession (Hegde & Waines, 2004).

Cependant, quelques rapports récents, indiquent que probablement, la suppression du Ph1 se produit aussi au niveau polyploïde (Zemetra et al., 1998 ; Wang et al., 2001 ; Lin, 2001; Morrison et al., 2002b ).

#### **4- L'hybridation naturelle entre le blé et les espèces apparentées**

Il est connu depuis bien longtemps que les plantes cultivées s'hybrident naturellement avec leurs apparentées (de Candolle, 1882. In : Zaharieva & Monneveux, 2006).

Arnold (1997) et (Harrison, 1990) définissent l'hybridation naturelle comme étant une rencontre avec succès dans la nature, entre individus génétiquement différents par un caractère héréditaire au minimum. Une « rencontre avec succès » implique une production d'une descendance F1 viable, qui possède un degré de fertilité (Arnold, 1997). Le croisement de ces hybrides avec leurs parents (backcross) sur plusieurs générations est appelé introgression (Hegde & Waines, 2004).

Ainsi, la découverte de quelques hybrides naturels entre le blé tendre et *Aegilops cylindrica* Host, indique qu'un faible taux de croisement éloigné se produit sous les conditions naturelles dans les Etats Unis, ou dans d'autres

régions du monde, là où les espèces parentales cohabitent (Zohary & Feldman, 1962 ; Hammer & Matzk, 1993 ; Van Slageren, 1994 ; Mallory-Smith et *al.*, 1996).

Dans le cas du blé, certaines observations ont noté un taux de fertilisation atteignant les 10% (cela dépend de l'année et du cultivar) (Enjalbert et *al.*, 1998), cependant un taux de 0 à 2 % est généralement accepté (Zaharieva & Monneveux, 2006).

Malgré, que peu de documents en parlent, le taux de fertilisation croisée des *Aegilops* autogames devrait être similaire à celui du blé (Boguslavski, 1979).

En effet, (D'Souza 1970 ; Beri & Anand, 1971) rapportent que 30 à 80% du pollen peut être éjecté en dehors de la fleur, facilitant ainsi son transport par le vent.

C'est ainsi que (Hamrick et *al.*, 1979 ; Govindaraju, 1988), déclarent que le succès du flux de gènes dépend du mode de pollinisation, de la structure florale. Il dépend aussi de la dispersion du pollen (Waines & Hegde, 2003).

Selon (Joppa et *al.*, 1968 ; Waines & Hedge, 2003), le potentiel d'introgession du blé aux espèces apparentées dépend de l'efficacité de son grain de pollen (du blé) comme donneur. (Kimber & Feldman, 1987) déclarent que la réussite du grain de pollen dans la fertilisation dépend du degré de la relation entre les 2 taxons.

Le croisement éloigné et le potentiel du transport de gènes dépendent du degré et de la durée d'ouverture des glumes à l'anthèse, de la taille des anthères, de la production et la viabilité du pollen (Hucl, 1996 ; Waines & Hegde, 2003).

Encore, une hybridation naturelle réussite dépend de la relation génétique, du niveau de ploïdie et de la direction de l'hybridation entre les espèces (Rieseberg & Wendel, 1993).

En Europe, l'hybridation du blé avec quelques espèces apparentées est connue, dans certains cas donnant même des semences viables (Van Slageren, 1994).

En Amérique l'hybridation naturelle entre *Aegilops cylindrica* Host et le blé tendre est bien documentée (Mayfield, 1927 In : Hegde & Waines, 2004 ; Morrison et *al.*, 2002 a, b). Cependant, et à notre connaissance aucun document n'existe sur l'hybridation naturelle en Afrique ou en Afrique du Nord.

#### **4-1 Croisement Blé tendre X *Aegilops cylindrica* Host : un exemple réel du risque d'introggression vers les espèces sauvages**

L'hybridation naturelle spontanée avec les espèces apparentées a été observé pour la plupart des plantes cultivées du Monde (Ellstrand et *al.*, 1999) comme le sorgho (Arriola & Ellstrand, 1996), le tournesol (Whitton et *al.*, 1997), du maïs (Doebly, 1990), la betterave à sucre (Bartsh & Phohl-Orf, 1996).

Ce fait a relevé l'objection de l'amélioration par l'introduction de nouvelles variétés OGM. En effet, il est possible qu'un transgène s'incorpore dans le pool génétique de l'espèce sauvage par transmission verticale, après hybridation interspécifique spontanée (Cifuentes et *al.*, 2006).

Waines & Hegde, (2003), indiquent que le transfert de gène d'une plante OGM à une autre non OGM de la même culture est probablement plus fréquent que celui à une espèce sauvage, car elles son sexuellement compatibles et peuvent être cultivées à proximité l'une de l'autre dans la même saison.

En recevant des gènes de résistance, la plante sauvage augmentera son état de mauvaise herbe, un dommage serait possible pour l'agriculture et l'équilibre écologique; la compétition élevée avec d'autres espèces serait à l'origine d'une perte de diversité (Williamson, 1994).

Le potentiel d'un tel flux de gène est directement proportionnel au potentiel de l'hybridation entre l'espèce et son apparentée (Ellstrand & Hoffman, 1990).

A ce propos, l'étude et l'évaluation de la capacité des espèces cultivées à se croiser avec les espèces sauvages et de produire des graines viables sont d'une grande importance (Ellstrand et al., 1999).

Aux Etats Unis, quelques hybrides fertiles ont été observés entre blé tendre et (*Triticum aestivum*) et *Aegilops cylindrica* Host dans les champs de blé (Mallory-Smith et al., 1996; Snyder et al., 2000; Wang et al., 2001). Conduisant ainsi les investigations sur l'étude de la fertilité des hybrides et des générations de Backcross (Snyder et al., 2000) et la rétention des chromosomes A et B (Wang et al., 2000).

*Aegilops cylindrica* Host est une espèce tétraploïde ( $2n=4x=28$ , CC DD), (Kimber & Tsunewaki, 1988), issue d'un croisement entre deux espèces diploïdes *Ae. caudata* (CC) et *Ae. squarrosa* (DD). Elle porte en commun avec le blé tendre (*Triticum aestivum*) ( $2n=6x=AA\ BB\ DD$ , Kimber & Sears 1987) le génome D, ce qui permet aux deux espèces de se croiser et de donner des hybrides avec un taux de fertilité femelle (Zemetra et al., 1998).

Deux hybrides résistants à l'herbicide ont été découverts dans un champ de blé résistant à l'imazamox, produits par croisement interspécifique entre blé tendre et *Aegilops cylindrica* Host (Seefeldt et al., 1998).

Au champ, les plantes hybrides ont survécu à une application de 0.069 Kg/ha<sup>-1</sup>, elles ont produit sept (7) graines viables (BC<sub>1</sub>), six de ces sept plantes BC<sub>1</sub> se sont révélées résistantes à l'herbicide (Wang et *al.*, 2001), affirmant ainsi la fertilité femelle partielle des hybrides blé X *Aegilops cylindrica* Host et le potentiel de flux de gènes du blé vers *Aegilops cylindrica* Host dans les champs par backcross.

### **5- Le genre *Aegilops* : Un grand Intérêt pour l'amélioration du blé**

L'érosion de la diversité génétique des blés cultivés a conduit les études sur la possibilité d'introduction des espèces du genre *Aegilops* dans les programmes d'amélioration génétique du blé. Ces espèces représentent une grande diversité génétiques et sont donc une source potentielle pour de nombreux traits agronomiques tels que : la résistance aux maladies (tableau 03, 04), tolérance au stress abiotiques (tableau 05), qualité des protéines de réserve, etc (Zaharieva, 1996 ; Jauhar, 1993 ; Rodriguez-Quijano et *al.*, 2001).

Parmi ces espèces, *Aegilops geniculata* Roth est particulièrement intéressante comme source de résistance aux maladies et aux parasites (Gill et *al.*, 1985 ; Valkoun et *al.*, 1985 ; Dimov et *al.*, 1993). Certaines informations existent sur sa réponse à la sécheresse (Rekika et *al.*, 1998) et à la salinité (Farooq et *al.*, 1996), ce qui fait d'elle une source potentielle de gènes de résistance à ces stress.

Ainsi, une meilleure compréhension de son système d'adaptation permettra une meilleure utilisation dans les programmes d'amélioration du blé (Zaharieva et *al.*, 2001)

**Tableau 03 :** Les espèces du genre *Aegilops* considérées comme sources potentielles de résistances aux maladies. In : Zaharieva, (1996).

Maladies	Espèces	Génomes	Références
<b>Rouille brune</b> ( <i>Puccinia recondita</i> )	<i>Ae.speltoides</i>	<b>S</b>	Pasquini, 1980;
	<i>Ae.caudata</i>	<b>C</b>	Hammer,1985;
	<i>Ae.tauschii</i>	<b>D</b>	Gill et al., 1985;
	<i>Ae.comosa</i>	<b>M</b>	Valkoun et al., 1985;
	<i>Ae.umbellulata</i>	<b>U</b>	Dhaliwal et al., 1986, 1993;
	<i>Ae.geniculata</i>	<b>MU</b>	Holubec et al., 1992, 1993;
	<i>Ae.neglata</i>	<b>UM</b>	
	<i>Ae.biuncialis</i>	<b>UM</b>	
	<i>Ae.triuncialis</i>	<b>UC</b>	
	<i>Ae.peregrina</i>	<b>SU</b>	
<b>Rouille noire</b> ( <i>Puccinia graminis</i> )	<i>Ae.speltoides</i>	<b>S</b>	Pasquini, 1980;
	<i>Ae.caudata</i>	<b>C</b>	Hammer, 1985 ;
	<i>Ae.tauschii</i>	<b>D</b>	Holubec et al., 1992, 1993.
	<i>Ae.geniculata</i>	<b>MU</b>	
	<i>Ae.neglata</i>	<b>UM</b>	
<b>Rouille jaune</b> ( <i>Puccinia striiformis</i> )	<i>Ae.caudata</i>	<b>C</b>	Valkoun et al., 1985;
	<i>Ae.comosa</i>	<b>M</b>	Dhaliwal et al.,1986;
	<i>Ae.umbellulata</i>	<b>U</b>	Mihova, 1988; Damania et
	<i>Ae.geniculata</i>	<b>MU</b>	Pectti,1990; holubec et al.,
	<i>Ae.neglata</i>	<b>UM</b>	1992, 1993; Mamluk
	<i>Ae.biuncialis</i>	<b>UM</b>	et Van slageren, 1994.
	<i>Ae.triuncialis</i>	<b>UC</b>	
<b>Oïdium</b> ( <i>Erisiphe graminis</i> )	<i>Ae.speltoides</i>	<b>S</b>	Bochev et Kounovsky, 1978;
	<i>Ae.tauschii</i>	<b>D</b>	Pasquini, 1980;
	<i>Ae.comosa</i>	<b>M</b>	Bennet, 1984;
	<i>Ae.umbellulata</i>	<b>U</b>	Hammer, 1985;
	<i>Ae.geniculata</i>	<b>MU</b>	Valkoun et al., 1985;
	<i>Ae.neglata</i>	<b>UM</b>	Dhaliwal et al., 1986, 1993;
	<i>Ae.biuncialis</i>	<b>UC</b>	Singh et al.,1988;
	<i>Ae.triuncialis</i>	<b>SU</b>	Holubec et al., 1992, 1993.
	<i>Ae.peregrina</i>	<b>SU</b>	
<b>Piétin-vers (Cercoporella herpotricoides)</b>	<i>Ae.ventricosa</i>	<b>DN</b>	Scott et al., 1976;
	<i>Ae.tauschii</i>	<b>D</b>	Dosba et al., 1982.
<b>Carrie (<i>Tilletia indica</i>)</b>	<i>Ae.tauschii</i>	<b>D</b>	Dhaliwal et al., 1986, 1993;
	<i>Ae.caudata</i>	<b>C</b>	Waham et al., 1986;
	<i>Ae.speltoides</i>	<b>S</b>	Pannu et al., 1994.
<b>Fusariose</b> ( <i>Fusarium culmorum</i> )	<i>Ae.tauschii</i>	<b>S</b>	Saur,1991
	<i>Ae.cylindrica</i>	<b>CD</b>	
<b>Septoriose</b> ( <i>Septori nodorum</i> )	<i>Ae.tauschii</i>	<b>D</b>	Jahier et trottet, 1980;
	<i>Ae.speltoides</i>	<b>S</b>	Hammer, 1985; Mamluk
	<i>Ae.cylindrica</i>	<b>CD</b>	& Van slageren, 1994.



**Tableau 04 :** Liste des espèces d'*Aegilops* considérées comme sources potentielles de résistance aux Parasites. In : Zaharieva, (1996).

Parasites	Espèces	Génomes	Références
<b>Nématodes à Kystes</b> ( <i>Heterodora avenae</i> )	<i>Ae.comosa</i>	<b>M</b>	Rivoal, 1982 ;
	<i>Ae.umbellulata</i>	<b>U</b>	Dosba Rivoal et al., 1986 a ;
	<i>Ae.uniaristata</i>	<b>N</b>	Dosba et al., 1992.
	<i>Ae.ventricosa</i>	<b>DN</b>	
	<i>Ae.peregrine</i>	<b>SU</b>	
	<i>Ae.caudata</i>	<b>C</b>	
	<i>Ae.triuncialis</i>	<b>CD</b>	
	<i>Ae.geniculata</i>	<b>UC</b> <b>MU</b>	
<b>Nématodes à galles</b> ( <i>Meloidogyne naasi</i> )	<i>Ae.umbellulata</i>	<b>U</b>	Dosba et al., 1982 ;
	<i>Ae.peregrina</i>	<b>SU</b>	Person- Dedyver & Jahier, 1985.
<b>Cécidomyie</b> ( <i>Mayetiola destructor</i> )	<i>Ae.tauschii</i>	<b>D</b>	Hatchett & Gill,1981 ;
	<i>Ae.cylindrica</i>	<b>CD</b>	Gill et al., 1985 ;
	<i>Ae.Ventricosa</i>	<b>DN</b>	Amri et al 1992.
	<i>Ae.geniculata</i>	<b>MU</b>	
<b>Punaise du blé</b> ( <i>Schizaphis graminium</i> )	<i>Ae.tauschii</i>	<b>D</b>	Joppa, 1980 ; Gill et al., 1985 ; Raupp et al.,1988.

Les recherches effectuées sur les génomes parentaux d'*Aegilops ventricosa* (le génome N d'*Aegilops uniaristata* et le génome D d'*Aegilops tauschii*) ont révélé des résistances aux différents stress biotiques : maladies et parasites et abiotiques : résistance à la sécheresse et au froid.

Ainsi parmi les caractères intéressants liés au génome D, nous citons :

- La résistance à la rouille des feuilles, surtout la rouille brune (*Puccinia recondita*) : plusieurs gènes sont responsables de cette résistance Lr 43 porté par le chromosome 7D (Hussein et al., 1997), Lr39 (Raupp et al., 2001 ; Dhaliwal et al., 1991).

- Harjit-Singh et *al.*, 1998. In Bouziane, 2003) ont remarqué que l'espèce *Ae.tauschii* recèle une diversité génétique impressionnante pour la résistance à la rouille des feuilles, par rapport aux autres espèces ayant les génomes C, U et M.
- La résistance à la mouche de Hesse, Cécidomyie (*Mayetiola destructor*) (Amri et *al.*, 1992).
- La résistance à la carie (*Tilletia indica*).
- La résistance à la punaise de blé (*Shizaphis graminum*).

Parmi les propriétés liées au génome N :

- La résistance au piétin verse (*Pseudocercoporella herpotricoides*) (Mena et *al.*, 1993)
- A la rouille brune (Dosba & Rivoal, 1982).
- Au nématodes à kyste (*Heterodora avenae*) (Rivoal et *al.*, 1986).

*Aegilops umbellulata* est la source:

- Le gène Lr9 responsable de la résistance à la rouille des feuilles qui a été transféré au blé par des traitements de radiations (Sears, 1956).
- De la résistance au mildiou, à la mouche de Hesse et à la punaise de blé (Gill et *al.*, 1985).

**Tableau 05** : Liste des espèces d'*Aegilops* considérées comme sources potentielles de résistance aux stress abiotiques. In : Zaharieva, (1996).

<b>Stress abiotiques</b>	<b>Espèces</b>	<b>Génomes</b>	<b>Références</b>
<b>Stress salin</b>	<i>Ae. tauschii</i>	<b>D</b>	Farook et al., 1989 ;
	<i>Ae. comosa</i>	<b>M</b>	Gorham 1990 ;
	<i>A. umbellulata</i>	<b>U</b>	Xu et al., 1993 ;
	<i>Ae. cylindrica</i>	<b>CD</b>	Farook, 1994
	<i>Ae. neglecta</i>	<b>UM</b>	
	<i>Ae. triuncialis</i>	<b>UC</b>	
	<i>Ae. Kotschyi</i>	<b>SU</b>	
	<i>Ae. crassa</i>	<b>DDM</b>	
	<i>Ae. juvenalis</i>	<b>DMU</b>	
	<i>Ae. vavilovii</i>	<b>DMS</b>	
<b>Froid</b>	<i>Ae. tauschii</i>	<b>D</b>	Barashkova, 1981 ;
	<i>A. umbellulata</i>	<b>U</b>	Limin & fowler, 1981 ;
	<i>Ae. cylindrica</i>	<b>CD</b>	Barashkova & vavilov,
	<i>Ae. neglecta</i>	<b>UM</b>	1991.
	<i>Ae. triuncialis</i>	<b>UC</b>	
<b>Déficit hydrique</b>	<i>Ae. tauschii</i>	<b>D</b>	Mayoral et al., 1981;
	<i>Ae. sharonensis</i>	<b>SI</b>	Shimshi et al., 1993;
	<i>Ae. longissima</i>	<b>SI</b>	Rekika et al., 1995.
	<i>Ae. Kotschyi</i>	<b>SU</b>	
	<i>Ae. geniculata</i>	<b>MU</b>	
	<i>Ae. triuncialis</i>	<b>UC</b>	

Par hybridation interspécifique ou intergénérique, plusieurs gènes ont pu être transférés depuis les espèces d'*Aegilops* au blé (tableau 06). L'exemple le plus illustrant est le transfert du gène Pch1, responsable de la résistance au piétin verse, d'*Aegilops ventricosa* au blé tendre. Pour réussir ce croisement *T. persicum* (2n=28, AABB) a été utilisé comme espèce pont. L'amphiploïde résultant (*Ae. ventricosa* x *T. persicum*, 2n=56, AABBDDNN) a été recroisé avec le blé tendre cv. Marne, ainsi des lignées résistantes au piétin verse, à 42 chromosomes ont pu être sélectionnées, elles étaient appelées VPM. Le cultivar Roazon comportant le Pch1 était le premier inscrit en 1978 (Jahier et al., 1998).

**Tableau 6 :** Transfert chez le blé de gènes de résistance aux maladies et aux parasites, issus de différentes espèces du genre *Aegilops*. In : Zaharieva, (1996).

<b>Maladies, parasites</b>	<b>Espèces</b>	<b>Gènes</b>	<b>Références</b>
<b>Rouille brune</b> ( <i>Puccinia recondita</i> )	<i>Ae.umbellulata</i>	Lr 9	Sears (1956 b)
	<i>Ae.speltoides</i>	Lr 28, Lr 35, Lr 36	Dvorak, (1977); McIntoch et al., (1988).
	<i>Ae.tauschii</i>	Lr 21, Lr 22, Lr 32, Lr 39, Lr 41	Kerber et Dyck, (1969); Kerber,(1970) ; Cox et Gill, (1992)
<b>Rouille noire</b> ( <i>Puccinia graminis</i> )	<i>Ae.speltoides</i>	Sr 32	McIntoch, 1988
	<i>Ae.comosa</i>	Sr 34	McIntoch et al.,(1982)
<b>Rouille jaune</b> ( <i>Puccinia striiformis</i> )	<i>Ae.comosa</i>	Yr8	Rilley et al., (1968)
<b>Oïdium</b> ( <i>Erysiphe graminis</i> )	<i>Ae.speltoides</i>	Pm12	Miller et al., (1988)
	<i>Ae.longissima</i>	Pm13	Ceoloni et al., (1988)
<b>Piétin verse</b> ( <i>Cercoporella herpochroides</i> )	<i>Ae.ventricosa</i>	Ph1	Maia (1967) ; Dosba et Doussinault (1973, 1977) ; Jahier et al., (1978) ; Doussinault et al.,( 1983 )
<b>Nématodes à kystes</b> ( <i>Heterodera avenae</i> )	<i>Ae.ventricosa</i>		Dosba et Rivoal (1981) ; Rivoal et al., (1986b)
<b>Nématode à galle</b> ( <i>Meloidogine naasi</i> )	<i>Ae.peregrina</i>	Mn1	Yu et al., (1990)
<b>Cécidomyie</b> ( <i>Mayetiola destructor</i> )	<i>Ae.tauschii</i>	H13, H22, H23, H24	Htchett et al.,(1981) ; Raupp et al., (1993)
<b>Punaise du blé</b> ( <i>Schizaphis graminim</i> )	<i>Ae.speltoides</i>	Gb5	Tyler et al., (1987)

## 6- Les croisements interspécifiques

L'hybridation interspécifique ouvre des perspectives nouvelles complémentaires des méthodes d'hybridation intraspécifique.

L'introduction de résistance aux maladies depuis les espèces apparentées est l'exemple le plus illustrant.

Elle permet aussi de créer des espèces entièrement nouvelles. L'obtention du triticales est l'exemple le plus célèbre de création d'une espèce végétale entièrement nouvelle par l'homme. Il est issu de croisement entre le blé et le seigle (*Secale cereale* L.) (Lukaszewski & Gustafson, 1987). Le blé apporte la précocité et la productivité, le seigle, la résistance à la verse et la vigueur végétative.

De nombreuses espèces cultivées sont des hybrides interspécifiques naturels, c'est le colza qui résulte du croisement du chou (*Brassica Oleracea* Dedyver) et de la navette (*Brassica compestris*) (Vilain, 1989).

Donc, les croisements interspécifiques sont un moyen efficace dans l'amélioration des plantes pour le transfert des gènes et la production d'haploïdes, en Biologie, ils sont intéressants pour l'étude des génomes, le comportement des chromosomes et les relations phylogéniques (Chandler et al., 1986 ; Andersan et al. ,1997) .

Les croisements interspécifiques sont une méthode importante dans la manipulation des génomes par l'introduction d'une seule variation aux cultures (Sharma, 1999).

Cependant, les croisements entre espèces différentes sont très difficiles. Des obstacles biologiques de différentes natures empêchent le libre échange de l'information génétique par les processus normaux de la ségrégation et la

recombinaison. Par exemple, se sont un décalage de la floraison, une impossibilité pour le gamète mâle de féconder le gamète femelle ou encore une incompatibilité entre les tissus de réserve de la graine (Albumen et l'embryon (Vilain, 1989).

Lorsque les espèces présentent une homologie génétique suffisante, les barrières génétiques peuvent parfois être surmontées à l'aide de différentes techniques.

Ainsi, l'utilisation de la technique de sauvetage d'embryon sur milieu synthétique aide l'embryon hybride à survivre.

Le sauvetage d'embryon après croisement interspécifique est parmi les techniques les plus utiles et les plus efficaces de la culture des cellules et tissus (Collins & Grosser, 1984 ; Bridgen, 1994).

Cette technique a ainsi permis d'étudier certains phénomènes dont l'observation est compliquée comme les facteurs induisant l'embryogenèse, la nutrition de l'embryon et de suivre les changements accompagnent le développement de l'embryon.

Une des applications de la culture *in Vitro* d'embryon est la production d'haploïdes.

L'haploïdisation en général est un outil puissant d'aide à la sélection traditionnelle. Outre la création rapide de lignées pures (De Buyser & Henry, 1986).

L'étude de l'appariement chromosomique des polyhaploïdes, contribuera à la compréhension de la nature de la polyploïdie, des relations intergénomiques et le control génétique de l'appariement chromosomique (Sears, 1976).\*

## 7- Les protéines de réserves

Les protéines de réserves ou protéines du gluten, jouent un rôle important dans la qualité technologique des blés dur et tendre. Se sont les gluténines et les gliadines (Ciaffi et *al.*, 1992).

Les gluténines représentent 30 à 40% des protéines totales et à peu près la moitié du gluten (Bietz & Huebner, 1980). Elles sont réduites en SDS-PAGE en sous unités de haut poids moléculaire (SG-HPM) et sous unités de faible poids moléculaire (Bietz et *al.*, 1977 ; Payne & Coperfield, 1979).

Les SG-HPM sont contrôlées par des gènes localisés sur les bras long des chromosomes 1A, 1B, 1D. Les loci sont nommés Glu-1 (Ciaffi et *al.*, 1992).

Ce locus comporte deux gènes étroitement liés ; le Glu-1-1 qui code pour une sous unité de type x et le Glu-1-2 qui code pour une sous unité de type y (Rodriguez-Quijano et *al.*, 2001). Les gènes, codant pour les SG-FPM, sont localisés sur les bras courts et les loci sont désignés par Glu-3 (Lawrence & Shepherd, 1981).

Les gliadines sont codés par les gènes localisés sur les bras courts des chromosomes homéologues 1 et 6, les loci sont désignés respectivement par, Gli-1 et Gli-2. Le locus Gli-1 correspond à une famille de gènes très liés, qui codes pour les trois types de protéines distinctes : oméga, gamma gliadines et les SG-FPM (Sinhg & Shepherd, 1988). Selon la mobilité électrophorétique les gliadines sont classés en alpha, béta, gamma et oméga gliadines (Woychik et *al.*, 1961 In : Ammiour, 1994).

L'appréciation de la diversité génétique, par l'étude du polymorphisme des protéines ou de l'ADN du genre *Aegilops*, était plus importante pour les espèces diploïdes (Fernandez-Calvin & Orellana, 1990). Ces mêmes auteurs, ont étudié le polymorphisme des SG-HPM des espèces de la section *Sitopsis*. Ils ont

conclus qu'*Ae.speltoides* Tausch est probablement le donneur du génome B des blés. (Rodriguez-Quijano et al., 2001), ont analysé le polymorphisme des SG-HPM des espèces *Ae.umbellulata* Zhuk., *Ae.comosa* Sibth. & Sm. Et *Ae.markgrafii* Greuter L. et ont identifié de nouveaux allèles qui peuvent être utilisés dans l'amélioration de la qualité du blé.

Sun et al., (2006), ont identifié 2 SG-HPM (x et y) de plusieurs accessions d'*Ae.searsii* Feld. & Kis. qui ressemblent à celles des blés codées par le Glu-1. (De Bustos & Jouve 2006) ont répertorié de nouveaux allèles pour les SG-HPM de trois espèces diploïdes ; *Ae.comosa*, *Ae.uniaristata* Vis. et *Ae.speltoides*. Ils ont annoncé que les sous unités x et y sont hétérogènes entre les espèces, elles permettent de différencier le rye du blé et d'*Aegilops* (In : Bandou et al., 2009).

En Algérie, peu de travaux se sont intéressés à la caractérisation génétique des espèces du genre *Aegilops*. Hamdi et al., (2007) ont étudié la diversité des gluténines de quelques espèces diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes du genre *Aegilops*. (Bandou et al.,2009) ont apprécié la variabilité morphologique et génétique d'accessions Algériennes d'*Ae.geniculata*.



## 1-Matériel végétal

Pour réaliser nos croisements, nous avons choisi quatre variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) comme parent mâle : Vitron, Oued Zenati, Waha et Montpellier. Croisées avec 3 espèces du genre *Aegilops* : *Aegilops Genuiculata* Roth, *Aegilops triuncialis* et *Aegilops ventricosa*. Le matériel végétal nous a été fourni par l'ITGC d 'El Khroub (Institut Technique des Grandes Cultures), à l'exception de l'espèce *Aegilops ventricosa* qui provient d'une collection de l'ICARDA.

Le tableau 07 rassemble les caractéristiques ainsi que l'origine et le pedigree des quatre variétés de blé dur, (pour les espèces d'*Aegilops* revoir le paragraphe3 dans le chapitre synthèse bibliographique).

- **Position systématique du genre *Aegilops***

<b>Embranchement :</b>	<i>Spermaphytes.</i>
<b>Sous-embranchement :</b>	<i>Angiospermes.</i>
<b>Classe :</b>	<i>Monocotylédones.</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Glumiflorales.</i>
<b>Famille :</b>	<i>Poaceae.</i>
<b>Tribu :</b>	<i>Triticeae.</i>
<b>Sous-tribu :</b>	<i>Triticineae.</i>
<b>Genre :</b>	<i>Aegilops</i> L.

**Tableau 07 : Origine et Caractéristiques des variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) utilisées dans les croisements (anonyme, 1996).**

Variétés	Caractéristiques	Origine, Pedigree
<b>Waha</b>	<p>Elle présente un épi demi-lâche à compact, roussâtre, la paille est courte et demie pleine.                      Le grain est moyen, clair ambré à roux. Le PMG est moyen.                      C'est une variété précoce, le tallage est moyen à fort avec une très bonne productivité.                      Elle est modérément tolérante aux rouilles, à la fusariose et à la septoriose, sensible au piétin-échaudage. Tolérante au froid, sensible à la sécheresse et aux gelées printanières.                      Elle est adaptée aux hauts plateaux et aux plaines antérieures.</p>	<p>ICARDA sélection ITGC/Sétif                      PLC/Ruff/Gta "S"                      3/Rolette Cm.17904</p>
<b>Oued Zenati 368</b>	<p>Adapté aux plaines antérieurs, son épi est blanc, compact à barbes noirs et longues, sa paille est haute et pleine, le grain est ambré, gros et peu allongé, le PMG est élevé.                      C'est une variété tardive dont le tallage est moyen, tolérante à la septoriose sensible aux rouilles brunes et jaunes et à la fusariose.</p>	<p>Station de Guelma 1936.                      Sélection dans la population locale.</p>
<b>Vitron (Hoggar)</b>	<p>C'est une variété dont l'épi est demi-lâche et blanc.                      Le grain moyen est roux, le PMG est élevé-La paille ainsi que le tallage sont moyen.                      Elle est peu sensible à l'helminthosporiose et moyennement tolérante aux rouilles, tolérantes à la verse. Elle est adaptée aux Hauts Plateaux et les zones Sahariennes.</p>	<p>Introduite d'Espagne, Sélection ITGC/Tiaret, 1986.</p>
<b>Montpellier (Bibans)</b>	<p>L'épi de cette variété est blanc et compact, la paille est moyenne, pleine .le grain est ambré à roux avec un PMG moyen. C'est une variété semi-tardive avec un tallage moyen.                      Elle est sensible à la rouille brune et noire, à la fusariose et à la septoriose, assez tolérante à la rouille jaune. Elle est adaptée au littoral et les plaines antérieurs.</p>	<p>Selection effectuée sur une population F<sub>6</sub> introduite de France. Montpellier 1965</p>

## **2- Conduite de l'essai**

### **2-1 Dispositif expérimental**

#### **2-1-1 Pré-germination**

Les graines des deux parents ont été stérilisées dans l'eau de Javel pendant 10 mn, puis dans l'alcool à 70% pendant 10 secondes, avec 3 rinçages successifs. Les graines sont ensuite disposées dans des boîtes de Pétri et mises à l'obscurité pendant 72h. Après la sortie des racines et du coléoptile, elles sont transférées dans des pots qui contiennent un mélange de 3 volumes de terre et un volume de sable.

L'étape de pré-germination est nécessaire pour éviter les pourritures des graines et augmenter ainsi le nombre de plantes pour l'essai.

#### **2-1-2 Installation de l'essai**

Les graines ont été préalablement semées sur différentes dates (3). Pour les *Aegilops* (Parent femelle) : le 03 – 12 et le 24 Février et une seule date de semis pour les variétés de blé (Parent mâle) (le 03 Février), afin de synchroniser la floraison des 2 parents.

## **2-2 Les étapes du croisement**

### **2-2-a l'émascation des épis d'*Aegilops***

Elle consiste à enlever les étamines de la fleur. Pour le blé, les épis à castrer sont ceux qui viennent juste de sortir de la graine (anonyme, 2006), c'est aussi le cas des épis d'*Aegilops*, à l'exception de l'espèce *Aegilops ventricosa* qui à ce stade présente déjà des étamines jaunes et donc des fleurs autofécondées, ce qui nous a amené à ouvrir la gaine et manipuler délicatement les épis.

On coupe à environ  $\frac{3}{4}$  de l'épillet (le haut), afin de ne pas toucher les stigmates et les anthères (fig. 04-a). A l'aide d'une pince effilée, on enlève les 3 étamines soigneusement pour ne pas libérer le pollen et polliniser ainsi les fleurs (fig. 04-b).

L'épi est recouvert d'un sachet en papier sulfurisé, attaché soigneusement à l'épi, sur le sachet la date de castration et l'espèce sont mentionnées.

A noter que dans notre cas (*Aegilops* parent femelle), nous n'avons pas enlevé les fleurs centrales de l'épi, cela est dû au nombre réduit des épis par rapport au blé, surtout pour l'espèce *Aegilops geniculata* Roth où l'épi contient de 3 à 5 épillets seulement.

### **2-2-b La pollinisation**

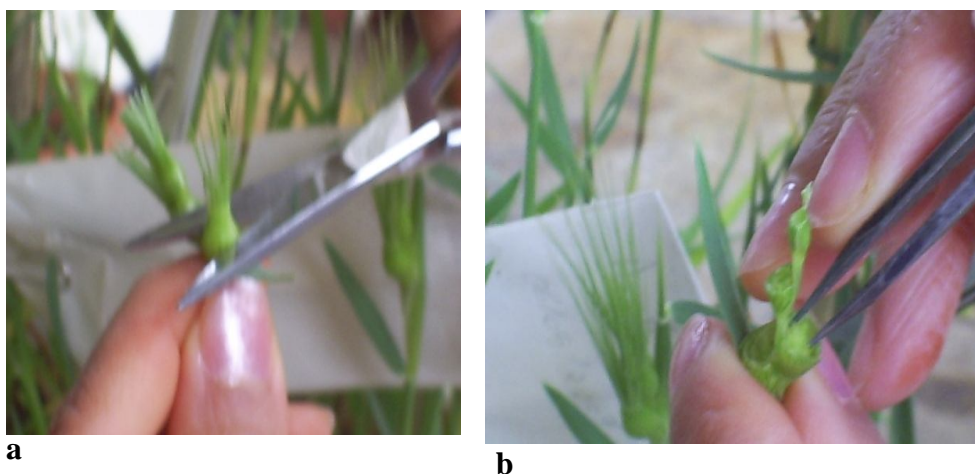
Le pollen est récupéré sur les épis du blé dur. La collecte du pollen s'effectue par la coupure des épillets au niveau des anthères, généralement à partir de 10h où le soleil et la chaleur favorisent la sortie des étamines.

De Vries (1971), rapporte que dans les conditions où la température est ambiante et l'humidité du sol et celle de l'atmosphère est élevée, la déhiscence des anthères est accélérée.

Le pollen est récupéré dans une boîte à l'aide d'un pinceau, il est introduit sur les stigmates des fleurs castrées (fig. 05).

En général, les fleurs sont pollinisées 2 jours après leur castration, selon la disponibilité en pollen.

Les stigmates sont réceptifs lorsqu'ils deviennent plumeux et les fleurs béantes (anonyme, 2006).



**Figure 04:** Les étapes de la castration: **a.** Raccourcissement des épis.  
**b.** Enlèvement des étamines



**Figure 05 :** La pollinisation  
d'un épi castré d'*Aegilops*  
*triuncialis*

Dans la littérature, il est indiqué que les stigmates sont réceptifs de 2 jours (Khan et *al.*, 1973) à 13 jours après l'anthèse, ils sont plus réceptifs de 2 à 5 jours (Rajki & Rajki, 1966 ; De Vries, 1971). Cette variation est due à l'influence des conditions climatiques durant la floraison (Waines & Hegde, 2003).

La pollinisation est une étape sensible, car la manipulation et la qualité du pollen sont cruciales. En effet, le pollen peut retenir sa viabilité environ 30mn, sous les conditions optimales (20°C, 60% d'humidité relative) (D'Souza, 1970 ; De Vries, 1971).

A la réalisation des croisements, nous avons rencontré un problème, par rapport aux chaumes dressées et vigoureux des blés, ceux des *Aegilops* ne supportaient pas le poids des sachets, nous avons utilisé des supports et nous avons rassemblé les épis pollinisés par le même parent mâle, dans un seul sachet, pour éviter les cassures des tiges (fig. 06).

### **2-3 Le traitement hormonale**

L'application des régulateurs de croissance, au cours des croisements interspécifiques est bien connue. Ils aident à surmonter les barrières d'incompatibilités entre les espèces et d'augmenter ainsi le nombre d'embryons formés.

Kellou (2003) indique que l'application du 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique) à 100ppm 24h avant la pollinisation et du GA3 (acide gibbérellique) à 75 ppm 8 h et 32h après pollinisation est le plus efficace, par le nombre de nouaison, d'embryons formés et de plantes vertes régénérées. Nous avons appliqué le 2,4-D 24h avant la pollinisation dans la cavité du dernier entre-nœud (fig. 07-a). Quand au GA3 une goutte est déposée sur chaque fleur, 8h après pollinisation (fig. 07-b).



**Figure 06:** Supports pour les tiges des espèces d'*Aegilops*



**a**



**b**

**Figure 07:** Application des hormones de croissance :  
**a.** Le 2,4-D . **b.** Le GA3

### **3- La culture *in Vitro***

La culture *in vitro* est l'ensemble de techniques qui permettent la culture, sous des conditions contrôlées de température, de lumière et d'humidité, de cellules ou de tissus sur un milieu artificiel exigeant une asepsie totale.

L'obstacle majeur d'introgession de gènes à partir des espèces sauvages, est l'avortement des embryons hybrides, après croisement interspécifique ou intergénérique. La technique de sauvetage d'embryons immatures *in vitro* a permis de pallier à ce problème et d'obtenir une descendance viable (Sharma & Gill, 1983).

#### **3-1 le milieu de culture**

Dans notre étude, la culture d'embryons immatures est réalisée sur le milieu de culture B<sub>5</sub> (milieu de Gamborg) solidifié, additionné de Kinétine (0.25 mg /l), de l'AIB (Acide Indole Butyrique) (1mg/l) et de quelques acides aminés. Le milieu de culture B<sub>5</sub> modifié est le plus utilisé dans la culture d'embryons immatures et la production de plantules (Jensen, 1977 ; Pickering, 1979 ; Ourly et *al.*, 1993).

La composition chimique ainsi que les concentrations des divers éléments utilisés sont indiquées dans le tableau 08.

Les constituants essentiels d'un milieu de culture sont: l'eau, les sels minéraux (macroéléments, micro-éléments, fer), les éléments organiques (tels que les vitamines, sucre, parfois des acides aminés), les régulateurs de croissance (ou phytohormones). La gélose (appelée aussi agar-agar, extraite des algues marines) assure la solidification de cette solution aqueuse (anonyme, 1999).



**Tableau 08 :** Composition chimique du milieu de culture B<sub>5</sub>, utilisé comme milieu de culture des embryons immatures.

<b>Constituants</b>	<b>Concentration</b>	
	<b>mg/l</b>	<b>mM/l</b>
<b>Macro-éléments</b>		
<b>KNO<sub>3</sub></b>	2500	25
<b>CaCl<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O</b>	150	1
<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	250	1
<b>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	134	1
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O</b>	150	1.1
<b>Micro-éléments</b>	<b>mg/l</b>	<b>mM/l</b>
<b>KI</b>	0.75	4.5
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	3.0	48.6
<b>MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O</b>	10.0	59
<b>ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	2.0	7
<b>Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	0.25	1
<b>CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O</b>	0.025	0.1
<b>CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	0.025	0.1
<b>Na<sub>2</sub>EDTA</b>	37.3	100
<b>FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	27.8	100
<b>Vitamines</b>	<b>mg/l</b>	<b>mM/l</b>
<b>Méso-inositol</b>	100.0	1110
<b>Acide nicotinique</b>	1.0	8
<b>Thiamine HCL</b>	10.0	3
<b>Pyridoxine HCL</b>	1.0	4.8
<b>Acides aminés</b>	<b>mg/l</b>	<b>mM/l</b>
<b>L-asparagine</b>	10	66.60
<b>L-cysteine</b>	20	165.70
<b>L-alanine</b>	50	561.23
<b>L-leucine</b>	10	76.23
<b>L-tryptophane</b>	10	49.00
<b>Saccharose</b>	20g/L	
<b>Agar</b>	7.5g/l	
<b>Ph</b>	5.5	

Les besoins en quantité des micro-éléments (ou encore oligo-éléments), de certains vitamines et régulateurs de croissance, dans un milieu de culture sont infimes qu'il est impératif de les concentrer sous forme de solutions mères (tableau 09).

La durée de stockage de ces solutions mères est différente selon les constituants et leur stabilité en solution. Elle est de quelques mois au réfrigérateur (5°C) pour les sels minéraux, de quatre semaines pour les vitamines à 5°C et plus au congélateur et plusieurs semaines au congélateur et à l'obscurité pour les régulateurs de croissance Kinétine et AIB dont la solubilisation passe d'abord par un solvant: NaOH (1N), éthanol ou méthanol (96°) pour l'AIB et NaOH ou HCl pour la Kinétine (Anonyme, 1999).

La gélose est ajoutée en dernier, quand la solution du milieu de culture atteint le degré d'ébullition, cela assure sa bonne incorporation au milieu de culture.

### **3-2 La stérilisation**

Une des conditions les plus nécessaires à la réussite d'une culture in vitro, après le choix idéal d'un milieu de culture est l'aseptisation. Ainsi la stérilisation du milieu de culture, des instruments de manipulations, de l'eau distillée de rinçage et du matériel végétal est obligatoire.

Pour le matériel technique: boîtes de Petri, pince, une stérilisation à l'étuve pendant 30 minutes à une température de 190°C est suffisante.

Le milieu de culture et l'eau distillée sont stérilisés dans l'autoclave sous pression (1 bar) à une température de 121°C, pendant 20 minutes.

**Tableau 09** : Composition des solutions mères du milieu de culture B<sub>5</sub>

Constituants	Solutions mères	Concentration finale	Volume à ajouter (ml/l)
<b>Macro-éléments 10x</b>			
<b>KNO<sub>3</sub></b>	25	2500	<b>100 ml</b> de la solution des macro-éléments pour préparer <b>1 l</b> de milieu de culture
<b>CaCL<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O</b>	1.5	150	
<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	2.5	250	
<b>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	1.34	134	
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O</b>	1.5	150	
<b>Micro-éléments 100x</b>			
<b>KI</b>	0.075	0.75	<b>10 ml</b> de la solution mère des micro-éléments pour préparer <b>1 l</b> de milieu de culture.
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	0.3	3.0	
<b>MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O</b>	1.0	10.0	
<b>ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	0.2	2.0	
<b>Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	0.025	0.25	
<b>CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O</b>	0.0025	0.025	
<b>CoCL<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	0.00125	0.025	
<b>Fer 10x</b>			
<b>Na<sub>2</sub>EDTA</b>	0.373	37.3	<b>100 ml</b> de la solution mère de Fe-EDTA pour préparer <b>1 l</b> de milieu de culture.
<b>FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	0.278	27.8	
<b>Vitamines 10x</b>		g/100ml	
<b>Acide nicotinique</b>	0.01	1.0	<b>10 ml</b> de la solution mère des vitamines pour préparer <b>1 l</b> de milieu de culture.
<b>Thiamine HCL</b>	0.1	10.0	
<b>Pyridoxine HCL</b>	0.01	1.0	
<b>Acides aminés 10x</b>		g/100ml	
<b>L-asparagine</b>	0.1	10	<b>10 ml</b> de la solution mère des acides aminés pour préparer <b>1 l</b> de milieu de culture.
<b>L-cysteine</b>	0.2	20	
<b>L-alanine</b>	0.5	50	
<b>L-leucine</b>	0.1	10	
<b>L-tryptophane</b>	0.1	10	
<b>Sucres</b>			
<b>Méso-inositol</b>	.....	100	.....
<b>Saccharose</b>	.....	20000	.....
<b>Agar</b>	.....	7500	.....

Seule une température aussi élevée permettra la destruction de bactéries résistantes. Une seule bactérie présente dans un tube de culture donnera naissance en moins d'une ou deux semaines à une colonie de bactéries visibles à l'œil nu. La qualité nutritive des milieux de culture permet un essor rapide de la croissance des micro-organismes qui entre en compétition avec la croissance des végétaux (Anonyme, 1999).

### **3-3 La technique de sauvetage d'embryons**

#### **3-3-1 Prélèvement des caryopses**

Nous avons commencé à prélever les caryopses entre le 14<sup>ème</sup> et 16<sup>ème</sup> jour après pollinisation. Bien que dans la pratique, le stade optimum de la récolte des caryopses est de 13 à 15 jours après pollinisation à 23°C et de 18 à 21 jours à une température de 18°C (Jensen, 1977; Yu & Jahier, 1992; Chen et al., 1992).

Les épis qui contiennent des graines sont coupés. Dans une chambre de culture les graines sont placées dans des boîtes de Petri et désinfectées par une solution diluée d'eau de Javel pendant 10 minutes, transférées ensuite dans l'alcool à 70° pendant 10 secondes et rincées 3 fois à l'eau distillée stérile.

#### **3-3-2 Dissection des caryopses et mise en culture des embryons**

La loupe binoculaire utilisée est nettoyée à l'alcool à 70°, séchée, elle est placée entre 2 flammes de bec bunsen, sous une hotte à flux laminaire dont les parois sont préalablement nettoyés. La graine est placée dans une boîte de Pétri stérile, la dissection se fait sous la loupe, la pince maintient la graine et à l'aide d'un scalpel tranchant stérile on pratique une incision dans le tégument, sur la partie dorsale. L'embryon se trouve suspendu dans le liquide qui sort de la graine. L'embryon est prélevé soigneusement au bout du scalpel et est déposé avec précaution sur le milieu de culture coulé dans des boîtes de Pétri stériles, de sorte que le scutellum soit en contact avec le milieu de culture.

Les boîtes de Pétri sont ensuite scellées avec du parafilm, elles sont placées dans une chambre de culture à l'obscurité, à une température de  $(25 \pm 2) ^\circ \text{C}$ .

Après la germination, les embryons sont transférés dans des tubes en verre de 75mm de long et 25 mm de diamètre, contenant environ 8ml du même milieu de culture, pour permettre un bon développement des plantules avec une photopériode de 16h/ jour, la lumière est assurée par des tubes fluorescents.

#### **4- Transfert des plantules dans le sol**

Le but de cette étape est d'adapter progressivement les vitroplants aux conditions qui prévalent dans la serre ou à l'extérieur (anonyme, 1999).

Après un bon développement des racines et des feuilles, les plantules sont transférées sur des petits pots contenant un mélange stérile de sol et de sable, ces pots sont placés sous un dessiccateur qui assurera une saturation en humidité relative, il contient de l'eau au dessous des pots portés par un support et il est fermé par un couvercle.

## **5- L'Électrophorèse**

- **Matériel végétal**

Afin de caractériser et de comparer les génomes des hybrides dans les deux sens du croisement blé dur x *Aegilops*, une étude électrophorétique est portée sur : les parents (*Ae.geniculata*, *Ae.Triuncialis*, Oued Zenati, Vitron), les hybrides *Aegilops* x blé dur obtenus dans cette étude (*Ae.geniculata*/Vitron ; *Ae.triuncialis*/Oued Zenati) et les hybrides Oued Zenati/*Ae. geniculata* (obtenus par Kellou, 2003) (tableau 10).

### **5-1 Principe des techniques électrophorétiques**

L'électrophorèse est une technique biochimique qui consiste à fractionner des molécules biologiques (protéines, acides nucléiques), sous l'effet d'un courant électrique, selon leur mobilité différentielle.

### **5-2 Electrophorèse en présence de Sodium Dodécyl-Sulfate (SDS-PAGE)**

La technique SDS-PAGE est basée sur le fractionnement des protéines selon leur mobilité, en leur conférant une charge homogène par l'ajout d'un détergent le SDS qui charge négativement les protéines. Cette technique est décrite la première fois par (Laemmli, 1970).

**Tableau 10 :** Présentation du matériel végétal caractérisé par l'électrophorèse SDS-PAGE.

Matériel végétal		Informations
Les parents	<i>Ae.geniculata</i> <i>Ae.triuncialis</i>	Espèces tétraploides du genre <i>Aegilops</i>
	Oued Zenati Vitron	Variétés de blé dur ( <i>Triticum durum</i> Desf)
Hybrides <i>Aegilops</i> /blé dur	Hybride <i>Ae.geniculata</i> /Vitron  Hybride <i>Ae.triuncialis</i> /O.Z	Génération F1, issue des croisements de cette étude.
Hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i>	Hybrides O.Z/ <i>Ae.geniculata</i> : Hybride 1019 Hybride 1011 Hybride 1012 Hybride 1013 Hybride 1021 Hybride 1022 Hybride 1023 Hybride 1031 Hybride 1033 Hybride 1034 Hybride 1811 Hybride 1813 Hybride 1814 Hybride 1815 Hybride 1816 Hybride 1817 Hybride 1818 Hybride 1821 Hybride 1822 Hybride 1823	Génération F3, obtenue par Kellou, 2003.

\* La désignation des hybrides O.Z/*Ae.geniculata* par des chiffres correspond à leur récolte en épi ; les graines de chaque épi sont récoltés et semés séparément. 10 : désigne les graines dont les épis sont de couleur blanche. 18 : les graines qui donnent des épis de couleur noire. 1, 2 : graines des descendants de la F<sub>2</sub> de l'épi 1 ou 2. 1 à 9 : graines de la F<sub>3</sub> récoltées de l'épi 1, 2,....9.

### **5-2-1 Extraction des gluténines**

La technique de (Singh et *al.*, 1991) est une technique de séparation séquentielle des protéines, en fonction de leur solubilité dans 3 solutions de bases (tableau 11). Elle permet une meilleure séparation des sous unités gluténines de Haut poids moléculaire (HPM) et de faible poids moléculaire (FPM).

Le matériel de départ est la farine d'un demi grain, broyé dans un mortier. Le surnagent éliminé après introduction d'1ml de solution A (fig.08), est récupéré dans un autre eppendorff, servant ainsi pour l'extraction des gliadines. En effet la solution A permet le lessivage des gliadines, d'où son utilisation à trois reprise, à fin d'éliminer au maximum les gliadines et d'éviter ainsi la contamination des gluténines par celles-ci.

A cette étape le culot ne contient que des gluténines, pour leur extraction on utilise deux solutions, chacune à base de la solution B. La solution B1 contient le DTT (Dithiotreitol), qui permet la réduction des gluténines. L'avant dernière étape consiste à ajouter 0.1 ml de solution B2, elle contient le 4 4-vinylpyridine, son rôle est l'alkylation des protéines.

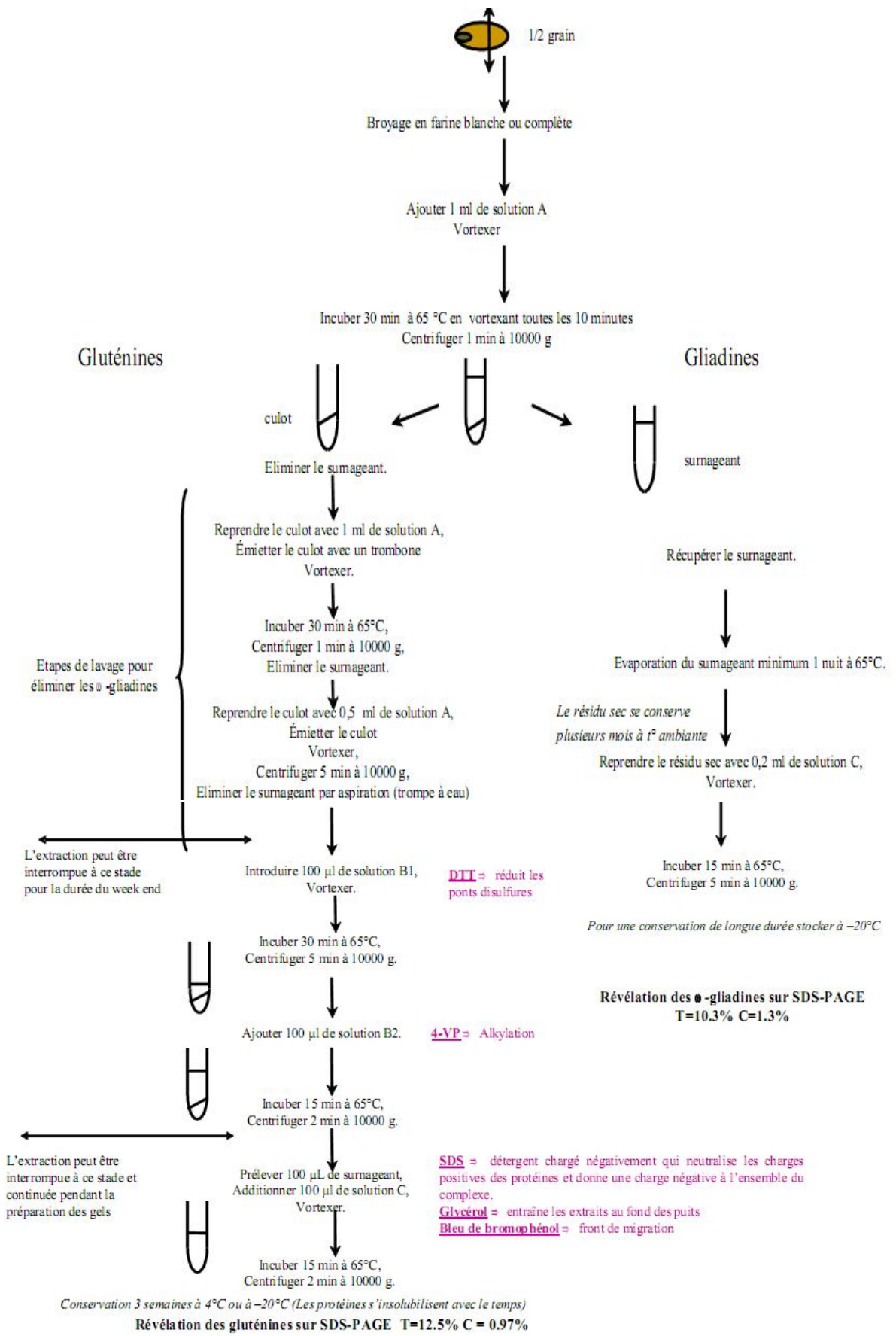
La dernière étape consiste à introduire la solution C, contenant du SDS qui chargera les protéines négativement et permettra ainsi leur séparation selon leurs poids moléculaires.

Après l'évaporation du surnagent contenant les gliadines, le culot est repris avec la même solution C.



**Tableau 11:** Solutions d'extraction des gluténines.

<b>Solution A</b>		
	Propanol-1	75 ml
	Eau distillée	q.s.p 150 ml
<b>Solution B</b>	(conservation environ 2 semaines, à 4°C°)	
	Propanol-1	10 ml
	Tris HCl 1M pH 8	1.6 ml
	Eau distillée	q.s.p 20 ml
<b>Solution B1</b>	(à préparer ex temporairement)	
	Solution B	7 ml
	Dithiotreitol (DDT)	70 ml
<b>Solutions B2</b>	(à préparer ex temporairement)	
	Solution B	7ml
	4-vinyl-pyridine	98 µl
<b>Solution C</b>	(conservation environ 2 semaines, à 4°C°)	
	SDS	<b>0.2 g</b>
	Glycérol	4 ml
	Bleu de bromophénol	2 ml
	Tris HCl 1M pH 8	0.8 ml
	Eau distillée	q.s.p 10 ml



**Figure 08 : Extraction des gluténines selon la méthode de Singh et al., 1991.**

### **5-3 La séparation des protéines par SDS-PAGE**

La séparation des gluténines est réalisée par une électrophorèse monodimensionnelle sur gel de polyacrylamide en présence de SDS (SDS-PAGE) suivant la méthode de (Laemmli, 1970) modifié par (Singh et *al.*, 1991).

#### **5-3-1 Préparation des gels**

La séparation par la technique SDS-PAGE nécessite la préparation de deux types de gels : un gel de séparation et un gel de concentration. Le gel de séparation permet le fractionnement des protéines selon leurs poids moléculaires, alors que le gel de concentration permet de stocker des impuretés et de tasser les protéines, avant leur entrée dans le gel de séparation. Tout d'abord les cassettes sont nettoyées à l'éthanol et placées l'une contre l'autre, tout en les séparant par deux espaceurs de largeur choisie, puis elles sont montées.

##### **a- Le gel de séparation (running gel)**

Ce gel est à T= 12.8% et C= 0.97 ses dimensions sont de 180 x 160 x 15mm. Il est constitué d'Acrylamide à 35% (p/v), de N-N Méthylène-Bis acrylamide à 2% (p/v) de Tris HCL à pH= 8.8 de SDS à 10% (p/v) et d'eau distillée la polymérisation de ces constituants est catalysée par l'Ammonium Persulfate (APS) à 1% (p/v) et le TEMED (tableau 12), qui sont ajoutés en derniers. Ce gel est coulé doucement entre les cassettes afin d'éviter la formation de bulles, à un niveau limité sur la plaque (on laisse 4 cm de l'encoche), le volume restant sera occupé par le gel de concentration.

**Tableau 12 :** Constituants des gels de séparation et de concentration.

<b>Gel de séparation (running gel)</b>	<b>(Pour deux gels)</b>
Acrylamide à 35%	35 ml
Bisacrylamide à 2%	6 ml
Eau distillée	16.6 ml
Tris HCl ph 8.8	37.6 ml
SDS à 10 %	1ml
APS à 1%	2.5 ml
Temed	50 $\mu$ l
<b>Gel de concentration (Stacking gel)</b>	
Acrylamide à 35%	3.42 ml
Bisacrylamide à 2%	0.86 ml
Eau distillée	30.4 ml
Tris HCl ph 6.8	5 ml
SDS à 10 %	0.4 ml
APS à 1%	2 ml
Temed	40 $\mu$ l

A l'aide d'une seringue, on applique une couche de Butanol, afin d'égaliser sa surface et faire une barrière contre l'air pour accélérer la polymérisation qui prendra 30 à 45min. Le Butanol est ensuite rincé 3 fois à l'eau distillée.

#### **b- Le gel de concentration (Stacking gel)**

Les dimensions sont de 180 x 40 x 15 mm. Il est à T= 12.8% et C= 1.4%. Ses constituants sont ceux du gel de séparation avec une différence au niveau du Tris HCL qui a un pH de 6.8 (tableau 12). Il est coulé au dessus du gel de séparation, on pose les peignes (nettoyés au paravent à l'éthanol) délicatement pour ne pas faire de bulles, bien au centre des cassettes. Le gel prend en l'espace de 20 à 40 min, après les peignes sont retirés soigneusement pour ne pas détruire les puis fermes, on verse le tampon dans les puits et on fait les dépôts.

#### **5-3-2 Le tampon d'électrophorèse**

Il contient de la Glycine à 1.41% (p/v), de Tris à 0.3% (p/v) et de SDS à 0.1% (p/v).

#### **5-3-3 La migration**

On procède au dépôt de 12 µl de différents échantillons au différents puits, le bac supérieur qui porte les 2 plaques est rempli de tampon à un niveau dépassant les gels : on laisse 2 à 3 min pour vérifier l'étanchéité (les joints doivent être bien serrés) et on le place dans la cuve d'électrophorèse ou bac inférieur, rempli au paravent de la solution tampon de façon à ce que les faces inférieures des gels soient immergés. On ferme la cuve et on branche le générateur qui lui est relié, fournissant le courant électrique. La migration démarre à une intensité constante de 80mA/gel.

### **5-3-4 La coloration des gels**

On prépare une solution de coloration qui contient un fixateur de protéines le TCA (acide trichloroacétique) à 60% et un colorant, le bleu de Coomassie R250 et de l'eau distillée.

Dès la sortie du front de migration, on arrête la migration, les gels sont démoulés soigneusement et placés dans des bacs en plastiques et recouverts de solution de coloration. On les place sur l'agitateur pendant 24 heures puis les gels sont décolorés dans l'eau et sont prêts à la lecture.

La préparation des solutions utilisées dans la technique de l'électrophorèse en présence de SDS est représentée dans l'annexe I.

### **6- L'étude statistique**

La signification statistique des résultats obtenus dans cette étude est testée par le test  $\chi^2$  d'indépendance à l'aide du logiciel STAT-ITCF (Institut Technique des Céréales et des Fourrages, 1991, France) Version 5, le test est réalisé sur les paramètres transformés en  $\arcsin \sqrt{x}$ , afin de normaliser la fréquence de la distribution, pour déterminer la relation entre les paramètres étudiés et le nombre d'embryons issus des différents croisements.

Le système d'imagerie Dig Doc print II, nous a permis de prendre des photos des gels obtenus par la technique d'électrophorèse (SDS-PAGE).

Le calcul des poids moléculaires, afin d'interpréter les résultats de l'électrophorèse en présence de SDS, est réalisé avec le logiciel Photo-capt 1D. Nous avons pu ainsi caractériser les parents et les descendances hybrides.

Le logiciel de STATISTICA (version 6 Français), nous a permis la réalisation de dendrogrammes pour l'établissement du degré de parenté des hybrides.

Les photos des embryons immatures transférés sur milieu de culture B<sub>5</sub> ont été prises avec le binoculaire Motic avec Appareil de photo Minolta (grossissement x2).

## Présentation des Résultats

Cette étude s'inscrit dans le cadre de l'amélioration du blé par l'introggression de gènes d'intérêt provenant des espèces apparentées, c'est ainsi que le premier pas dans ce programme, consiste à obtenir des embryons interspécifiques. Le croisement entre deux genres apparentés *Aegilops* et *Triticum*, où les espèces *Aegilops geniculata* Roth, *Aegilops triuncialis* L. et *Aegilops ventricosa* Tausch. Ont été croisées avec 4 variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) (Montpellier, Waha, Vitron et Oued Zenati), nous a permis d'obtenir 7 embryons hybrides (tableau 13).

**Tableau 13** : Résultats obtenus par croisement, selon les paramètres étudiés.

	NEP	NEPIP	NFP	NEM
<b>Ae.gen/ Mont</b>	31	97	125	1
<b>Ae.gen/ Wa</b>	95	273	365	1
<b>Ae.gen/ O. Z</b>	28	89	104	0
<b>Ae.gen/ Vit</b>	44	128	156	2
<b>Ae.tri / Mont</b>	10	35	54	0
<b>Ae.tri / Wa</b>	70	288	414	2
<b>Ae.tri /O.z</b>	10	41	59	1
<b>Ae.tri/ Vit</b>	27	119	164	0
<b>Ae.ven / Vit</b>	8	52	88	0
<b>Total</b>	335	1162	1572	7

**NEP**: Nombre d'épis pollinisés. **NEPIP**: Nombre d'épillets pollinisés. **NFP**: Nombre de fleurs pollinisées. **NEM**: Nombre d'embryon. **Ae.gen**: *Aegilops geniculata*. **Ae.tri**: *Aegilops triuncialis*. **Ae.ven**: *Aegilops ventricosa*. **Mont**: Montpellier. **Wa**: Waha. **O.Z**: Oued Zenati. **Vit**: Vitron.

Un total de 335 épis d'*Aegilops* ont été pollinisés, dont 198 épis d'*Aegilops geniculata*, 117 d'*Aegilops triuncialis* et 8 d'*Aegilops ventricosa*.

Sur les 7 embryons formés, 2 (soit 28,57%) sont issus du croisement *Ae.geniculata*/ Vitron, soit le même taux (28, 57%) pour les hybrides *Aegilops triuncialis* / Waha.

Un embryon formé (soit 14, 28%) est enregistré pour les croisements: *Ae.geniculata*/Montpellier, *Ae.geniculata*/waha, *Ae.triuncialis*/Oued Zenati.

Pour les croisements cités là dessous, aucun embryon n'a été formé : *Ae.geniculata*/Oued Zenati, *Ae.Triuncialis*/Montpellier, *Ae.triuncialis*/Vitron, *Ae.ventricosa*/Vitron.

Nous n'avons pu réaliser de croisements entre *Aegilops ventricosa* et Waha, Montpellier et Oued Zenati. L'espèce semble tardive par rapport aux autres variétés et espèces.

## 1- Etude de l'influence des paramètres étudiés sur la formation d'hybrides

**Tableau 14:** Matrice de corrélation entre les différents paramètres étudiés

	<b>NEP</b>	<b>NEPIP</b>	<b>NFP</b>	<b>NEM</b>
<b>NEP</b>	1.00			
<b>NEPIP</b>	0,96	1.00		
<b>NFP</b>	0,93	0,99	1.00	
<b>NEM</b>	0,57	0,59	0,57	1.00
<b>NPV</b>	0,571	0,59	0,57	1.00

Le calcul des coefficients de corrélations entre les différents paramètres (tableau 14), montre qu'ils sont fortement liés. Il existe une corrélation



significative ( $r = 0,57$ ), entre les paramètres étudiés et le nombre d'hybrides formés.

Ce qui laisse penser que l'augmentation de nombre de fleurs pollinisées peut augmenter la chance d'obtenir des hybrides.

Kellou, (2003) a obtenu 51 embryons sur 1982 fleurs pollinisées, dans des croisements entre blé dur et *Aegilops*. En comparaison, nos résultats sont très inférieurs vu que nous n'avons obtenu que 7 embryons sur un total de 1572 fleurs pollinisées.

Guadagnuolo et *al.*, (2001) voulant vérifier la possibilité de croisement dans les deux sens entre blé tendre et *Aegilops cylindrica*, ont enveloppé 2 épis un de chaque parent dans un sachet (72 épis en total) remués régulièrement, ils n'ont pas obtenu d'embryons.

Fritz & Lukaszewski (1989) suggèrent que pour les croisements des cultivars de blés, plusieurs évènements de pollinisation sont nécessaires afin de stimuler la fleur réceptive; pour permettre au pollen de germer sur le stigmate.

Guadagnuolo et *al.*, (2001) indiquent qu'une large source de pollen externe est probablement nécessaire pour l'induction d'*Aegilops cylindrica* à produire des hybrides. D'après eux cette grande quantité de pollen est présente dans les champs, où *Aegilops cylindrica* a été semé à l'intérieur d'un champ de blé tendre, ils ont obtenu 85 hybrides d'*Aegilops cylindrica*/ blé tendre. Ainsi ils ont affirmé la possibilité de flux de gènes entre les deux espèces en conditions naturelles.

## 2- Croisabilité entre les génomes parentaux

La comparaison des différentes combinaisons de croisements (*Aegilops geniculata* et *Aegilops triuncialis*, croisée chacune avec les 4 variétés de blé dur) (tableau 15) fait ressortir les différences d'affinité de croisement entre les espèces du genre *Aegilops* et le blé dur.

**Tableau 15:** Nombre d'embryons formés à partir des différentes combinaisons de croisements.

Espèce ♀ Variété ♂	<i>Ae.geniculata</i>	<i>Ae.triuncialis</i>	Total
<b>Montpellier</b>	1	0	<b>1</b>
<b>Waha</b>	1	2	<b>3</b>
<b>OuedZenati</b>	0	1	<b>1</b>
<b>Vitron</b>	2	0	<b>2</b>
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	

Ainsi, le croisement entre *Aegilops geniculata* et Oued Zenati n'a donné aucun embryon sur les 104 fleurs pollinisées, tandis que le croisement *Aegilops triuncialis*/Oued Zenati a donné un embryon, sur les 59 fleurs pollinisées.

Encore, le croisement *Aegilops geniculata*/ Vitron à donner 2 embryons sur 156 fleurs pollinisées, alors qu'il n'y a pas eu d'embryons dans le croisement d'*Aegilops triuncialis*/Vitron.

Considérons encore les résultats de Kellou (2003), 22 parmi les 51 embryons proviennent du croisement Vitron/*Aegilops geniculata* obtenus sur 1029 fleurs pollinisées. Tandis que nous avons obtenu que 2 embryons dans le croisement *Aegilops geniculata*/vitron. Les 29 autres embryons sont issus du

croisement Oued Zenati/*Aegilops geniculata* sur un total de 953 fleurs pollinisées, alors que nous n'avons pas obtenu d'hybride dans le sens inverse.

Il existe une considérable variation intra et interspécifique de la compatibilité des croisements entre les espèces du genre *Triticum* et les genres apparentés (Waines & Hegde, 2003).

Guadagnuolo et *al.*, (2001) ont observé une différence dans le taux de croisement entre les individus de trois populations différentes de l'espèce sauvage (*Aegilops cylindrica* Host) croisée avec le blé tendre.

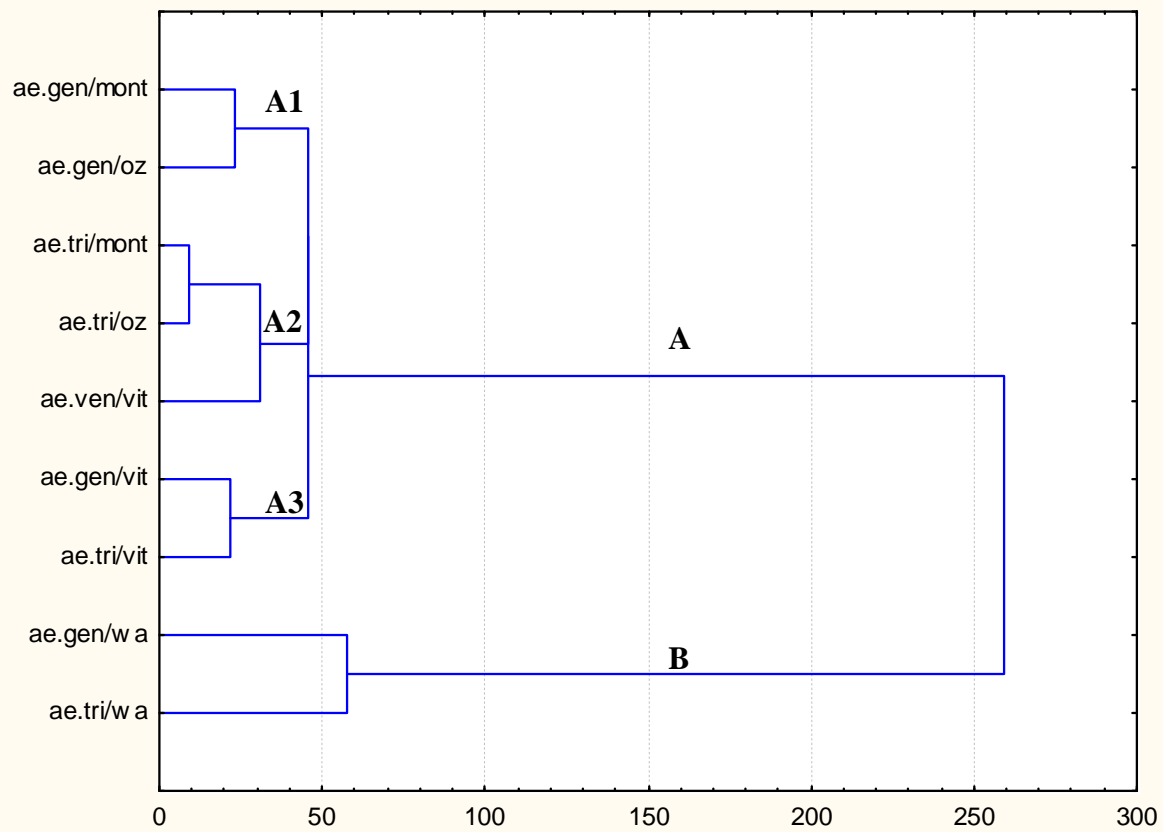
Ainsi 2 populations connues depuis 90 ans ont affiché un taux d'hybridation de 1% par contre, la troisième population récemment découverte a enregistré un taux d'hybridation de 7%.

Le calcul de  $\chi^2$  d'indépendance qui c'est révélé insignifiant  $\chi^2 = 10.49$  à une probabilité de 99.99, permet de conclure que les croisements n'ont pas d'influence sur les paramètres étudiés.

Le dendrogramme qui découle de l'analyse numérique des données observées, fait ressortir deux grands clusters de croisements A et B (fig. 09).

Le cluster A regroupe la plupart des croisements (*Ae.geniculata*/Montpellier ; *Ae.geneniculata*/Oued Zenati ; *Ae.triuncialis*/Montpellier ; *Ae.triuncialis*/Oued Zenati ; *Ae.ventricosa*/Vitron ; *Ae.geniculata*/Vitron ; *Ae.triuncialis*/Vitron). Se groupe se subdivise lui-même en 3 sous groupes.

La différence dans le sous-cluster A1, est que le croisement *Ae.geniculata*/Montpellier a produit un hybride, vue les valeurs rapprochées des deux croisements, ce dernier semble productif par rapport au croisement *Ae.geneniculata*/Oued Zenati.



**Figure 09:** Dendrogramme des différents croisements réalisés.

Le deuxième sous groupe A2, qui réunit les croisements dont les effectifs des observations sont les plus inférieurs, dont l'un d'eux est *Ae.ventricosa*/Vitron, apparaissant seule puisque c'est le seul croisement réalisé avec le parent femelle *Ae.ventricosa*. Dans ce sous groupe, ressort la grande croisabilité des parents dans le croisement *Ae.triuncialis*/Oued Zenati.

Dans le dernier sous cluster A3, où les deux croisements ont le même parent mâle (Vitron), ce dernier semble le plus croisable avec le parent femelle *Ae.geniculata*, puisque ce croisement a abouti à la formation de deux hybrides.

Le deuxième grand cluster B regroupe les croisements ayant les effectifs les plus élevés. Waha est la seule variété de blé dur à avoir donné des hybrides avec les deux parents femelles, mais elle semble plus croisable avec *Ae.triuncialis* que les deux hybrides obtenus.

Il en ressort que le croisement le plus productible est *Ae.triuncialis*/Oued Zenati, puisque un hybride est formé sur un nombre de 10 épis pollinisés au départ. Suivi du croisement *Ae.geniculata*/Vitron avec 2 hybrides, *Ae.geniculata*/Montpellier (1 hybride), *Ae.triuncialis*/Waha (2 hybrides) et le croisement *Ae.geniculata*/Waha.

### 3- Effet de la désynchronisation de la floraison des deux parents sur la production d'hybride

Le dispositif expérimental mis en œuvre, où 3 dates de semis ont été effectuées, n'a pas permis une meilleure synchronisation de la floraison des deux parents.

Nous avons observé que l'anthèse du blé dur a commencé en début d'Avril, alors qu'en même temps quelques épis seulement d'*Aegilops geniculata* se sont dégagés.

En effet, la synchronisation est indispensable afin de disposer régulièrement de pollen, pour pouvoir polliniser le plus grand nombre possible de fleurs et augmenter ainsi la chance d'obtenir des embryons.

Zaharieva & Monneveux, (2006) indiquent qu'une synchronisation des périodes de floraisons et une similarité des caractères phénotypiques sont indispensables pour que 2 espèces puissent s'hybrider.

Nous estimons que cette désynchronisation est due en partie aux conditions climatiques durant l'expérimentation, nous avons constaté des jours relativement chaud par rapport au mois de Mars (tableau 16), donc la température à l'intérieur de la serre en plastique était supérieure à celle de l'extérieur d'environ au moins 5°C. Ce qui a accéléré le cycle végétatif des plantes, notamment pour le blé dur.

**Tableau 16 :** Moyennes des températures relatives à la période de l'essai.

Températures	Mois		
	Mars	Avril	Mai
Température minimale C°	4,16	8,2	9,3
Température maximale C°	14,71	19,02	24,45
Moyenne C°	9,44	13,61	14,16

Plusieurs facteurs peuvent contribuer à la différence de floraison entre les espèces, les conditions environnementales peuvent jouer un grand rôle, influant ainsi le développement des plantes et leur besoin en vernalisation. La nature elle-même de l'espèce peut être à l'origine de cette différence.

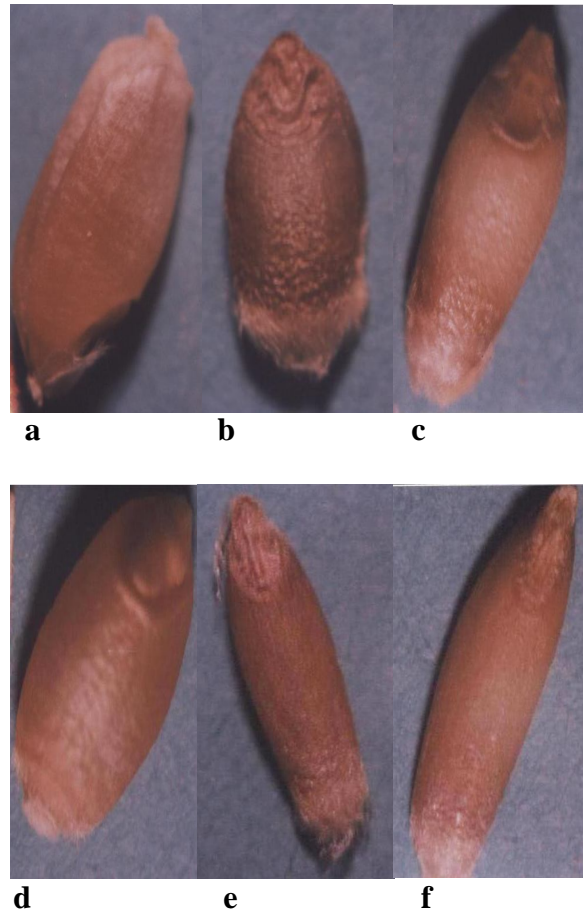
Même au stade de floraison, le temps exact et le taux de floraison sont fortement influencés par les conditions météorologiques comme la variation de température, l'éclaircissement et l'humidité au cours de la journée (Leighty & Sando, 1924 In Hegde & Waines, 2004; De Vries, 1974).

Les épis d'*Aegilops* et du blé tendre ont besoin de 3 à 5 jours pour compléter leur floraison (Peterson, 1965; Boguslavski, 1978), mais la durée de la floraison totale est plus longue pour les *Aegilops* que pour le blé (Van Slageren, 1994).

En plus, il existe des différences génotypiques pour la floraison au sein des cultivars de blé (Joppa et al., 1968; De Vries 1974).

#### **4- Récolte d'hybride en caryopse**

Lors des prélèvements des caryopses, nous avons voulu tester la survie des embryons dans les conditions naturelles. Ainsi, 3 embryons hybrides se sont développés en graines sans recours au sauvetage d'embryons, d'où l'originalité de notre travail. Ces hybrides sont : *Aegilops triuncialis*/Oued Zenati ; *Aegilops geniculata*/Vitron ; *Aegilops triuncialis*/Waha. Ce dernier a été perdu suite à un accident involontaire. Les caryopses des hybrides présentent une grande ressemblance avec ceux des parents femelles (fig. 10). A titre d'exemple la graine de l'hybride *Aegilops triuncialis*/Oued Zenati (e) présente une forme allongée comme celle du parent femelle *Aegilops triuncialis* (f).



**Figure 10:** Caryopses des hybrides en comparaison avec les parents.  
**a-** Vitron. **b-** Hybride *Ae.geniculata*/Vitron. **c-** *Ae.geniculata*. **d-** Oued Zenati.  
**e-** Hybride *Ae.triuncialis*/oued Zenati. **f-** *Ae.triuncialis*.



Nous tenons aussi à faire savoir qu'au début de la réalisation des croisements, nous avons découvert par hasard une plante *d'Aegilops ventricosa* poussant sous une table dans la serre (fig. 11), provenant probablement de manipulations précédentes. Les fleurs de cette plante ont été pollinisées avec le pollen de Montpellier, nous avons obtenu un hybride, développé en graine, mais qui a été endommagé par quelques ravageurs (en particulier les pucerons) (fig. 12).

### **5- Sauvetage d'embryons**

Le sauvetage d'embryons est un moyen efficace, à fin de pallier à l'avortement des embryons, souvent observés dans le cas des croisements interspécifiques et intergénériques.

Le prélèvement des embryons s'est effectué à partir du 14ème jour après pollinisation. Nous n'avons rencontré qu'un embryon par épis. Encore, tous les caryopses se situaient dans la partie médiane des épis, sauf pour l'hybride *Aegilops ventricosa*/Montpellier dont la graine était relativement dans la partie supérieure de l'épi. Aucun caryopse ne s'est développé à partir de fleurs centrales.

La culture d'embryons est réalisée sur le milieu de culture B<sub>5</sub> additionné de Kinétine (0.25mg/l) et d'AIB (Acid Indol Butyrique) (1mg/l).

Nous avons procédé au sauvetage d'embryons pour : *Aegilops geniculata*/Waha; *Aegilops geniculata*/Vitron, *Aegilops triuncialis*/ Waha ; *Aegilops geniculata*/Montpellier (tableau 17).



**Figure 11:** Plante d'*Aegilops ventricosa* retrouvée dans la serre.



**Figure 12:** Graine de l'hybride *Aegilops ventricosa*/Montpellier endommagée.

**Tableau 17 :** Nombre d'embryons transférés sur milieu de culture et nombre de plantules régénérées.

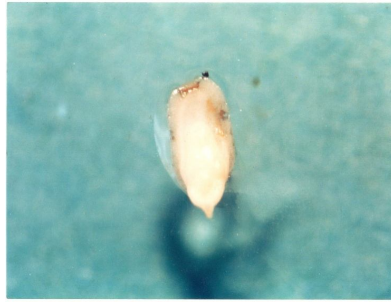
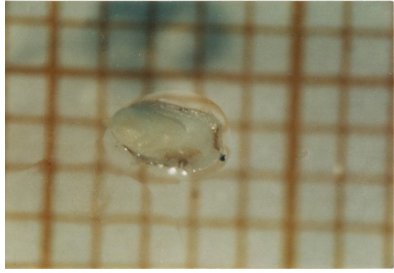
Hybrides	NEM	NEMT sur B5	NPR
<i>Ae.gen/Mont</i>	1	1	1
<i>Ae.gen/ Wa</i>	1	1	1
<i>Ae.gen/ Vit</i>	2	1	1
<i>Ae.tri / Wa</i>	2	1	1
<i>Ae.tri /O.Z</i>	1	non transférés sur B5	
<b>Total</b>	7	4	4

**NEM :** Nombre d'embryons obtenus. **NEMT :** Nombre d'embryons transférés sur milieu B<sub>5</sub>. **NPR :** Nombre de plantules vertes régénérées.

### 5-1 La morphologie des embryons

Nous avons constaté que les caryopses étaient de différentes tailles, un des hybrides *d'Aegilops geniculata* avaient un caryopse petit, mais identique à celui de l'espèce *Aegilops geniculata*, d'ailleurs nous avons observé que les caryopses hybrides même pas murs, ressemblaient déjà aux parents femelles. C'est le cas aussi de l'hybride *Ae.triuncialis/Waha*, dont le caryopse avait une forme allongée, comme celle de l'espèce *Ae.triuncialis*.

Tous les embryons ont une structure normale, avec un scutellum bien défini. Les embryons sont de tailles normales quelques uns plus ou moins allongés, leur longueur est supérieure à 1mm (fig. 13), à l'exception d'un seul dont la taille est relativement petite par rapport aux autres( environ 0.7mm) (fig. 14).



**Figure 13:** Embryons de taille normale.



**Figure 14:** Embryon de taille petite.

## 5-2 Germination et développement des embryons *in vitro*

Le sauvetage d'embryons a concerné 4 hybrides. Le taux de germination est de 100%, en effet tous les embryons ont germé. Malgré une lente germination observée au début, tous les embryons ont régénéré des plantules vertes (tableau 17).

Nous avons observé un bon développement du système foliaire, pour tous les hybrides. La plupart des plantules vertes régénérées présentaient un bon système racinaire, à l'exception de L'hybride *Aegilops geniculata*/Montpellier, pour le quel une seule racine s'est développé.

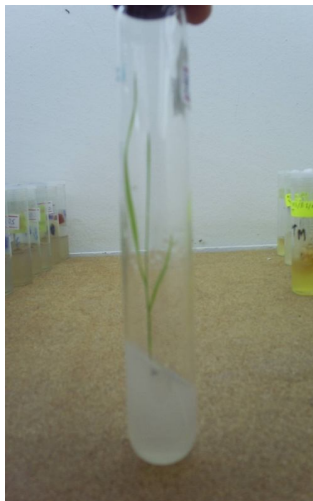
Kellou, (2003) a obtenu un taux de germination de 31.82% pour Vitron/*Aegilops geniculata* et 72.41% pour Oued Zenati/*Aegilops geniculata*. Il conclut que le développement des embryons est fonction de leurs tailles et morphologies. Selon lui, les pertes à la phase de germination sont dues aux embryons anormaux échaudés et de tailles réduites. Mergeai et *al.*, (1997) indique que plus les embryons sont petits plus ils sont sensibles à la composition du milieu de culture.

Aucun de nos embryons transférés sur milieu de culture n'a présenté des anomalies, par conséquent ils ont tous germés et ont régénérés des plantules vertes (fig. 16).

Ainsi les graines hybrides obtenues, la qualité des embryons transférés et le taux de germination élevée (100%) nous laisse supposer que notre sens de croisement est avantageux. La réussite du croisement *Aegilops*/blé dur au laboratoire, indique qu'un tel croisement peut se produire naturellement où les deux espèces poussent l'une à côté de l'autre.



**Figure 15:** La germination d'un embryon (une semaine)



**Figure 16:** Développement des vitroplants après deux semaines de la mise en tube

## 6- Phase d'acclimatation

Cette phase consiste à adapter les vitroplants progressivement avant leur culture en conditions naturelles.

Au départ, les embryons immatures de quatre hybrides ont été transférés sur milieu de culture B<sub>5</sub>. Tous ces embryons ont régénérés des plantules vertes. Deux hybrides sont arrivés à ce stade: *Aegilops geniculata*/Waha et *Aegilops geniculata*/Vitron (fig.17).

- L'hybride *Aegilops geniculata*/Montpellier ne pouvait être transféré sur sol, à cause de son faible système racinaire.
- L'hybride *Aegilops triuncialis*/Waha était perdu par contamination. Plusieurs transferts de la plantule sur le même milieu additionné d'antibiotiques n'ont pas pu éliminer cette contamination.

Les plantules hybrides commençaient à s'adapter aux conditions de la chambre de culture quelques jours après leur transfert sur sol, cette adaptation se manifestait par la croissance des plantules et la couleur verte intense que prenaient les feuilles. Mais après une semaine, les plantules se sont desséchées, les feuilles sont devenues jaunes et sèches.

Cela est probablement dû à la croissance faible des racines (Jensen, 1977 ; Pickering, 1979 ; Ourly et *al.*, 1993). Sharma, (1999) rapporte qu'un bon système racinaire se traduit par une bonne adaptation.

Encore il est connu que cette étape est délicate (anonyme, 1999). Ghorbel et *al.*, (1994) ont remarqué que les pertes les plus sensibles sont observées deux à trois semaines après transfert des plantules de l'hybride pêcher-amandier sur substrat terreux.



**a**

**b**

**Figure 17:** Les vitro-plants avant leur transfert sur pots:  
a.*Aegilops geniculata*/Waha. b.*Aegilops geniculata*/Vitron.



## **7- Etude comparative des diagrammes électrophorétiques des hybrides et des parents**

La séparation des gluténines par la technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS, nous a permis de caractériser les hybrides par rapport à leurs parents et d'établir une comparaison entre les hybrides obtenus dans les deux sens du croisement blé dur x *Aegilops*.

L'analyse électrophorétique est portée sur les gluténines, des parents (Oued Zenati, Vitron, *Ae.geniculata* et *Ae.triuncialis*), des deux hybrides *Ae.geniculata*/Vitron, *Ae.triuncialis*/O.Z et des hybrides O.Z/*Ae.geniculata* (obtenus par Kellou, 2003).

L'interprétation des résultats obtenus est basée sur le nombre et la mobilité des bandes. L'analyse globale a permis de distinguer un polymorphisme important des diagrammes électrophorétiques. Le nombre de bande varie de 4 à 13 bandes. Le poids moléculaire correspondant aux bandes répertoriées varie de 41.235 KDa à 160.661 KDa.

Une grande similitude est respectivement observée entre les profils des hybrides *Ae.geniculata*/Vitron (H1) et *Ae.triuncialis*/O.Z (H2) avec leurs parents femelles.

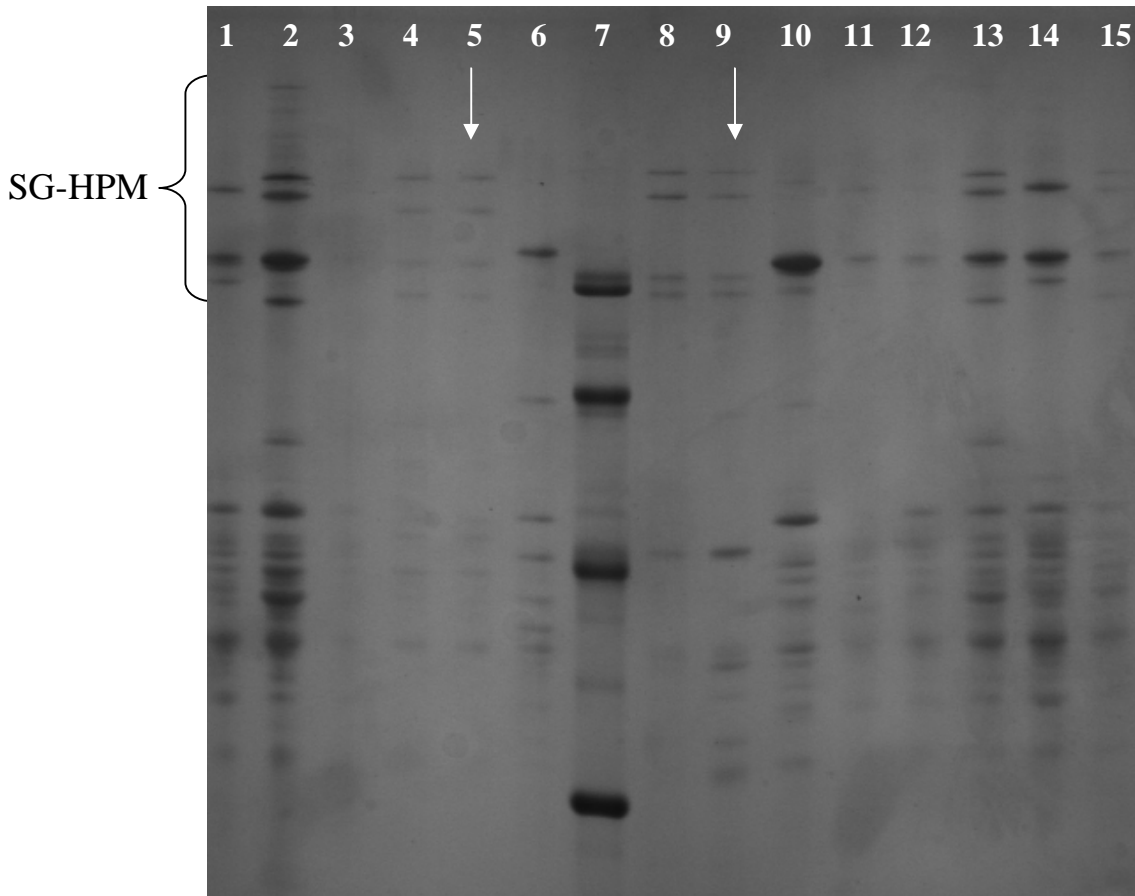
## **7-1 Etude comparative des diagrammes électrophorétiques des Sous unités gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM)**

Nous avons observé une grande variabilité pour les SG-HPM, aussi bien pour le nombre de bandes que pour la mobilité. La mobilité des sous unités HPM est comprise entre 93.559 et 160.661 Kda. Ainsi le nombre des SG-HPM varie de 1 à 4 pour les parents (tableau 18.a), les hybrides H1 et H2 présentent tous les deux 4 sous unités HPM (tableau 18.b).

Le diagramme électrophorétique de l'hybride *Ae.geniculata*/Vitron (H1) est identique à celui du parent femelle (*Ae.geniculata*) qui comprend quatre bandes (fig.18). Hamdi et *al.*, (2007) ont obtenu le même profil pour les accessions d'*Ae.geniculata*. Bandou et *al.*, (2009) ont obtenu pour la majorité des accessions d'*Ae.geniculata* analysées 4 bandes, faiblement 3 bandes et rarement 6 bandes pour quelques accessions.

Les poids moléculaires des bandes de l'hybride sont assez proches de celles du parent *Ae.geniculata* (tableau 18 a , b), ce qui explique les ressemblances des diagrammes électrophorétiques.

L'hybride *Ae.triuncialis*/Oued Zenati présente un profil électrophorétique similaire à celui du parent femelle *Ae.triuncialis*, dont le profil est constitué de 4 bandes (tableau 18 a, b). En effet, (Hamdi et *al.*, 2007) ont répertoriés 4 sous unités HPM pour les accessions étudiées de la même espèce.



**Figure 18 :** Quelques types de diagrammes électrophorétiques des SG-HPM.

1.1813 2.1023 3.1823 4.*Ae.geniculata* 5. H1 6.Vitron 7. Marqueur de poids moléculaire  
8.*Ae.triuncialis* 9.H2 10.Oued zenati 11.1011 12.1811 13.1031 14.1821 15.1021

**Tableau 18.a :** Nombre et mobilités des sous unités HPM des parents.

Les parents	Nombre des SG-HPM	Poids moléculaire Kda
<i>Ae.geniculata</i>	4	131.525
		121.634
		106.374
		95.853
<i>Ae.triuncialis</i>	4	133.111
		125.897
		101.816
		96.139
Oued Zenati	2	106.669
		97.812
Vitron	1	107.85

**Tableau 18.b :** Nombre et mobilités des Sous unités HPM des hybrides *Aegilops*/blé dur.

Hybrides <i>Aegilops</i> /blé dur	Nombre des SG-HPM	Poids moléculaire Kda
Hybride <i>Ae.gen</i> /Vit (H1)	4	129.55
		120.767
		105.267
		94.132
Hybride <i>Ae.tri</i> /O.Z (H2)	4	133.148
		126.55
		101.558
		96.426

Les hybrides de la F<sub>3</sub> issus du croisement Oued Zenati/*Ae.geniculata* présentent une variabilité génétique assez importante. Pour la plupart des hybrides les diagrammes électrophorétiques sont constitués de 4 et de 5 SG-HPM, à l'exception de l'hybride 1033 qui ne possède que 2 bandes (tableau 18.c)

**Tableau 18.c :** Nombre et mobilités des sous unités HPM des hybrides blé dur/  
*Aegilops*.

Hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i>	Nombre des SG-HPM	Poids moléculaire (Kda)
Hybride 1021	5	132.133 126.967 108.367 106.3 95.278
Hybride 1031	5	131.617 125.933 106.817 104.75 93.559
Hybride 1033	2	126.893 106.411
Hybride 1034	5	134.643 129.107 110.286 107.518 96.384

Le profil constitué de 4 bandes est le plus fréquent (41.17%) (la suite du tableau 18.c), celui de 5 bandes est présent dans la descendance avec une fréquence de 17.64%, la fréquence la plus faible (5.88%) correspond au diagramme de 2 sous unités HPM.

Pour 4 hybrides nous avons compté un nombre exceptionnel des SG-HPM atteignant jusqu'à 14 bandes. Ce sont les hybrides 1022, 1023, 1817 et 1818 (tableau 18.d).

**Tableau 18.c :** Suite du nombre et mobilités des sous unités HPM des hybrides blé dur /*Aegilops*.

<b>Hybrides O.Z/<i>Ae.geniculata</i></b>	<b>Nombre des SG-HPM</b>	<b>Poids moléculaire (Kda)</b>
Hybride 1019	4	130.214 108.625 106.411 101.429
Hybride 1011	4	126.45 107.333 105.783 99.067
Hybride 1811	4	125.933 107.333 105.783 99.067
Hybride 1813	4	126.967 107.333 104.75 99.583
Hybride 1814	4	130.214 108.625 106.411 100.321
Hybride 1815	4	129.661 108.071 105.304 99.214
Hybride 1816	4	129.661 109.179 107.518 101.429
Hybride 1821	4	127.483 106.817 104.75 99.067
Hybride 1822	4	130.214 110.286 108.625 101.982

**Tableau 18.d :** Nombre et mobilités élevés des sous unités HPM de quatre hybrides blé dur /*Aegilops*.

Hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i>	Nombre des SG-HPM	Poids moléculaire (Kda)
1817	8	157.893 152.357 144.054 138.518 129.107 107.518 103.643 98.107
1818	9	154.018 152.357 146.821 144.054 139.071 129.107 107.518 103.643 98.107
Hybride 1022	14	160.661 156.786 153.464 150.696 146.821 144.607 142.393 140.179 134.643 128 108.625 105.304 100.321 95.152
Hybride 1023	13	156.933 153.317 150.733 148.15 140.917 138.85 136.267 130.067 126.45 105.783 103.717 99.067 94.132

Nous constatons que, la plupart des hybrides (11) ont en commun, la première bande du parent Oued Zenati (O.Z). Cette bande est présente avec une fréquence de 64.70 %. Alors que les autres hybrides (6) ont hérités les deux bandes du parent Oued Zenati, avec une fréquence de 35.29 %.

**Tableau 19 :** Fréquences des bandes du parent Oued Zenati retrouvées chez la descendance F<sub>3</sub>.

Nombre de bandes	Hybrides	Fréquence
<b>Une bande du parent O.Z</b>	1019	64.70 %
	1011	
	1021	
	1022	
	1023	
	1031	
	1033	
	1034	
	1811	
	1816	
	1822	
<b>Les deux bandes du parent O.Z</b>	1821	35.29%
	1813	
	1814	
	1815	
	1817	
	1818	

En plus des bandes (une ou deux) héritées du parent Oued Zenati, La majorité des hybrides présentent des SG-HPM dont la mobilité est supérieure aux premières. Les mobilités des ces bandes avoisinent celle d'*Aegilops geniculata*. Ce fait, laisse supposer qu'elles sont héritées du parent mâle (*Aegilops geniculata*). Ex : pour l'hybride 1019 la première bande présente une mobilité de 130.214 kda, celle de l'hybride 1816 est de 129.661 kda.



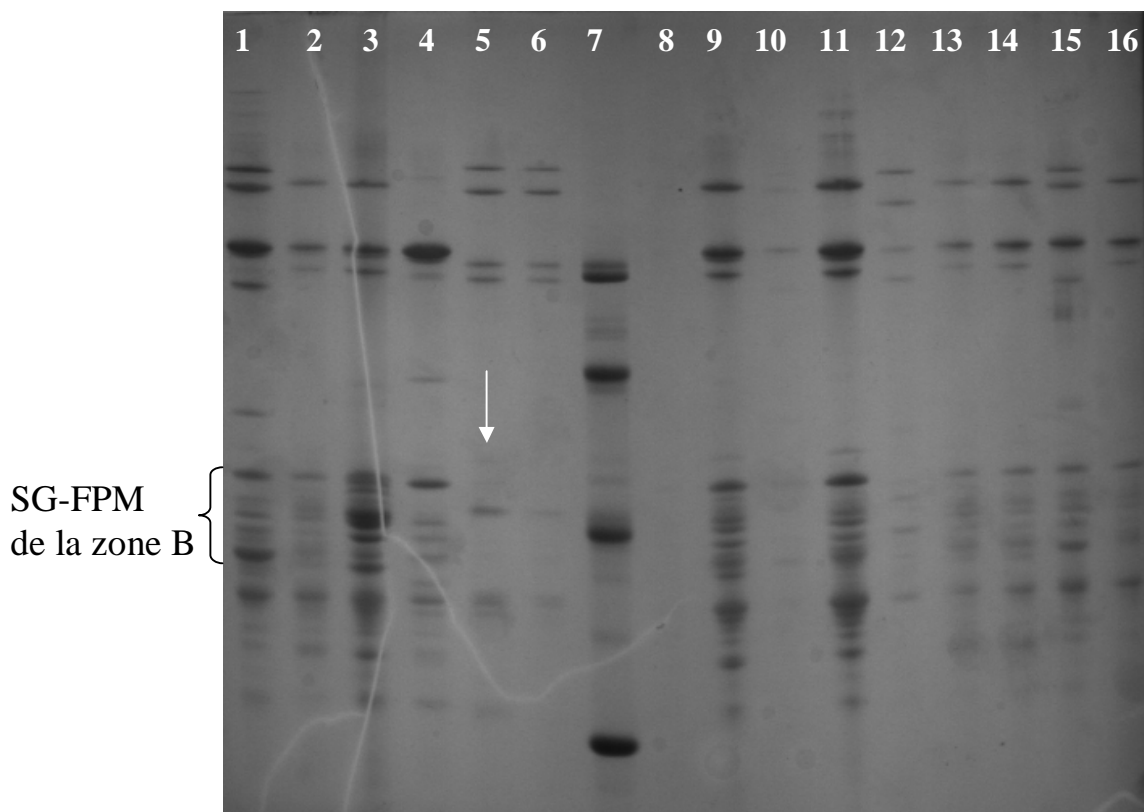
Rodriguez-Quijano et *al.*, (2001) ont noté une mobilité très élevée d'environ 130 Kda pour toutes les SG-HPM de type x d'*Aegilops umbellulata*. (Law & Payne, 1983 ; Nakamura et *al.*, 1999 In Rodriguez-Quijano et *al.*, 2001) indiquent que la présence de sous unités de très haut poids moléculaire et très rare dans les blé cultivés.

## **7-2 Etude comparative des diagrammes électrophorétiques des Sous unités de faible poids moléculaire (SG-FPM)**

L'étude s'est intéressée aux SG-PFM de la zone B. L'électrophorèse par SDS-PAGE a révélé plusieurs diagrammes électrophorétiques des SG-FPM. La mobilité des bandes varie de 41.57 à 49.905 Kda.

La variété Vitron n'a présenté qu'une seule Bande, alors que Oued Zenati possède 5 sous unités. L'espèce *Ae.geniculata* présente 4 bandes, tandis que l'espèce *Aegilops triuncialis* ne possède qu'une seule sous unité de faible poids moléculaire (tableau 20.a). Hamdi et *al.*, (2007), ont répertorié de 1 à 3 bandes pour les accessions d' *Ae.geniculata* et *Aegilops triuncialis* étudiées.

Les profils des hybrides *Ae.geniculata*/Vitron (H1) et *Ae.triuncialis*/O.Z (H2) sont identiques à ceux des parents femelles (*Ae.geniculata* *Ae.triuncialis*, respectivement) (fig.19). La mobilité relative des SG-FPM des deux hybrides est respectivement similaire à celle des SG-FPM des deux parents femelles (tableau 20.b)



**Figure 19 :** Quelques diagrammes électrophorétiques des SG-FPM.

1.1022 2.1814 3.1815 4. O.Z 5. H2 6.*Ae.triuncialis* 7. Marqueur de poids moléculaire  
8.1013 9.1817 10.1033 11.1818 12.*Ae.geniculata* 13.1019 14.1816 15.1034 16.1822

**Tableau 20.a :** Nombre et mobilités des sous unités FPM (SG-FPM) des parents.

Les parents	Nombre des SG-FPM	Poids moléculaire (Kda)
<i>Ae.geniculata</i>	4	48.807
		47.407
		45.257
		43.484
<i>Ae.triuncialis</i>	1	46.28
Oued Zenati	5	48.548
		45.732
		44.617
		43.319
		41.57
Vitron	4	48.67
		45.912
		43.417
		41.389

**Tableau 20.b :** Nombre et mobilités des sous unités FPM (SG-FPM) des hybrides *Aegilops*/blé dur.

Hybrides <i>Aegilops</i> /blé dur	Nombre des SG-FPM	Poids moléculaire (Kda)
Hybride <i>Ae.gen</i> /Vit (H1)	4	48.953
		47.224
		45.227
		43.191
Hybride <i>Ae.tri</i> /O.Z (H2)	1	46.398

Les hybrides O.Z/*Aegilops geniculata* présente une hétérogénéité pour les SG-FPM. Les diagrammes constitués de 3 et de 4 bandes sont les moins fréquents, celui de 3 bandes est présent chez l'hybride 1033, celui de 4 bandes n'est représenté que par l'hybride 1011 (tableau 19.c). Les diagrammes constitués de 5 et 6 bandes apparaissent chacun chez 3 hybrides (tableau 20.c).

**Tableau 20.c :** Nombre et mobilités des sous unités FPM (SG-FPM) des hybrides blé dur/*Aegilops*

Hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i>	Nombre des SG-FPM	Poids moléculaire (Kda)
Hybride 1033	3	48.408
		46.606
		43.358
Hybride 1011	4	46.977
		46.028
		45
		42.74
Hybride 1811	5	49.695
		47.1
		46.261
		45.227
		43.981
Hybride 1021	5	49.695
		47.474
		45.34
		44.66
		43.642
Hybride 1034	5	49.469
		47.924
		46.606
		45.597
		44.291
Hybride 1813	6	49.543
		46.735
		46.028
		45
		43.868
		43.078
Hybride 1816	6	49.191
		47.354
		46.503
		45.597
		44.495
		43.567
Hybride 1822	6	49.905
		47.354
		46.71
		45.896
		45.299
		44.9

Pour 9 hybrides nous avons répertoriés un nombre important de sous unités de faible poids moléculaire (tableau 20.d).

**Tableau 20.d:** Nombre élevé des sous unités FPM de neuf hybrides blé dur/*Aegilops*.

Hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i>	Nombre de SG-FPM	Poids moléculaire (Kda)
Hybride 1019	7	49.329
		48.042
		47.244
		46.197
		45.399
		44.291
		43.358
Hybride 1814	7	48.79
		46.921
		46.197
		45.399
		44.495
		43.983
		43.147
Hybride 1821	7	49.543
		47.348
		45.912
		45.113
		44.208
		43.53
		42.965
Hybride 1818	7	48.408
		47.027
		46.4
		45.697
		44.9
		44.086
		43.567
Hybride 1031	8	49.392
		47.601
		46.378
		45.34
		44.547
		43.642
		42.74
		42.064

Ce nombre varie de 7 à 9 sous unités. Le plus grand nombre des SG-FPM (9) est présent chez les hybrides 1815, 1817 et 1023. Le diagramme de 8 bandes est représenté par deux hybrides (1031, 1022). Les hybrides 1019, 1814, 1821 et 1818 possèdent 7 bandes.

**Tableau 20.d:** La suite du nombre élevé des sous unités FPM de neuf hybrides blé dur/*Aegilops*.

Hybrides blé dur/ <i>Aegilops</i>	Nombre de SG-FPM	Poids moléculaire Kda
Hybride 1022	8	49.191 47.135 46.4 45.498 44.799 43.776 43.147 42.722
Hybride 1815	9	49.329 48.533 47.924 47.027 46.197 45.498 44.698 43.776 42.935
Hybride 1817	9	48.042 47.354 46.71 45.996 45.498 44.698 43.672 43.253 42.293
Hybride 1023	9	49.392 47.348 46.735 46.028 45.113 44.547 43.53 42.514 42.064

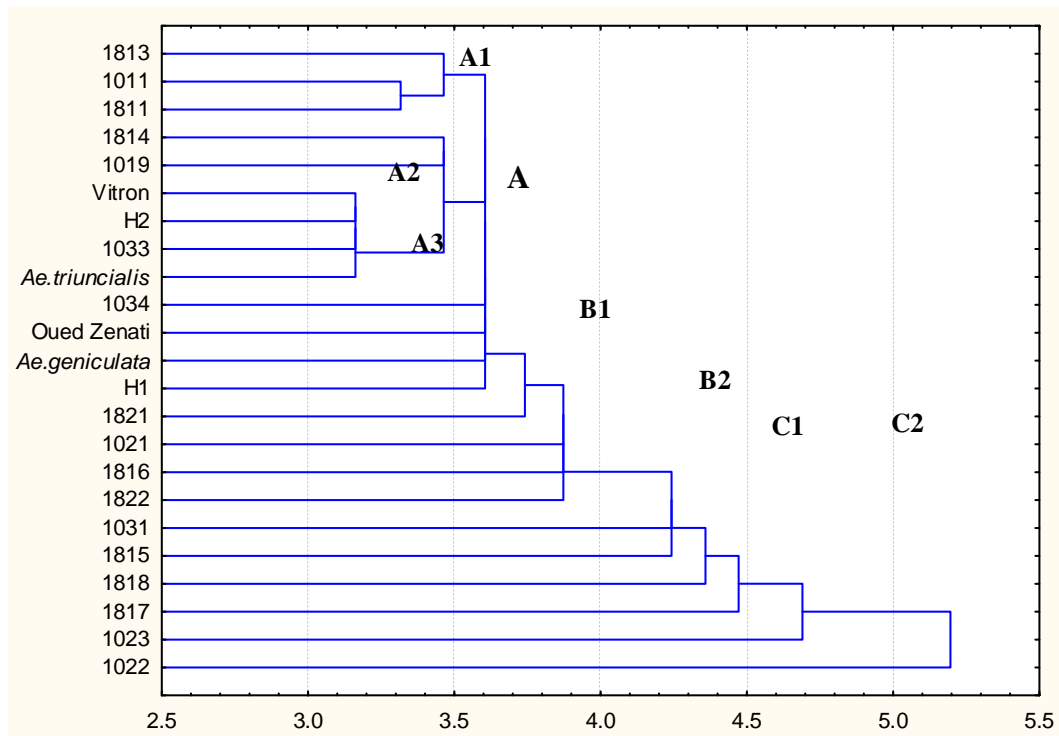
Nous avons remarqué que les hybrides 1022, 1023, 1817 et 1818 qui présentent un nombre élevé de sous unités de faible poids moléculaire, ont aussi exprimé un nombre élevé de sous unités de haut poids moléculaire (tableau 21).

**Tableau 21 :** Les hybrides présentant un nombre élevé de sous unités HPM et FPM.

Hybrides	Nombre de SG-HPM	Nombre de SG-FPM
1022	14	8
1023	13	9
1817	8	9
1818	9	7

Les résultats révélés par la technique d'électrophorèse sur SDS-PAGE, ont été de grande importance dans l'étude comparative des hybrides dans les deux sens du croisement Blé dur/*Aegilops*. Les profils électrophorétiques des hybrides *Ae.geniculata*/Vitron (H1) et *Ae.triuncialis*/O.Z (H2), présentent une grande homogénéité avec ceux des parents *Ae.geniculata* et *Ae.triuncialis*, respectivement, aussi bien pour les sous unités gluténines de haut poids moléculaire (HPM) que pour celles de faible poids moléculaire (FPM). Les descendants de la F<sub>3</sub>, révèlent une hétérogénéité des diagrammes électrophorétiques. Certains hybrides présentent un nombre élevé des sous unités HPM et FPM. La plupart de ces hybrides ont hérités la première bande du parent femelle Oued Zenati (64.70 %), les deux bandes sont présentes chez quelques hybrides avec une fréquence de 35.29 %.

Ces constatations, laissent supposer que chez les hybrides obtenus dans les deux sens réciproques du croisement blé dur/*Aegilops*, l'hérédité est cytoplasmique maternelle.



**Figure 20:** Dendrogramme des profils électrophorétiques



Le dendrogramme obtenu par l'analyse qualitative des profils électrophorétiques, a permis de distinguer les groupes homogènes dans l'adescendance hybride. Ces hybrides peuvent être classés en trois groupes A, B et C (fig.20).

Le groupe A est lui-même divisé en 3 sous groupes ; le sous groupe A1 regroupe les hybrides 1011 et 1811, ils présentent le même diagramme électrophorétique à la différence d'une seule bande FPM. L'hybride 1813 présente aussi le même profil, avec une SG-FPM de plus que l'hybride 1811. Le sous cluster A2 regroupe d'une part Vitron, *Ae.triuncialis* 1033 et H2, leur profils contiennent le nombre inférieur de bandes (5 au total), ainsi la longueur de ce groupe est la plus petite. L'hybride H2 est regroupé avec le parent femelle *Ae.triuncialis* à cause de la grande similitude qu'il présente avec lui. D'une autre part les hybrides 1814 et 1019 sont très homogènes. Les hybrides 1034, H1 sont groupés avec les parents Oued Zenati et *Ae.geniculata* dans le sous groupe A3. L'hybride H1 est très similaire au parent femelle *Ae.geniculata*.

Le sous groupe B1 constitué des hybrides 1821, 1021, 1816 et 1822. Ces trois derniers présentent des profils similaires, le nombre total de bandes est de 10. Ils sont distants du groupe A en raison du nombre en plus de sous unités FPM. C'est ainsi que l'hybride 1821 avec 7 SG-FPM est inclus dans ce sous groupe, il présente aussi un diagramme des SG-HPM similaire aux hybrides du groupe A (4 bandes).

Le sous groupe B2 est représentés par les hybrides 1031, 1815 et 1818 qui ont plus de sous unités FPM (8 et 9 respectivement) que le groupe précédant. L'hybride 1815 présente une similitude avec les hybrides du sous groupe B1 par le nombre de SG-HPM

Le dernier groupe C se distingue nettement des autres groupes par le nombre élevé de sous unités HPM et FPM des hybrides 1817, 1023 et 1022, ce dernier présente les mobilités des sous unités HPM les plus élevées qui le distingue des autres hybrides (C2). Le sous groupe C1 constitué de l'hybride 1817 et 1023 présentent une similitude avec l'hybride 1818.

La supposition d'une telle hérédité est soutenue par les observations de la culture *in vitro*. En effet, les caryopses, les embryons et les plantules présentaient des caractères morphologiques très proches de ceux du genre *Aegilops* :

- Les caryopses obtenus dont les embryons étaient transférés sur milieu de culture, ressemblaient à ceux des parents femelles. C'est la même constatation pour les graines obtenues sans recours au sauvetage d'embryons.
- Les vitroplants régénérés à partir des embryons immatures, présentaient lors de leur développement une préfoliation enroulée, caractéristique des espèces du genre *Aegilops*.

## Conclusion et perspectives

Ce travail constitue la première étape dans le programme d'introggression de gènes de résistance à la sécheresse à partir des espèces apparentées vers le blé dur. Les espèces du genre *Aegilops* recèlent des gènes d'un grand intérêt pour l'amélioration du blé notamment la résistance au stress hydrique. L'obtention d'hybrides interspécifiques constitue la base de départ pour procéder à la sélection de ces gènes.

Nous n'avons obtenu que 7 embryons, ce qui reflète encore la faible productivité des croisements interspécifiques à l'origine de plusieurs incompatibilités et d'une difficulté de synchronisation des floraisons des deux parents.

Le coefficient de corrélation significatif entre les paramètres étudiés et le nombre d'embryons obtenus, appuis les recommandations dans la littérature d'augmenter le nombre de fleurs pollinisées afin d'obtenir plus d'hybrides interspécifiques ou intergénériques.

Le sauvetage d'embryons a permis d'obtenir des embryons de bonne qualité, puisque aucune anomalie n'a été détectée. Ils ont tous régénéré des plantules vertes qui présentaient une préfoliation enroulée, l'une des caractéristiques du genre *Aegilops*.

La technique d'électrophorèse en présence de SDS (SDS-PAGE), nous a permis de caractériser les hybrides et leurs parents. Les hybrides *Ae.geniculata*/vitron et *Ae.triuncialis*/O.Z présentent des profils électrophorétiques dont le nombre de bandes et les mobilités sont similaires à ceux des deux parents femelles *Aegilops geniculata* Roth, *Aegilops triuncialis* L. respectivement.

Les observations morphologiques des embryons, des caryopses et des plantules vertes et les diagrammes électrophorétiques des hybrides permettent de conclure que dans le cas de ces hybrides interspécifiques, l'hérédité est maternelle.

Le dessèchement des plantules au stade d'acclimatation, confirme que cette phase d'adaptation est sensible, donc il faut disposer d'un nombre d'embryons importants au départ, afin de minimiser les pertes à ce stade.

L'originalité de notre travail réside dans deux points essentiels:

✚ Le premier réside dans le croisement en lui-même, où pour la première fois en Algérie le croisement *Aegilops*/blé dur est réalisé.

✚ Le deuxième est dans le fait que nous avons récolté 3 hybrides en graines, sans l'obligation de passer par la culture *in vitro*, d'où l'avantage de minimiser le coût des expérimentations et d'éviter la perte de matériel végétal précieux par contamination. Ces hybrides présentaient des caryopses très similaires à ceux des parents femelles (espèces du genre *Aegilops*).

Ce fait, laisse réellement penser que les espèces d'*Aegilops* et du blé peuvent s'hybrider en conditions naturelles et par conséquent échanger de leur matériel génétique. Ainsi la compréhension de cet important phénomène qu'est le flux de gènes sera utile à la réalisation d'efficaces programmes d'introggression.

En conclusion, nous estimons que le croisement dans le sens que nous avons réalisé (*Aegilops*/blé dur) est promettant vu la qualité embryons et des caryopses produits, le taux de germination et de régénération de plantules vertes, et le plus important et l'obtention de graine sans recours au sauvetage d'embryons

Mais, il est nécessaire de vérifier et de compléter les résultats de ce travail par:

- ✚ Le dénombrement chromosomique des hybrides afin de déterminer leur niveau de ploïdie. L'étude de la méiose et de la fertilité des hybrides par les méthodes classiques de cytogénétique.
- ✚ La lecture génétique des bandes répertoriées et l'attribution des allèles au loci, permettant de décrire les nouvelles combinaisons d'allèles au sein des hybrides.
- ✚ L'utilisation des marqueurs biochimiques et les outils de biotechnologies (PCR, RFLP, etc...), afin de retrouver rapidement l'expression de marqueurs spécifiques parentaux dans la descendance hybride.
- ✚ L'utilisation de la technique d'hybridation fluorescente in situ (FISH) ou l'hybridation génomique (GISH) pour raffiner au niveau moléculaire les résultats d'appariement chromosomique.

En réalisant cette étude nous avons observé un manque de bibliographie sur un nombre de données dont l'étude pourra constituer de nouveaux éléments de recherche, ainsi il serait nécessaire de:

- ✚ Effectuer des prospections pour les espèces sauvages, notamment celles du genre *Aegilops* afin de répertorier les ressources génétiques que recèle notre pays et d'acquérir les connaissances sur leur écologie et leur distribution.
- ✚ L'étude et l'évaluation du potentiel d'hybridation naturelle entre les espèces cultivées et leurs apparentées dans notre pays. Dans le but d'augmenter l'efficacité des programmes d'amélioration génétique des espèces cultivés par les espèces apparentées.

## Références bibliographiques

- Abdelguerfi, A. & Laouar, M. 2000.** Les ressources génétiques des blés en Algérie. Passé, présent et avenir. Actes du premier Symposium International sur la filière de blé. Enjeux et Stratégies. Office Algérien International sur la filière de blé. Alger, Algérie. 7-9 Février. Pp 133-148.
- Ammiour, N. 1994.** Connaissance des bases biochimiques et génétiques de la qualité technologique des blés cultivés en Algérie. Thèse Magistère. Univ. Constantine.
- Amri, A., El bouhssini, M., Jlibene, M., Cox., T.S. & Hachett, H. 1992.** Evaluation of *Aegilops* and *Triticum* species for resistance to the Moroccan Hessian by (*Diphtheria cecidomyridea*) *Al Awania*. **77** (2) 109-118.
- Andersan, A., Crasta, O., Francki, M., Bucholtz, D., Sharma, H. & Ohm, H. 1997.** Molecular and cytogenetic analysis of *Thinopyrum intermedium* translocations. *Plant Genome* **5**, 90.
- Anonyme, 1996.** Les principales variétés de céréales cultivées en Algérie. Institut Technique des Grandes Cultures.
- Anonyme.1999.** Micropropagation pour l'entreprise serricole - Cahier de références techniques. **CIDES** (Centre d'Information et de développement Expérimental en Seerriculture)
- Anonyme.2006.** L'obtention variétale en Algérie. Cas des céréales à paille. Institut National de la recherche Agronomique d'Algérie.
- Araus J.L, Bort, J., Steduto, P., Villegas, D. & Royo, C. 2003.** Breeding cereals for Mediterranean conditions: ecophysiological clues for biotechnology application. *Ann. Appl. Biol.* **142**: 129-141.
- Arnold, M.L. 1997.** Natural hybridization and evolution. Oxford University Press, New York.
- Arriola, P.E. & Ellstrand, N.C. 1996.** Crop-to- weed gene flow in the genus *Sorghum* (Poaceae): spontaneous interspecific hybridization between johnson grass (*Sorghum halepense*) and crop sorghum *S. bicolor*. *Am J Bot* **83**: 1153-1160.

- Baalbaki, R., Hajj-Hassan, N. & Zurayk. 2006.** *Aegilops* Species From Semiarid Areas Of Lebanon: Variation in Quantitative attributes under Water Stress. *Crop Sci.* **46**: 799-806.
- Badaeva, E.D., Friebe, B. & Gill, B.S. 1996.** Genome differentiation in *Aegilops*. 2. Physical mapping of 5S and 18S-26S ribosomal RNA gene families in diploid species. *Genome* **39**: 1150-1158.
- Bahrman, N., Zivy, M. & Thiellement, H. 1988.** Genetic relationships in the *Sitopsis* section of *Triticum* and the origin of the B genome of polyploidy wheats. *Heredity* **61**: 474-480.
- Bandou, H., Rodriguez-Quijano, M., Carrillo, J. M., Branlard, G., Zaharieva, M. & Monneveux, P. 2009.** Morphological and genetic variation in *Aegilops geniculata* from Algeria. *Plant. Syst. Evol.* **277**: 85 – 97.
- Bartsch, D. & Pohl-Orf, M. 1996.** Ecological aspects of transgenic sugar beet: transfer and expression of herbicide resistance in hybrids with wild beets. *Euphytica* **91**: 55-64.
- Beri, S.M. & Anand, S.C. 1971.** Factors affecting pollen shedding capacity in wheat. *Euphytica* **20**: 327-332.
- Bietz, J.A., Huebner, F.R., Sanderson, J.E.M. & Wall, J.S. 1977.** Wheat gliadin homology revealed through n-terminal amino acid sequences analysis. *Cereal. Chem.* **54**: 1070-1083.
- Bietz, J.A. & Huebner, F.R. 1980.** Structure of glutenin achievement at the Northern Research Center. *Ann. Technol. Agric.* 149-177.
- Boguslavski, R.L. 1978.** Tsvetenie vidov *Aegilops* v usloviyah yujnogo Dagestana. (In Russian.) Bull. *VIR* **78**:10-12.
- Boguslavski, R.L. 1979.** Harakter tsvetenia i opilenia vidov roda *Aegilops* L. V usloviyah yujnogo Dagestana. (In Russian.) Bull. *VIR* **89**: 58-62.
- Bommineni, V.R. & Jauhar, P.P. 1997.** Wide hybridization and genome relationships in cereals: An assessment of molecular Approaches. *Maydica* **42**: 81-105.

- Borlaug, N.E. 1998.** Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. *Plant Tiss. Cult. Biotech.* **3**: 119-127.
- Bouziane, Z. 2003.** Identification chromosomique et génomique de deux espèces *Aegilops tauschii* Coss. et *Aegilops uniaristata* Vis. Thèse de Magister. Univ. Constantine.
- Bridgen, M., 1994.** A review of plant embryo culture. *Hort.Sci.* **29**: 1243-1246.
- Brown, L.R. & Kane, H. 1994.** Full House: Reassuring the Earth's population carrying Capacity. W.W. Norton and Company. New York.
- Chandler, J., Jan, C. & Bread, B. 1986.** Chromosomal differentiation among the annual *Helianthus* species. *Syst. Bot.* **11**: 354-371.
- Chen, P.D. & Gill, B.S. 1983.** The origin of chromosome 4A and genome B and G of tetraploid wheats. In: **S. Sakamoto (Eds) Proc. 6<sup>th</sup> Int. Wheat Genet. Symp.**, Kyoto, Japan. 28 Nov.-3 Dec. Kyoto Univ., Kyoto, Japan. Pp 39-48.
- Chen, Q., Jahier, J. & Cauderon, Y. 1992.** Production and cytogenetic analysis of BC<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub> and BC<sub>3</sub> progenies of an intergeneric hybrid between *Triticum aestivum* (L.) Thell. and tetraploid *Agropyron cristatum* (L.) Gaerth. *Theor Appl Genet* **84**: 689-703.
- Ciaffi, M., Dominicci, L., Lafiandra, D. & Porecdden, E. 1992.** Seed storage proteins of wild wheat progenitors and their relationships with technological properties. *Hereditas.* **116**: 351-322.
- Cifuentes, M., Blein, M. & Benavente, E. 2006.** A cytomolecular approaches to assess the potential of gene transfer from a crop (*Triticum turgidum* L.) to a wild relative (*Aegilops geniculata* Roth.). *Theor Appl Genet* **112**: 657-664.
- Collins, G. & Grosser, J. 1984.** In Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Laboratory Techniques (Vasil, I., ed), Academic, New York, Pp. 242-257.
- David, J.L., Benavente, E., Délieux, F., Dusautoir, J.C., Mignot, A. & Molina, J. 2003.** Rôle des diplogamètes dans les échanges de gènes au sein d'un complexe d'espèces polyploïdes : cas du blé dur et d'*Aegilops ovata*. Programmes interdisciplinaire du CNRS « Impact des Bio-Technologies dans les Agro-écosystèmes ».



- De buyser, J. & Henry, Y. 1986.** Induction of haploid and diploid plants through *in vitro* anther culture of haploid wheat ( $2n = 3x = 21$ ). *Theor. Appl. Genet.* **57**: 57-58.
- De Vries, A.Ph. 1971.** Flowering biology of wheat, particularly in view of hybrid seed production-A review. *Euphytica* **23**: 152-170.
- De Vries, A.Ph. 1974.** Some aspects of cross-pollination in wheat (*Triticum aestivum* L.). 4. Seed set on male-sterile plants as influenced by distance from the pollen source, pollinator: Male-sterile ratio and width of the male-sterile strip. *Euphytica* **23**:601-622.
- Dhaliwal, H.S., Harjit-Singh., Gupta, S., Bagga, P.S. & Gill, K.S. 1991.** Evaluation of *Aegilops* and *Triticum* species for resistance to leaf rust (*Puccinia recondita* f.sp.*tritici*) of wheat. *Int J trop Agric* **9**: 118-121.
- Dimov, A., Zaharieva, M. & Mihova, S. 1993.** Rust and powdery mildew resistance in *Aegilops* accessions from Bulgaria. In: **Damania, A.B.** (eds), Biodiversity and wheat improvement. John Wiley & Sons, Chichester, UK. Pp.165-169.
- Doebley, J. 1990.** Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. *Bioscience* **40**: 443-450.
- Dosba, F. & Rivoal, R. 1982.** Estimation des niveaux de résistance au développement de *Heterodora avenae* chez les *Triticeae*. *Bulletin OEPP.*, **12** :456-541.
- Dover, G.A. & Riley, R. 1972.** Prevention of pairing of homeologous meiotic chromosomes of wheat by an activity of supernumerary chromosomes of *Aegilops*. *Nature* **240**:159-161.
- D'Souza, V.L. 1970.** Investigations concerning the suitability of wheat as pollen-donor for cross-pollination by wind as compared to rye, Triticale, and Secalotricum. (In German.) *Zeishrift für pflanzenzüchtung* **63**:246-269.
- Dvorak J., Terlizzi P., Zhang H.B., Resta P. 1993.** *Genome*.**36**:21-31.
- Eig A. 1929.** Monographich- Kritishe Übersicht der Gattung *Aegilops* Repertorium Specierum Nov. *Regni Vegetabilis*, Berlin; Selb-Verlag, Volume **55**:1-228.

- Ellstrand, N.C. & Hoffman, C.A. 1990.** Hybridization as an avenue of escape for engineered genes. *BioScience* **40**: 438-442.
- Ellstrand, N.C., Whitkus, R. & Rieseberg, L.H. 1996.** Distribution of spontaneous plant hybrids. *Proc Natl Acad Sci* **93**: 5090-5093.
- Ellstrand, N.C., Prentice, H.C. & Hancock, J.F. 1999.** Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annu Rev Ecol Syst* **30**: 539-563.
- Enjalbert, J., Goldringer, I., David, J. & Brabant, P. 1998.** The relevance of out crossing for the dynamic management of genetic resources in predominantly selfing *Triticum aestivum* L. (bread wheat). *Genet. Sel. Evol.* **30**: 197-211.
- FAO, 2003.** Production et utilisation des céréales au Maroc.  
<http://www.fao.org/inpho/bray/move rep/x0289f/x0289folhtm>
- Farooq, S., Shah, T.M. & Asghar, M. 1996.** Intergenic hybridization for wheat improvement: V. Production of and metaphase 1 chromosome analysis in F<sub>1</sub> hybrids of wheat (*Triticum aestivum*) with *Aegilops ovata* L. *Cereal Res. Comm.* **24**: 155-161.
- Fehr, W.R. 1984.** Genetic Contributions to Yield Gains of Five Major Crop Plants. Crop Science Society of America Special publication No. 7, Madison, Wisconsin.
- Feldman, M. & Mello-sampayo, T. 1967.** Suppression of homeologous pairing in hybrid of polyploidy wheat x *Triticum speltoides*. *Can.J.Genet.Cytol.* **9**:307-313.
- Fernandez-Calvin, B. & Orellana, J. 1990.** High molecular weight glutenin subunit variation in the *Sitopsis* section of *Aegilops*. Implacations for the origin of the B genome of wheat. *Heredity* **65**: 455-463.
- Friebe, B., Jiang, J., Raupp, W.J., McIntosh, R.A. & Gill, B.S. 1996.** Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica* **91**: 59-87.
- Fritz, S.E. & Lukaszewski, A.J. 1989.** Pollen longevity in wheat, rye and triticale. *Plant Breed* **102**: 31-34.

- Gale, M.D. & Miller, T.E. 1987.** The introduction of alien genetic variation in wheat. In: **Lupton F.G.H.(ed.)** Wheat breeding: Its scientific basis. Chapman and Hall, London. Pp. 173-210.
- Ghorbel, A., Chatibi, A., Mliki, A., Kchouk, M.E. & Zemni, H. 1994.** Propagation in vitro du pêcher-amandier GF-557. In **AUPELF-URBF (eds)**. Quel avenir pour l'amélioration des plantes ? John Libbey Eurotext. Paris. Pp. 263-274.
- Gill, B.S., Sharma, H.C., Raupp, W.J., Browder, L.E., Hatchett J.H., Harvey, T.L., Moseman, J.G. & Wainnes, J.G. 1985.** Evaluation of *Aegilops* species for resistance to wheat powdery mildew, wheat leaf rust, hessian fly and green bug. *Plant Dis* **69**: 314-316.
- Govindaraju, D.R. 1988.** A note on the relationship between out crossing rate and gene flow in plants. *Heredity* **61**:401-404.
- Guadagnuolo, R., Savova-Bianchi, D. & Felber.F. 2001.** Gene flow from wheat (*Triticum aestivum* L.) to jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host.), as revealed by RADP and microsatellite markers. *Theor Appl Genet* **103**: 1-8.
- Hamdi, O., Bechkri, S., Benmebarek, H., Zeghida, A. & Khelifi, D. 2007.** Etude biochimique et génétique de la diversité des sous unités gluténines de huit espèces du genre *Aegilops*. *Recherche Agronomique* **19** : 33 – 43. INRA Algérie.
- Hammer, K. 1980.** Vorarbeiten zur monographischen Darstellung von Wildflanzen-sortimenten: *Aegilops* L. (In German.). *Kulturpflanze* **28**:33-180.
- Hammer, K. & Matzk, F. 1993.** Variation in breeding systems in *Triticeae*. In **A.B. damania (eds)** Biodiversity and wheat improvement. John Wiley and Sons, New York. Pp. 51-58.
- Hamrick, J.L., Linhart, Y.B. & Mitton, J.B. 1979.** Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **10**: 173-200.
- Harlan, J.R. 1992.** Crops and man, 2<sup>nd</sup> ed. Madison. Wisconsin: American Society of Agronomy.
- Harlan, J.R. & de West, J.M.J. 1971.** Toward: a rational classification of cultivated plants. *Taxons* **20**:509-517.

- Harrison, R.G. 1990.** Hybrid zones: Windows on evolutionary process. *Oxford Surv. Evol. Biol.* **7**:69-128.
- Hegde, S.G. & Waines, J.G. 2004.** Hybridization and Introgression between Bread Wheat and Wild and Weedy Relatives in North America. *Crop Sci.***44**: 1145-1155.
- Huang, S., Sirikhachornkit, A., Su, X., Faris, J., Gill, B., Hasel Korn, R. & Gornicki, P. 2002.** Genes encoding plastid acetyl-coa carboxylase and 3-phosphoglycerate Kinase of *Triticum/Aegilops* complex and the evolution history of polyploidy wheat. Proc Natl Acad Sci USA.
- Hucl, P. 1996.** Out crossing rates for 10 Canadian spring wheat cultivars. *Can. J. Plant Sci.* **76**:423-427.
- Hussein, T. & Bowden, R.L., Gill, B.S. & Cox, T.S. 1997.** Chromosome location of leaf rust gene Lr 43 from *Aegilops tauschii* in common wheat. *Crop Sci* **37**:1764-1766.
- Jahier, J., Rivoal, R., Yu, M.Q., Abélard, P., Tanguy, A.M. & Barloy, D.1998.** Transfer of genes for resistance to cereal cyst nematode from *Aegilops variabilis* Eig to wheat. *J. Genet. Breed.* **52**: 253-257.
- Jauhar, P.P. 1993.** Alien gene transfer and genetic enrichment of bread wheat. In **Damania AB** (ed) Biodiversity and Wheat Improvement. John Wiley and Sons, Chichester, England. Pp. 103-119.
- Jauhar, P.P., Almouslem, A.B., Peterson, T.S. & Joppa, L.R. 1999.** Inter- and Intrageneric Chromosome Pairing in Haploids of Durum Wheat. *The Journal of Heredity.* **90**: 437-445.
- Jauhar, P.P. & Chibbar, R.N. 1999.** Chromosome-mediated and direct gene transfers in wheat. *Genome* **42**:570-583.
- Jensen, C.J. 1977.** Monoploid production by chromosome elimination. In: **Reinert J. & Bajaj, Y.P.S.** (eds), Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture. Springer, Berlin Heidelberg New York. Pp.299-331.
- Jiang, J., Friebe, B. & Gill, B.S. 1994.** Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica* **73**: 199-212.

- Joppa, L.R., MacNeal, F.H. & Berg, M.A. 1968.** Pollen production and pollen shedding of hard red spring (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) and durum (*T. durum* Desf.) wheats. *Crop Sci* **8**:487-490.
- Kellou, K. 2003.** Sauvetage d'embryons issus des croisements *Triticum durum* Desf. x *Aegilops geniculata* Roth. et *Triticum durum* Desf. x *Agropyron repens* (L.) Pal. Beauv. Thèse de Magistère. Univ. Constantine.
- Kerby, K. & Kuspira, J. 1988.** Cytological evidence bearing on the origin of the B genome in polyploid wheats. *Genome* **30**: 36-43.
- Khan, M.N., Heyne, E.G. & Arp, A.L. 1973.** Pollen distribution and the seed set on *Triticum aestivum* L. *Crop Sci.* **13**: 223-226.
- Khush, G.S. 1999.** Green Revolution: preparing for the 21st Century. *Genome* **42**:646-655.
- Kihara, H. 1937.** Genomanalyse bei *Triticum* and *Aegilops*.VII. Kurze Übersicht über die Ergebnisse der Jahre 1934-36. (In German.) Mem. Coll. Agric. Kyoto Imp. Univ. **41**:1-61.
- Kihara, H. 1940.** Verwandtschaft der *Aegilops*-Arten im lichte der Genomanalyse. Ein Überblick. (In German.) *Der Züchter* **12**:49-62
- Kihara, H. 1944.** Discovery of the DD-analyser, one of the ancestors of vulgare wheat. (in Japanese.) *Agric.Hort.***19**:13-14.
- Kihara, H. 1946.** Genomanalyse bei *Triticum* and *Aegilops*. IX Systematischer Aufbau der Gattung *Aegilops* auf genomanalytischer Grundlage. *Cytologia*, **14**: 135-144.
- Kihara, H. 1954.** Considerations on the evolution and distribution of *Aegilops* species based on the analyser-method. *Cytologia* (Tokyo) **19**:336-357.
- Kimber, G. 1988.** Evolutionary patterns in the wheat group. In **T.E. Miller and R.M.D. Koebner** (eds). Proc. 7<sup>th</sup> Int. Wheat Genet. Symp., Cambridge, England. 13-18 July 1988. Inst. of plant Sci. Res., Cambridge, UK. Pp.47-51.
- Kimber, G. & Abu-Bakar, M. 1981.** The genomic relationships of *Triticum dichasians* and *T. umbellulatum*. *Z. Pflanzenzuchtg.* **87**: 265-273.

- Kimber, G., Pignone, D. & Sallee, P.J. 1983.** The relationships of the M and M<sup>U</sup> genomes of *Triticum*. *Can J Genet Cytol* **25**: 509-512.
- Kimber, G. & Feldman, M. 1987.** wild wheat: an introduction. Special Report 353. College of Agric., Univ. of Missouri, Columbia. Pp.99-103.
- Kimber, G. & Sears, E.R. 1987.** Evolution in the genus *Triticum* and the origin of cultivated wheat In: **E.G.Heyne** (eds), wheat and wheat improvement. 2<sup>nd</sup> ed. Pp.154-164.
- Kimber, G. & Tsunewaki, K. 1988.** Genome symbols and plasma types in the wheat group. In: **Miller TE, Koebner RMD** (eds), Proc 7<sup>th</sup> Int Wheat Genet Symp. Bath Press, Bath, UK. Pp 1209-1210.
- Kimber, G. & Yen, Y. 1988.** Analysis of pivotal-differential evolutionary patterns. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* **85**:9106-9108.
- Kushnir, U. & Halloran, G.M. 1981.** Evidence for *Aegilops sharonensis* Eig as the donor of the B genome of wheats. *Genetics* **99**: 495-512.
- Laemmli, U.K. 1970.** "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4." *Nature*.**227** (259): 99-680.
- Lawrence, G.J. & Shepherd, K.W. 1981.** Chromosomal location of genes controlling seed proteins in species related to wheat. *Theor. Appl. Genet.* **59**: 25-31.
- Lilienfeld, F.A. 1951.** Genome analysis in *Triticum* and *Aegilops*.X. Concluding review. *Cytologia* **16**: 101-123.
- Lin, Y. 2001.** Risk assessment of Bar gene transfer from B and D genomes of transformed wheat (*Triticum aestivum*) lines to jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*).*J.Anhui Agril.Univ.***28**:115-118.
- Lonchamp, J.-P. 2007a.** [www.dijon.inra.fr/bga/hyppa/hyppa-f/aegge\\_fh.htm](http://www.dijon.inra.fr/bga/hyppa/hyppa-f/aegge_fh.htm) , 12/04/2007.
- Lonchamp, J.-P. 2007b.** [www.dijon.inra.fr/bga/hyppa/hyppa-f/aegtr\\_fh.htm](http://www.dijon.inra.fr/bga/hyppa/hyppa-f/aegtr_fh.htm) , 10/04/2007.

- Lukaszewski, A.J. & Gustafson, J.P. 1987.** Cytogenetics of Triticale. In: **Janick, J.** (eds), plant Breeding Reviews, Vol.5., AVI Publishing, New York. Pp.41-94.
- Mallory-Smith, C.A., Hansen, J. & Zemetra, R.S. 1996.** Gene transfer between wheat and *Aegilops cylindrica*. In **proc. 2<sup>nd</sup> Int. Weed Control Congress**, Copenhagen. 25-28 June. Dep. of Weed Control and Pesticide Ecology, Copenhagen. Pp. 441-445.
- Mena, M., Orellana, J., Lopez-Brana, I., Garcia-Olmedo, F. & Delibes, A. 1993.** Characterization of wheat/*Aegilops ventricosa* introgression and addition lines with respect to the M<sup>v</sup> genome. *Theor Appl. Genet.* **86** : 197-204.
- Mergeai, G., Schmit, V., Lecomte, B. & Baudoin, J.P. 1997.** Mise au point d'une technique de culture *In vitro* d'embryons immatures de *Phaseolus*. *Biotechnol. Agrn. Soc. Environ.* **1** : 49-58.
- Morrison, L.A., Riera-Lizarazu, O., Crémieux, L. & Mallory, C.A. Smith. 2002a.** Infestation of jointed goatgrass and its hybrids with wheat in Oregon wheat fields. *Weed Sci.* **50**: 134-144.
- Morisson, L.A., Riera-Lizarazu, O., Crémieux, L. & Mallory, C.A. Smith. 2002b.** Jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host) x Wheat (*Triticum aestivum* L.) hybrids: Hybridization dynamics in Oregon wheat fields. *Crop Sci.***42**:1863-1872.
- Nakai, Y. 1981.** Origin and differentiation of *Aegilops triuncialis* L. as determined by Esterase Isozyme Analysis. *Theor. Appl. Genet.* **59**, 169-175.
- Nishikawa K., 1983.** Species relationship of wheat and its putative ancestors as viewed from isozymes variation. Proceeding of the 6<sup>th</sup> International Wheat Genetic Symposium, November 28 December, Kyoto, Japan. Edited by S.Sakamoto. Pp.59-63.
- Ourly, F.X., Pichon, M. & Rousset, M. 1993.** Une comparaison entre 2 méthodes d'haploïdiploïdisation chez le blé tendre : l'androgénèse *in vitro* et le croisement interspécifique avec le maïs. *Agronomie* **13**: 95-103.
- Patnaik, D. & Khurana, P. 2001.** Wheat Biotechnology: A mini review *Electronic J. Biotechnology.* **4**(2):1-24.

- Payne, P.I. & Coperfield, K.G. 1979.** Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta*. **145**: 83-88.
- Peterson, R.F. 1965.** Wheat : Botany, cultivation, and utilization. Inter-science publ., New York.
- Pickering, R.A. 1979.** Further investigations on partial incompatibility in cross between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum* L. In: **Zeven, A.C. & Van Harten, A.M.** (eds), Proc, Conf. Broadening. Genet. Base Crops, Wageningen 1978. Pudoc. Wageningen. Pp 319-325.
- Quezel, P. & Santa S., 1962.** Nouvelle Flore de l'Algérie des régions désertiques méridionales. CNRS. Tome II. Pp: 1027-1028.
- Rajki, E. & Rajki, S. 1966.** Research work on hybrid wheat at Martvásár. *Acta Agron. Acad. Sci. Hung.* **15**: 199-214.
- Raupp, W.J., Singh, S., Brown-Guedira, G.L. & Gill, B.S. 2001.** Cytogenetic and molecular mapping of the leaf resistance gene Lr 39 in Wheat. *Theor appl Genet.* **102**: 347-352.
- Rekika, D., Zaharieva, M., Stankova, P., Xu, X., Souyris, I. & Monneveux, P. 1998.** Abiotic stress tolerance in *Aegilops* species. In: **M.M. Nachit et al. Durum Research Network, Proceeding of the SEWANA**, South Europe, West Asia and North Africa, ICARDA, Aleppo, Syria. Pp. 113-118.
- Repellin, A., Baga, M., Jauhar, P.P. & Chibbar, R.N. 2001.** Genetic enrichment of cereal via alien gene transfer: New challenges. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **64**: 159-183.
- Rhodes, C.A., Pierce, D.A., Mettler, I.J., Mascarenhas, D. & Detmer, J.J. 1988.** Genetically transformed maize plants from protoplasts. American Association for the Advancement of Science Vol. 240. no. 4849.Pp. 204-207.
- Rieseberg, L.H. & Wendel, J.F. 1993.** Introgression and its consequences in plants. In: **R.G. Harrison (Eds)**, Hybrid zones and the evolutionary process. Oxford University Press, Oxford. Uk. Pp. 70-109.
- Riley, R. & Chapman, V. 1958.** Genetic control of the cytogenetically diploid behavior of hexaploid wheat. *Nature* **182**:713-715.



- Riley, R., Chapman, V. & Kimber, G. 1959.** Genetic control of chromosome pairing in intergeneric hybrids with wheat. *Nature* **183**:1244-1246.
- Rivoal, R., Dosba, F., Jahier, J. & Pierre, J.S. 1986.** Les lignées d'addition Blé-*Aegilops ventricosa* Tausch. Etude de la localisation chromosomique à l'égard d'*Heterodora avenae* Woll. *Agronomie* **6** :143-148.
- Rodriguez-Quijano M, Nieto-Taladriz M.T. & Carrillo J.M. 2001.** Polymorphism of high molecular weight glutenin subunits in three species of *Aegilops*. *Genetic Resources and crop Evolution* **48** : 599 – 609.
- Sankary, M.N. 1990.** Ecogeographical survey of *Aegilops* in Syria. In **Srivastava, J.P. & Damania, A.B.**(eds), *Wheat genetic resources: Meeting diverse needs*. John Wiley & Sons, Chichester, UK. Pp.147-160.
- Sarker, P. & Stebbins, G.L. 1956.** Morphological evidence concerning the origin of the B genome in Wheat.*Am.J.Bot.***43**:297-304.
- Sears, E.R. 1941.** Amphiploids in the seven-chromosome *Triticineae*. Missouri Agric.Exp.Stn.Res.Bull.336.Uni.Of.Missouri, Columbia, Mo.
- Sears, E.R. 1956.** The B genome of *Triticum*. *Wheat Info. Serv.* **4**: 8-10.
- Sears, E.R. 1976.** Genetic control of chromosome pairing in wheat. *Annu.Rev.Genet.***10**: 31-51.
- Sears, E.R. & Okamoto, M. 1958.** Intergenomic chromosomal relationships in hexaploid wheat. In: In Generics Society of America&Genetics Society of Canada (eds), *Proc.x Intl.Cong.Genet.VolIII, Montreal, Canada.* Aug.20-27..Univ.of Toronto Press, Ontario, Canada. Pp.258-259.
- Seefeldt, S.S., Zemetra, R.S., Young, F.L. & Jones, S.S. 1998.** Production of herbicide-resistant jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) X wheat (*Triticum aestivum*) hybrids in the field by natural hybridization. *Weed Sci.* **46**: 632-634.
- Sharma, H.C. & Gill, B.S. 1983.** Current status of wide hybridization in wheat. *Euphytica* **32** : 17-31.
- Sharma, C.H. 1999.** Embryo rescue following wide crosses. In: **Hall, R.D.** (eds), *Methods in molecular biology, vol. 111. Plant cell culture protocols*. Human press Inc., Totowa, NJ. Pp. 293-307.

- Sinhg, N.K. & Shepherd, K.W. 1988.** Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. 1. Genes on the short arms of group 1 chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* **75** (4):628-641.
- Singh N. K, Shepherd, K. W. & Cornish G. B. 1991.** A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *J. Cereal. Sci.* **14**: 203-208.
- Snyder, J., Mallory-Smith, C., Balter, S., Hansen, J. & Zemetra, R.S. 2000.** Seed production on *Triticum aestivum* by *Aegilops cylindrica* hybrids in the field. *Weed Sci.* **48**: 588-593.
- Toriyama, K., Arimoto, Y., Uchimiya, H. & Hinata, K. 1988.** Transgenic rice plants after direct gene transfer into protoplasts. *Bio/Technol.* **6**: 1072-1074.
- Tsunewaki, K. & Ogihara, V. 1983.** The molecular basis of genetic diversity among cytoplasms of *Triticum* and *Aegilops* species. II. On the origin of the polyploidy wheat cytoplasms as suggested by chloroplast DNA restriction fragment patterns. *Genetics* **109**:155-171.
- Valkoun, J., Hammer, K., kucerova, D. & Bartos, P. 1985.** Disease resistance in the genus *Aegilops* L. Stem rust, leaf rust and powdery mildew. *Kulturpflanze* **33**: 133-153.
- Van Slageren M.W. 1994.** Wild Wheat: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. Et Spach.) Eig. (*Poaceae*) . Wageningen Agricultural Universitu, International centre for Agriculttiral Research in the Dry Areas:Veenman Drukkers, Wageningen, Pp.512.
- Vasil, I.K. 1987.** Developping cell and tissue culture systems for the improvement of cereals and grass crops. *J. Plant Physiol.*128:193-197.In: **Repellin, A., Baga, M., Jauhar, P.P. & Chibbar, R.N. 2001.** genetic enrichment of cereal via alien gene transfer: New challenges. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **64**: 159-183.
- Vasil, V. & Vasil, I.K. 1980.** Isolation and culture of cereals protoplasts. II. Embryogenesis and plantel formation from protoplasts of *Pennisetum americanum*. *Theor. Appl. Genet.* **56**: 97-99. In: **Repellin, A., Baga, M., Jauhar, P.P. & Chibbar, R.N. 2001.** genetic enrichment of cereal via alien gene transfer: New challenges. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **64**: 159-183.

- Vilain, M. 1989.** La production végétale. Volume 2. La maîtrise technique de la production. (eds) **Technique et documentation – Lavoisier**. Paris. Pp. 361.
- Waines, J.G. & Hegde, S.G. 2003.** Intraspecific gene flow in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by reproductive biology and pollination ecology of wheat flowers. *Crop Sci.* **43**:451-463.
- Wang, Z.N., Hang A., Hansen, J., Burton, C., Mallory-Smith, C.A. & Zemetra, R.S. 2000.** Visualisation of A and B genome chromosomes in wheat (*Triticum aestivum* L.) X jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host) backcross progenies. *Genome* **43**:1038-1044.
- Wang, Z.N., Zemetra, R.S., Hansen, J., Mallory-Smith, C.A. 2001.** The fertility of wheat X jointed goatgrass hybrid and its backcross progenies. *Weed Sci.* **49**:340-345.
- Whitton, J., Wolf, D.E., Arias, D.M., Snow, A.A. & Rieseberg, L.H. 1997.** The persistence of cultivar alleles in wild populations of sunflowers five generations after hybridization. *Theor Appl Genet* **95**: 33-40.
- Williamson, M. 1994.** Community response to transgenic plant release: predictions from British experience of invasive plants and feral crop plants. *Mol Ecol* **3**: 75-79.
- Yu, M.Q. & Jahier, J. 1992.** Origin of S<sup>v</sup> genome of *Aegilops variabilis* and Utilization of the S<sup>v</sup> as analyser of S Genome of the *Aegilops* species in the *Sitopsis* section. *Plant breeding.* **108**: 290-295.
- Zaharieva, M., Gaulin, E., Havaux, M., Acevedo, E. & Monneveux, P. 2001.** Drought and Heat Responses in the Wild Wheat Relative *Aegilops geniculata* Roth: potential interest for Wheat improvement. *Crop sci.* **41**: 1321-1329.
- Zaharieva, M., Dimov, A., Stankova, P., David, J. & Monneveux, P. 2003.** Morphological diversity and potential interest for Wheat improvement of three *Aegilops* L. species from Bulgaria. *Genetic Ressources and Crop Evolution* **50**: 507-517.
- Zaharieva, M. & Monneveux P. 2006.** Spontaneous Hybridisation between Breed Wheat (*Triticum aestivum* L) and its Wild Relatives in Europe. *Crop Sci.* **46**:512-527.

- Zemetra, R.S., Hansen, J. & Mallory-smith, C.A. 1998.** Potential for gene transfer between wheat (*Triticum aestivum*) and jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*). *Weed Sci.***46**:313-317.
- Zhang, W. & Wu, R. 1988.** Efficient regeneration of transgenic plants from rice protoplasts and correctly regulated expression of the foreign gene in plants. *Theor. Appl. Genet.* **76**: 835-840.
- Zhukovsky, P.M. 1928.** A critical systematical survey of the species of the genus *Aegilops* L. *Bull. Bot. Genet. Plant Breed.* **18**:417-609.
- Zohary, D. & Feldman. M. 1962.** Hybridization between amphiploids and evolution of polyploids in the Wheat (*Aegilops -Triticum*) group. *Evolution* **16**:44-61.

## Annexe 1 : Températures minimales et maximales au cours de l'essai.

### 1- Moi de Mars

DATE	TEMPERATURE MINIMALE EN °C	TEMPERATURE MAXIMALE EN °C
01/03/2007	4	21,5
02/03/2007	3,5	21
03/03/2007	5,3	22,3
04/03/2007	6	25
05/03/2007	6,1	22,8
06/03/2007	5,5	18
07/03/2007	9	17,1
08/03/2007	5	11,4
09/03/2007	7,4	11,5
10/03/2007	6,5	10,2
11/03/2007	3,5	9
12/03/2007	6,4	8,6
13/03/2007	5,3	11,5
14/03/2007	2	15,8
15/03/2007	3,8	17,4
16/03/2007	4,4	17,6
17/03/2007	7,5	11
18/03/2007	4	14,6
19/03/2007	2,5	18,6
20/03/2007	4	7,8
21/03/2007	-0,5	7,2
22/03/2007	-0,1	6,5
23/03/2007	0,5	8,5
24/03/2007	1,5	15,2
25/03/2007	3	15,6
26/03/2007	3	15,3
27/03/2007	3	17,5
28/03/2007	6,5	11,6
29/03/2007	3,8	14,5
30/03/2007	5	13,2
31/03/2007	1,6	18,1

## 2- Moi d' Avril

DATE	TEMPERATURE MINIMALE EN °C	TEMPERATURE MAXIMALE EN °C
01/04/2007	5,8	21,5
02/04/2007	5,3	20,4
03/04/2007	8	15,4
04/04/2007	5,5	14,6
05/04/2007	4,6	14,3
06/04/2007	4,1	16,6
07/04/2007	5,1	19,5
08/04/2007	5,5	20,6
09/04/2007	7,6	23,5
10/04/2007	10,6	20,1
11/04/2007	10	23,4
12/04/2007	10,5	23,5
13/04/2007	11,4	16,5
14/04/2007	9	17,7
15/04/2007	6,5	16,2
16/04/2007	8,3	15,3
17/04/2007	8,2	18,3
18/04/2007	9,2	20,4
19/04/2007	9,8	15
20/04/2007	11	15,6
21/04/2007	5,5	20,8
22/04/2007	8,6	23
23/04/2007	11	22,5
24/04/2007	9	16,8
25/04/2007	10,6	19,4
26/04/2007	8,2	19,2
27/04/2007	9,5	21
28/04/2007	9,5	21,4
29/04/2007	13	19,4
30/04/2007	5,2	18,8

### 3-Moi de Mai

DATE	TEMPERATURE MINIMALE EN °C	TEMPERATURE MAXIMALE EN °C
01/05/2007	6	21
02/05/2007	10,5	18
03/05/2007	11	20,1
04/05/2007	10,2	18,4
05/05/2007	7,5	17,7
06/05/2007	4	17,6
07/05/2007	6,8	16,8
08/05/2007	9,9	17
09/05/2007	5	22,2
10/05/2007	7,5	24,7
11/05/2007	7,5	25,8
12/05/2007	8,4	28
13/05/2007	10	30,5
14/05/2007	10,4	26,6
15/05/2007	9	20,6
16/05/2007	9	19,1
17/05/2007	4	19,6
18/05/2007	9	21,5
19/05/2007	6	25,6
20/05/2007	11	33
21/05/2007	14	31,3
22/05/2007	12	33,7
23/05/2007	15,5	29,6
24/05/2007	14,6	34,3
25/05/2007	14	36,5
26/05/2007	13,2	27,1
27/05/2007	11	21,2
28/05/2007	8,9	21,7
29/05/2007	6	22,5
30/05/2007	7	25
31/05/2007	9,5	31,2

## **Annexe 2 : Solution mère d'électrophorèse (SDS-PAGE)**

### **Solution mère d'acrylamide à 35%** (à préparer avec gants et masque)

Acrylamide	35 g
Eau distillée	100 ml

### **Solution mère de bisacrylamide à 2%** (à préparer avec gants et masque)

Bisacrylamide	2 g
Eau distillée	100 ml

### **Solution stock de SDS à 10%**

Sodium Dodécyl Sulfate	10 g
Eau distillée	100 ml

### **Solution d'APS à 1%** (à préparer ex temporairement)

APS (Ammonium Per Sulfate)	0.1 g
Eau distillée	10 ml

### **Tampon Tris HCl pH 8.8** (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	60.57g
Eau distillée	qsp400 ml
Ajuster à pH 8.8 avec du HCl fumant	8 à 10 ml
Eau distillée	qsp500 ml

### **Tampon Tris HCl pH 6.8** (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	30.285 g
Eau distillée	qsp200 ml
Ajuster à pH 8.8 avec du HCl fumant	19.5 ml
Eau distillée	qsp250 ml



### **Tampon d'électrophorèse**

Glycine	70.55 g
Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	15 g
SDS	5 g
Eau distillée	qsp 5000 ml

### **Solution de coloration (pour deux gels)**

TCA 60%	100 ml
Solution mère de Bleu de Coomassie R250	25 ml
Eau distillée	qsp 500 ml

### **Solution mère de bleu de Coomassie R250**

Bleu de Coomassie R250	10 g
Ethanol 95°	qsp 1000 ml