

***Etude de la variabilité génétique du blé dur
(Triticum durum, Desf), pour la tolérance au
froid***

Présentée par : MEKHLLOUF Abdelhamid

Rapporteur : Pr. BOUZERZOUR H. UFAS Sétif

Soutenue le : 24 janvier 2009.

Devant le jury : Président : Pr. AÏDAOUI A. INA El harrach Examineurs : Pr. ABDELKRIM H INA El harrach Dr. BEMMAHAMED A. UFAS Sétif

Table des matières

Remerciements . .	5
Résumé . .	6
Summary . .	7
ص-خ-جل ا . .	8
Liste des abreviations . .	9
Introduction Générale . .	10
Chapitre I. Revue bibliographique . .	12
I.1. Origine génétique et géographique du blé dur . .	12
I.2. Superficie et production du blé dur . .	12
I. 3. Les contraintes à la production du blé dur . .	14
I. 3.1. Les techniques culturales . .	14
I. 3.2. Le matériel végétal . .	14
I.4. Les contraintes climatiques . .	15
I.4.1. L'action des basses températures sur la plante . .	15
I.4.2. tolérance aux basses températures . .	17
I.4.3. la tolérance au froid et le marquage moléculaire . .	22
Chapitre II. Ecophysiologie du blé dur (<i>Triticum. durum</i> Desf.) sous climat semi- aride . .	23
Introduction . .	23
II.1.Objectifs . .	23
II.2.Matériel et méthodes . .	24
II.2.1.Matériel . .	24
II.2.2.Méthodes . .	24
II.3.Résultats . .	28
II.3.1.Phénologie . .	28
II.3.2. Rendement en grains . .	29
II.4. Discussion . .	34
Conclusion . .	35
Chapitre III. Etude de la variabilité génétique de la tolérance aux basses températures et des performances agronomiques . .	36
Introduction . .	36
III.1. Objectifs . .	37
III.2. Matériel et méthodes . .	37
III.2.1. Matériel . .	37
III.2.2. Méthodes . .	38
III.2.3. Analyse des données . .	39
III.3. Résultats . .	40
III.3.1. Effet de l'environnement sur l'expression des caractères morphologiques . .	40
III.3. 2. Réponses génotypiques aux basses températures . .	46
III.3.3. Liaisons entre le comportement vis-à-vis des basses températures et les performances agronomiques de plein champ . .	49

Conclusion . .	55
Chapitre IV. Expression des protéines sous le choc du froid . .	57
Introduction . .	57
IV.1. Objectif de l'étude . .	57
IV.2. Matériel et méthodes . .	58
IV.2.1. Matériel végétal et conduite de l'expérience . .	58
IV.2.3. Mesures . .	58
IV.2.4. Analyses statistiques . .	59
IV. 3. Résultats et discussion . .	60
IV.3.1. Teneur en chlorophylle . .	60
IV.3.2. teneurs en protéines solubles . .	62
IV.3.3. SDS-PAGE . .	64
Conclusion . .	66
Références bibliographiques . .	70

Remerciements

J'exprime ma sincère reconnaissance à tous ceux qui ont, de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur BOUZERZOUR Hamena professeur à l'Université de Sétif de m'avoir encadré et suivi mon travail durant toutes ces années, malgré son plan de charge. Qu'il trouve mes sincères remerciements et gratitude.

Je tiens par la même à remercier vivement Le Docteur Feliachi K. Directeur de l'INRAA de m'avoir aidé en plusieurs circonstances.

Mes plus vifs remerciements à Monsieur le professeur AÏDAOUI Abdellah d'avoir accepté de présider le jury et de juger ce travail.

Mes remerciements vont également, au Professeur ABDELKRIM Hassen Professeur à l'INA d'avoir accepté de corriger et juger ce travail. Au Dr. BEMMAHAMED A. maître de conférence à l'Université de Sétif d'avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie de mon jury.

Enfin ma profonde gratitude va à Monsieur ACHIRI A., responsable de l'Unité INRAA de Sétif pour les facilités et aides accordées tout au long de ces années de recherche. Mes vifs remerciements vont aussi à mes collègues ABBAS K., HADDAD D., ACHOUR F., HANNACHI A., OULD FERROOUKH M.E., DEHBI F., Oufroukh A., ADJABI A., pour leur aide et grande disponibilité.

Je remercie également, Monsieur DJEGHABA F., Directeur de la Ferme Expérimentale ITGC de Sétif, ainsi que l'ensemble du personnel de la Station Merci à MM. MAKHLOUF M., ZERARGUI H., avec lesquels nous échangeons régulièrement tout au long de ces années.

Vifs remerciements à mon neveu Zitouni et à ma nièce Naouel pour leur précieuse aide.

Résumé

La présente étude a été réalisée durant les campagnes agricoles 1999-00 à 2002-03 et 2006-07, sur le site de la station expérimentale de l'ITGC de Sétif et le laboratoire de l'INRAA Unité de Sétif. L'étude traite de l'écophysiologie du blé dur, où nous avons évalués deux génotypes Mbb et Waha sur une période de treize campagnes. En moyenne, la variété Waha (type précoce et alternative) présente l'avantage de valoriser mieux les milieux de culture et tire à son profit un différentiel en rendement en grains significativement supérieurs à celui de MBB (Tardive et demi-hiver). L'étude de la variabilité génétique pour la tolérance au froid est réalisée sur douze génotypes de blé dur (*Triticum durum*, Desf), dans un dispositif en blocs randomisés avec trois répétitions. Les résultats indiquent une grande variation entre année et une interaction génotype année sur l'ensemble des caractères agronomiques mesurés. Les tests physiologiques de froid, ont comme objectifs d'identifier au sein d'une variabilité génotypique les lignées tolérantes au stress provoqué par les basses températures. Les résultats des tests révèlent des réponses génotypiques très variables. La tolérance au froid a été déterminée chez les lignées précoces et également chez les tardives. Les génotypes Cyprus₁, Cyprus₂ se sont distingués par des niveaux de tolérances aux froids à travers les tests de choc thermique. Aucune liaison n'est enregistrée entre ces tests et les performances agronomiques. L'analyse du changement de la composition protéique foliaire des plantules de blé dur soumises au choc du froid, avec et sans acclimatation est réalisée sur trois génotypes Martondur₃, Waha et Martondur₃/Waha-L28. L'objectif est de mettre en relief l'effet de l'endurcissement sur la tolérance au froid et les changements induits par ce facteur. Les résultats indiquent des effets de stress et d'interaction génotype stress pour le contenu en chlorophylle et la teneur en protéines. L'analyse des profils protéiques par électrophorèse révèlent des différences quantitatives et qualitatives entre les traitements et variétés.

Mots clés : *triticum durum*, caractères agronomiques, tests physiologiques, gel, froid, protéines, électrophorèse

Summary

This study was conducted during the crop years 1999-00 to 2002-03 and 2006-07, at the site of the Experimental Station of Sétif and ITGC of the laboratory of the INRA Unit de Setif. The study of the ecophysiology of durum wheat, or we have evaluated two genotypes MBB, Waha and over a period of thirteen campaigns. On average, the variety Waha (type early and alternative) has the advantage of better value the culture media and derives its profit differentials in grain yield significantly higher than that of MBB (and semi-late winter). The study of genetic variability for cold tolerance is performed on twelve genotypes of durum wheat (*Triticum durum*, Desf) in a randomized block with three replicates. The results show a large variation between years and genotype years on all agronomic traits measured. The cold physiological tests, their purpose is to identify the variability within genotypic lines tolerant to stress caused by low temperatures. Test results reveal genotypic responses vary. Cold tolerance was determined in the early lines and also in time. Genotypes Cyprus1, Cyprus2 are distinguished by levels of tolerance to cold in the thermal shock tests. No binding is observed between these tests and the agronomic performance. The analysis of the change in leaf protein composition of durum wheat seedlings subjected to cold shock, with and without acclimation was carried out on three genotypes Martondur3, Waha and Martondur3/Waha-L28. The aim is to highlight the effect of hardening on cold tolerance and changes induced by this factor. The results indicate the effects of stress and stress-genotype interaction for the content of chlorophyll and protein content. The analysis of electrophoresis' protein profiles reveals quantitative and qualitative differences between treatments and varieties.

Keywords : *Triticum durum*, agronomic characters, physiological tests, frost, cold, protein electrophoresis

ص-خل-ملا

تمت هذه الدراسة خلال المواسم الزراعية 1999-00 إلى 2002-03 و 2006-07. في محطة التجارب للمعهد تنمية المحاصيل الحقلية ITGC، والمخبر التابع لوحدة البحث للمعهد الوطني للأبحاث الزراعية INRAA- سطيف.

البحث تطرق إلى دراسة أكو فيزيولوجية لنبات القمح. تمت دراسة صنفين له هما "محمد بن بشير وواحة" في مدة زمنية تقدر بـ 13 فصل زراعي. عامة الصنف ولحة (مبكر و وديل ربيعي) له ميزة قيمة في الاستغلال الأوسع للمحيط الزراعي ويسجل فارق في المردود حب أكثر بكثير من محمد بن بشير (متأخر وشبه سنوي).

دراسة الصوع الجني للتسامح للبرودة يقوم على اثني عشر من الأنماط الجينية القمح الصلب (*Desf, Triticum durum*) في تصميم القطع الموزعة عشوائيا وفق ثلاث تكرارات. حيث أظهرت النتائج وجود تباين كبير بين سنة وسنة و تباين وراثي - سنوي على جميع الصفات الزراعية الا ان تمت قياسها. اختار الفيزيولوجي للبرودة، الغرض منه هو التعرف على التباين داخل الأصناف والتأكيد على الأنماط المساهمة للبرودة الفاجحة عن درجات الحرارة المنخفضة. وتكشف نتائج الاختبار انه يوجد فوارق جينية. المقاومة للبرودة توجد في الأصناف المبكرة والمتأخرة التسنبل. الأصناف Cyprus1 غيرس1، وغيرس2، Cyprus2 تتميز بمستويات التسامح للبرد في اختبارات الصدمات الحرارية. لا يوجد ارتباط بين هذه الاختبارات لنتائج الزراعة.

تحليل التغير في تكوين بروتين السورق للنباتات القمح الصلب المعرضة لصدمة البرودة، مع ودون التأقلم نفذ على ثلاث اصناف Martondur3 مرطنديبر3، Waha، واحة، مرطنديبر3/ واحة ل28 Martondur3/Waha- L28. والهدف من ذلك هو تسليط الضوء على تأثير البرد على الشدد والتسامح، والتغيرات الفاجحة عن هذا العامل. وتشير النتائج من آثار التوتر والإجهاد وراثي التفاعل عن محتوى الكلوروفيل ومحتوى البروتين. تحليل البروتينات electrophoretic تكشف ملامح الكمية والشوعية، والفروق بين أنواع الأصناف.

الكلمات الرئيسية: تتركوم دروم، الصفات الزراعية، اختبارات فيزيولوجية الصقيع والبرد، البروتين الكتروفين

Liste des abreviations

FAO : Organisation des nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.
MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
INRAA : Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie.
ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures.
T₅₀ : Température létale qui détruit 50%.
ABA: Acide Abscissique
ATPase :
ARNm : acide ribonucléique
kDa : kilodalton
ADNc : acide désoxyribose nucléique
F1, F2, F3 : Générations de lignées en ségrégation.
BC1 : backcross, croisement retour avec le parent 1.
SEA : *Station Expérimentale Agronomique*.
MBB : Mohammed Ben Bachir
W : Waha
G3 : Génération de multiplication de la semence
T_{max} : Température maximale journalière (°C)
T_{min} : température minimale journalière (°C)
T_b : température minimale journalière à partir de laquelle la croissance est permise
Wanadin : West Asia and north Africa SIA
USDA : United state of America
SF : Surface Foliaire
PVG (j) : Durée de la phase remplissage du Grain.
HT (cm) : Hauteur de chaume
NE: Nombre d'Epis
PMG: Poids de 1000 Grains.
BIO : Biomasse aérienne.
NGE : Nombre de Grains par Epi.
RDT : Rendement en grain.
HI: Indice de récolte.
(A): Année
(G) : Génotype
G x A: Interaction Génotype x Année
Ddl : Degré de Liberté
r: Coefficient de Signification.
R² : Coefficient de détermination.
 σ^2_{PV} : variance inter- années de la durée de la phase végétative.
 σ^2_{PMG} : variance inter année du poids de 1000 grains.
 σ^2_{NGE} : variance inter années du nombre de grains par épi.
 σ^2_{RDT} : variance inter années du rendement en grains
CP₁ : Composante principale 1.
CP₂ : Composante principale 2.
CP₃ : Composante principale3.
SDS-PAGE Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécyle sulfate de sodium
SAM : sélection assistée par marqueurs

Introduction Générale

En Algérie, le blé dur (*Triticum durum*, Desf.) est une culture ancestrale qui occupe une importante place dans les habitudes alimentaires des populations rurales et urbaines. La semoule est utilisée dans la fabrication du couscous et de différents types de gâteaux et galettes traditionnels. Le son et la paille sont utilisés en alimentation animale.

La culture du blé dur se pratique sur une large étendue qui va du subhumide à l'aride supérieur. Les emblavements varient, selon les campagnes, de 900.000 à plus 1.200.000 hectares, avec une moyenne de 1.000.000 hectares sur une superficie totale occupée par les céréales de 3.700.000 hectares (MADR, 2005). Plus des deux tiers de ces surfaces sont situés à l'intérieur du pays (Feliachi, 2002).

Les contraintes liées au sol, au climat, aux variétés adoptées et au savoir-faire des agriculteurs limitent les espérances de rendement en grains dans cette région. C'est surtout la variabilité climatique qui affecte puissamment la production de cette culture, production qui varie de 5 à 14 millions de quintaux, selon les années (Feliachi, 2002). La moyenne de rendement en grains, de 8 q ha^{-1} , est considérée comme la plus faible du pourtour méditerranéen (Belaid, 2000).

Les stress abiotiques, sous les conditions culturales des hauts plateaux, causent des dégâts considérables à la culture du blé dur au point on vient à se demander s'il est raisonnable de continuer à pratiquer cette spéculation dans ces régions là. Des alternatives sont d'ailleurs cherchées et mises en œuvre par le ministère de tutelle depuis 1999, pour tenter des dé-localisations et des reconversions dans le cadre du programme national de développement agricole (Feliachi, 2002).

Les contraintes abiotiques mises en cause sont de nature thermique et hydrique. La contrainte thermique, de nature intermittente, intervient très tôt dans le cycle de développement de la plante, sous forme de basses températures et sous forme de températures élevées coïncidant avec la phase de remplissage du grain (Bahlouli *et al.*, 2005).

De nombreuses études ont abordé l'influence de ces contraintes sur la culture des céréales en général et celle du blé dur en particulier et sur les moyens pour en réduire les effets (Kehal, 1974; Belaribi, 1990; Bouzerzour *et Benmmahamed*, 1994; Abbassenne *et al.*, 1998; Fellah *et al.*, 2002, Bahlouli *et al.*, 2005, Chennaoui *et al.*, 2006; Mekhlouf *et al.*, 2006).

La variabilité des fréquences d'apparition de ces contraintes climatiques n'a pas permis d'aboutir à des conclusions très précises qui peuvent être mises en application pour améliorer la production pluviale de ces régions. Les résultats de ces études sont, cependant, unanimes que l'adoption d'une stratégie basée sur l'échappement à ces contraintes permettrait d'améliorer sensiblement la production à court terme.

Cette stratégie a été mise en œuvre dans les programmes de sélection pour obtenir un matériel végétal relativement plus précoce aux stades épiaison et à maturité afin de soustraire la plante aux dégâts du déficit hydrique et des hautes températures de fin de cycle (Ceccarelli *et al.*, 1992; Blum, 1998; Araus *et al.*, 2003; Bahlouli *et al.*, 2005).

L'effet des basses températures hivernales a fait l'objet de nombreuses études dans les pays dont le climat est plus rigoureux (Fowler, 1978 ; Sutka, 1994; Havaux et Lannoye, 1982; Pearce *et al.*, 1996; Single et Marcellos, 1973; Fletcher, 1983; Paulsen et Heine, 1983; Mekhlouf *et al.*, 2006) où cette contrainte est plus fréquente. Les résultats des diverses études indiquent que les variétés résistantes mettent en œuvre divers mécanismes d'ordre morphologiques, phénologiques, physiologiques ou biochimiques pour tolérer et réduire des effets du stress (Araus *et al.*, 1998; Passioura, 2002).

Peu de travaux ont été menés, par contre, sur les effets du froid de type plus tardif qui coïncide avec la floraison de la céréale et dont l'avènement est assez fréquent sur les hauts plateaux Algérien. La sélection du blé dur pour les zones d'altitude doit prendre en considération la présence simultanée de ces deux types de risques climatiques: les basses températures tardives et le stress hydrique et les hautes températures de fin de cycle (Annichiarico *et al.*, 2006).

L'amélioration de la tolérance au froid du matériel végétal précoce est une voie à exploiter pour ces environnements variables. Peu de travaux scientifiques se sont intéressés localement à déterminer l'effet de la durée du cycle végétatif, les seuils mis en cause dans le cas du froid tardif, le degré de la variabilité génétique de la résistance à cette contrainte climatique et les possibilités de son transfert dans un fond génétique adéquat du point de vue durée de cycle de développement et productivité.

Les objectifs de la présente contribution sont d'étudier l'influence de la durée du cycle dans l'échappement des stress abiotiques de fins de cycle, et d'étudier la variabilité génétique de réponse à la contrainte du froid et d'analyser les liaisons avec la phénologie et avec les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques mesurables sur un échantillon de génotypes de blé dur (*Triticum durum*, Desf.).

La thèse s'articule autour de quatre chapitres principaux. Le chapitre I est une revue de la littérature sur la problématique de la culture du blé dur notamment en ce qui concerne les contraintes abiotiques que cette culture rencontre dans les régions arides et semi arides. Dans ce chapitre il est mis l'accent surtout sur les effets des basses températures objet de la thèse. Le chapitre II aborde l'écophysiologie de la culture de blé dur dans la région des hauts plateaux, notamment l'effet de la durée du cycle sur l'adaptation de la variété à la variation climatique et en particulier l'évitement des stress abiotiques. Le chapitre III traite de la relation entre les résultats des tests physiologiques de la tolérance au froid et le comportement en plein champs d'un jeu de variétés de blé dur. Le chapitre IV traite de l'expression des protéines sous l'effet du choc thermique chez deux variétés qui diffèrent significativement pour la tolérance aux basses températures. Enfin la conclusion résume les résultats les plus importants de ce travail et son apport à l'amélioration du blé dur dans la région des hauts plateaux, tels que défini par les travaux initiés au niveau de laboratoire de physiologie végétale de l'UR INRAA de Sétif.

Chapitre I. Revue bibliographique

I.1. Origine génétique et géographique du blé dur

Le blé dur (*Triticum durum*, Desf) est une plante monocotylédone de la famille des graminées. C'est une espèce de constitution génomique tétraploïde ($2n=28= AABB$). Cette plante est cultivée pour son intérêt alimentaire. Elle est appelée *Triticum durum* en raison de la dureté de son grain. Elle tire son origine, selon Konarev et Konarev (1993) du croisement entre les espèces sauvages diploïdes, ayant une garniture chromosomique $2n=14$, *Triticum urartu* ou *Triticum boeoticum* porteurs du génome A^U et A^B et *Aegilops longissima* ou *Aegilops speltaoides* porteurs du génome B^L et B^S .

L'aire de distribution de cette espèce est le sud ouest de l'Asie et les Balkans. Sa domestication, suite aux découvertes archéologiques, remonterait au VII^e millénaire avant JC. Il était cultivé comme mélange avec l'orge et l'engrain dans l'ancienne Egypte (Harlan, 1975). La culture du blé dur est actuellement concentrée dans les pays du bassin méditerranéen, les Dakotas des Etats-Unis, le Canada, et l'Argentine.

I.2. Superficie et production du blé dur

Les efforts déployés en matière de techniques culturales et de sélection génétique réalisés ces dernières décennies, de par le monde, ont conduit à une amélioration significative des rendements qui sont passés de 8.6 q/ha en 1900 à plus 22.4 q/ha actuellement (FAO, 2006). La production mondiale de blé dur est de 29,3 millions de tonnes moyenne annuelle pour la période 1988/97 (ADE, 2000).

Les pays grands producteurs de blé dur dans le monde sont l'Union Européenne avec une moyenne de production de 7,9 millions de tonnes (1987/97). Cette production est le fait de quatre pays membres : l'Italie, la Grèce, la France et l'Espagne, avec une production moyenne annuelle respectivement égale à : 4,1 ; 1,5 ; 1,4 et 0,9 million de tonnes.

En dehors, de la communauté Européenne les autres pays gros producteurs sont : la Turquie, le Canada, les Etats-Unis d'Amérique dont les volumes de production sont respectivement 4,3 ; 4,0 et 2,5 millions de tonnes. En Algérie, le blé dur occupe une place privilégiée suite à son utilisation dans l'alimentation quotidienne de la population, sous diverses formes.

L'aire de culture s'étend du littoral à la limite des hauts plateaux, où il est conduit sous conditions pluviales subissant les effets des contraintes climatiques dont le déficit hydrique et les températures élevées de fin de cycle (Baldy, 1974 ; Bouzerzour et al., 2002).

Examinés sur une période de quinze années les superficies et la production déclarées de blé dur sont données en figure I.1 (MADR, 2005). Bien que la sole emblavée en blé dur soit relativement importante, au regard des superficies réservées à la céréaliculture, les

rendements restent faibles (figure I.2) et la production est irrégulière et en deçà des besoins en augmentation constante (Ceccarelli *et al.*, 1991 ; Annichiarico *et al.*, 2005). La production nationale ne représente à peine que 34%, le reste est couvert par les importations, à partir de l'Europe, des Etats Unis et de l'Argentine qui sont les principaux fournisseurs de l'Algérie.

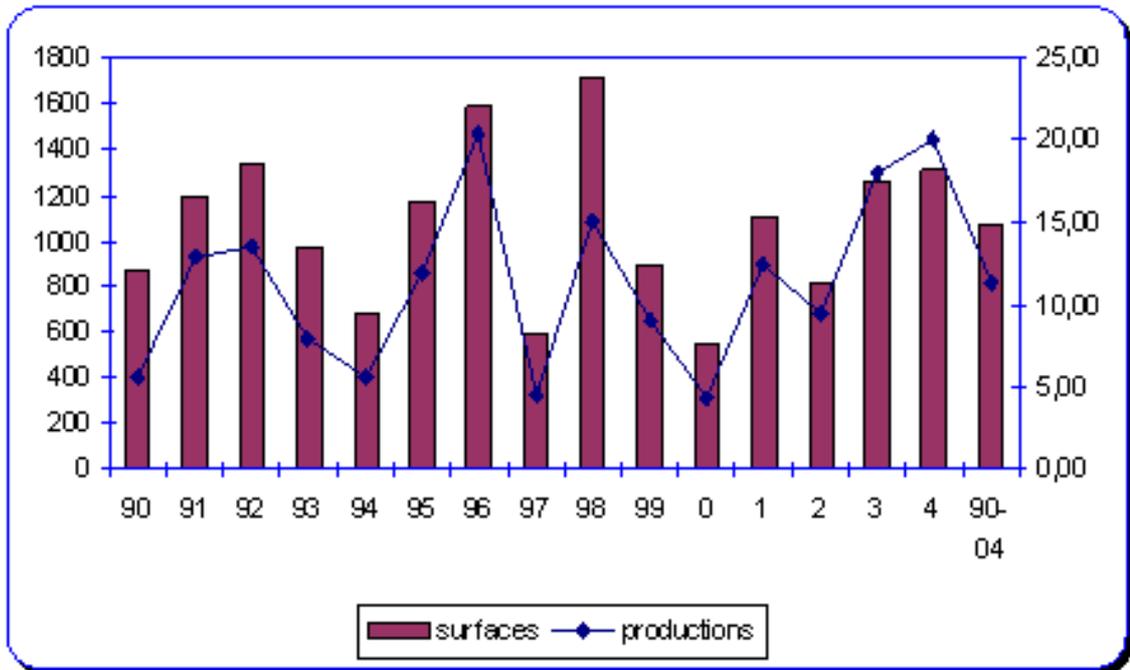


Figure 1 : Surfaces (ha x 10³), productions du blé dur (qx 10⁶) de 1990 à 2004 et moyenne de la période considérée. (MADR, 2005)

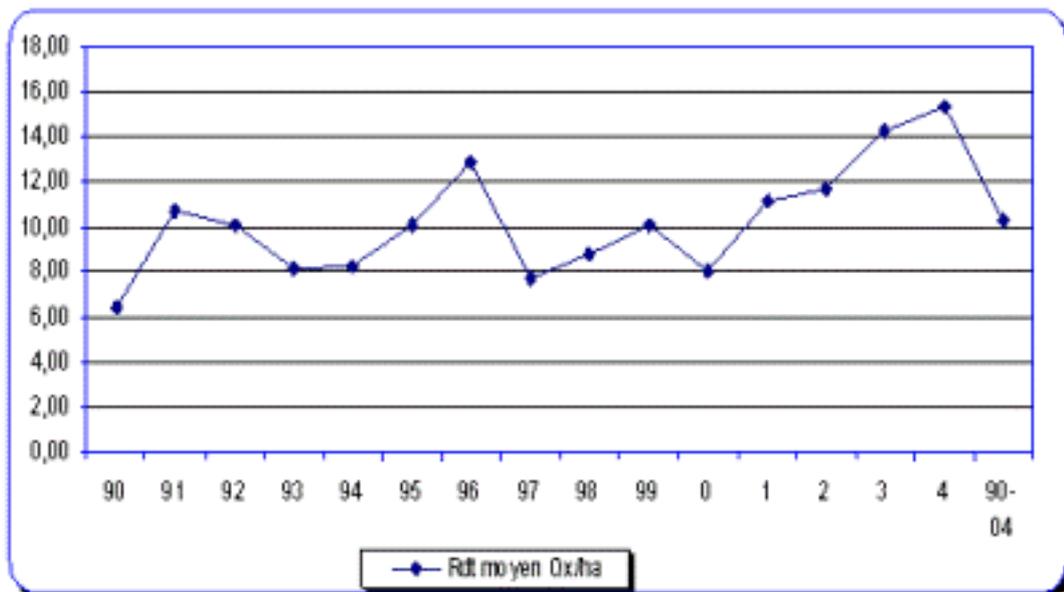


Figure 2 : Rendement moyen annuel du blé dur en qx/ha de 1990 à 2004 et moyenne de la période considérée. (MADR, 2005)

I. 3. Les contraintes à la production du blé dur

I. 3.1. Les techniques culturales

Il est certain que la faiblesse et l'instabilité de la production de la culture du blé dur sont, en grande partie, due à l'irrégularité interannuelle et saisonnière des précipitations du milieu de production. Les techniques culturales appliquées à la céréale, ne sont pas, cependant, toujours ce qu'elles devraient être pour l'atteinte d'objectifs de rendement en grains plus ambitieux.

Dans un tel milieu, les techniques culturales ne sont pas uniquement utiles pour la mise en place de la culture, leur raison d'être est aussi d'aider, autant que possible, la culture à moins souffrir des contraintes climatiques quand elles se présentent. Pour réduire des effets de ces contraintes, il est nécessaire d'adapter les techniques culturales et le matériel végétal à la variabilité climatique du milieu de production.

Les techniques culturales recouvrent la préparation du sol, les dates et densités de semis, le désherbage, la fertilisation et la rotation. Selon Chenaffi *et al.*, (2006) la pratique de l'irrigation déficitaire est, sans aucun doute, la technique dont les effets sont les plus évidents et immédiats, quant à l'augmentation des rendements.

Les innovations technologiques, visant à améliorer la production, doivent réduire des risques climatiques, en maximisant l'infiltration et l'utilisation des eaux de pluies, améliorer la fertilité des sols et réduire les pertes du patrimoine sol. Dans la mesure où, suite à la nature méditerranéenne du climat, 70% des pluies sont enregistrées en hiver, les techniques culturales doivent assurer aussi le stockage du maximum de cette eau dans le profil. La valorisation des eaux pluviales est donc un facteur déterminant de la production sous climat semi-aride.

Dans ce contexte les travaux de Kribaa *et al.*, (2001) montrent que les techniques culturales simplifiées (TCS) gèrent mieux l'humidité du sol que le travail conventionnel avec les charrues à disque ou à soc. L'adoption de l'agriculture de conservation apparaît comme une alternative capable de corriger l'impact négatif du système conventionnel de production.

Il est possible de produire sans labourer dans le contexte de l'aridité méditerranéenne tout en assurant la préservation des ressources naturelles et de l'environnement (Wilhelm *et al.*, 1982; Kribaa *et al.*, 2001; Klein *et al.*, 2002; Saber et Mrabet, 2002; Yalcin *et al.*, 2005). Le développement de la technologie du semis direct est générique d'innovations qui stabilisent les rendements, réduisent les charges, conservent mieux l'eau et préservent la fertilité du sol.

I. 3.2. Le matériel végétal

L'emploi de variétés adaptées, suite à leur cycle de développement plus court, esquivant les contraintes climatiques de fin de cycle, ou bien possédant une résistance intrinsèque, permet aussi de donner une certaine régularité à la production (Giunta *et al.*, 1993; Passioura, 2002). Sous climat semi-aride, l'amélioration des techniques de production est centrée, de plus en plus, autour de l'efficacité d'utilisation de l'eau (Richards *et al.*, 2002; Chenaffi *et al.*, 2006).

La pluviométrie diminuera de 15% à 20% dans les années à venir, suite aux effets des changements climatiques, incitant à protéger les ressources d'eau existantes et à valoriser

la ressource renouvelable (Rijsberman et Mohamed, 2003; Debaeke et Aboudrare, 2004). Parmi les alternatives permettant d'améliorer les rendements en grains, des régions arides et semi arides où les ressources en eau sont rares, figurent le développement et la sélection de variétés plus économes en eau (Richards *et al.*, 2002; Tardieu, 2003; Passioura, 2004).

Des augmentations significatives des rendements sont possibles, dans les milieux contraignants, si la sélection est faite pour l'adaptation spécifique, mettant ainsi en valeur les différents terroirs (Araus *et al.*, 1998; Annichiarico *et al.*, 2002).

La sélection pour la tolérance induit, certes, une baisse des rendements sous contrainte, mais cette baisse est cependant moins importante chez les génotypes tolérants comparativement à celle notée chez les génotypes sensibles (Fellah *et al.*, 2002; Bahlouli *et al.*, 2005).

L'utilisation optimale de l'humidité du sol, par la culture, est liée à l'indice foliaire qui s'établit au cours du cycle et à sa modulation en fonction de l'intensité des stress prévalants (Simane *et al.*, 1993; Tardieu, 2003). Pour un stock donné d'eau du sol, le cultivar adapté et économe en eau est celui qui ne fait pas de consommation de luxe au cours de la pré-anthèse (Siddique *et al.*, 1989; Passioura, 2004).

Il module son indice foliaire pour réguler la transpiration en fonction du degré de son approvisionnement en eau (Simane *et al.*, 1993; Slafer *et al.*, 1999; Richards *et al.*, 2002). Chez les plantes économes en eau, l'évitement de la déshydratation est lié à la réduction des pertes d'eau par les voies cuticulaire et stomatique.

La recherche d'indicateurs de la capacité de la plante à faire une bonne utilisation de l'eau, sous stress hydrique, est un préalable à la réalisation de progrès en matière d'amélioration du rendement sous contrainte hydrique (Blum *et al.*, 1999; Araus *et al.*, 2002).

I.4. Les contraintes climatiques

La région des hauts plateaux est connue comme étant une région à fortes contraintes climatiques, particulièrement pour la culture des céréales (Baldy, 1974; Abbassenne, 1997; Fellah *et al.*, 2002; Annichiarico *et al.*, 2002; Annichiarico *et al.*, 2006). La céréaliculture est, en effet, exposée tout le long de son cycle de développement à une série de contraintes hydrique et thermique. Le stress hydrique est toujours accompagné et agit en interaction avec d'autres stress abiotiques tels que les basses et hautes températures et l'excès de luminosité (Monneveux et Belhassen, 1996).

I.4.1. L'action des basses températures sur la plante

La culture du blé dur, sur les hauts plateaux, est potentiellement sujette aux effets des basses températures de la levée au stade épiaison. Au cours du cycle, l'intensité du stress varie, ainsi que le degré de sensibilité de la plante qui est fonction du stade végétatif considéré (Figure, I.3). Le terme basses températures couvre une large gamme de niveaux de températures (Gazeau, 2002).

Les températures utilisables pour la cryoconservation, dont le seuil est -196°C, font partie des basses températures. Par basses températures, il est souvent fait mention aux températures voisines du 0°C. Parmi celles-ci, on distingue les basses températures

supérieures à 0°C qui induisent le froid, et les basses températures inférieures à 0°C qui caractérisent le gel (Gazeau, 2002).

L'abaissement de la température, au dessous de 0°C, engendre des perturbations physiques et biochimiques au niveau cellulaire. Le gel provoque la déshydratation et la destruction des cellules. La déshydratation résulte de la migration de l'eau des cellules vers les *mea inter-cellulaires*. Par contre la destruction des cellules provient de l'action mécanique des cristaux de glaces formés suite à l'abaissement de la température (Gazeau, 2002).

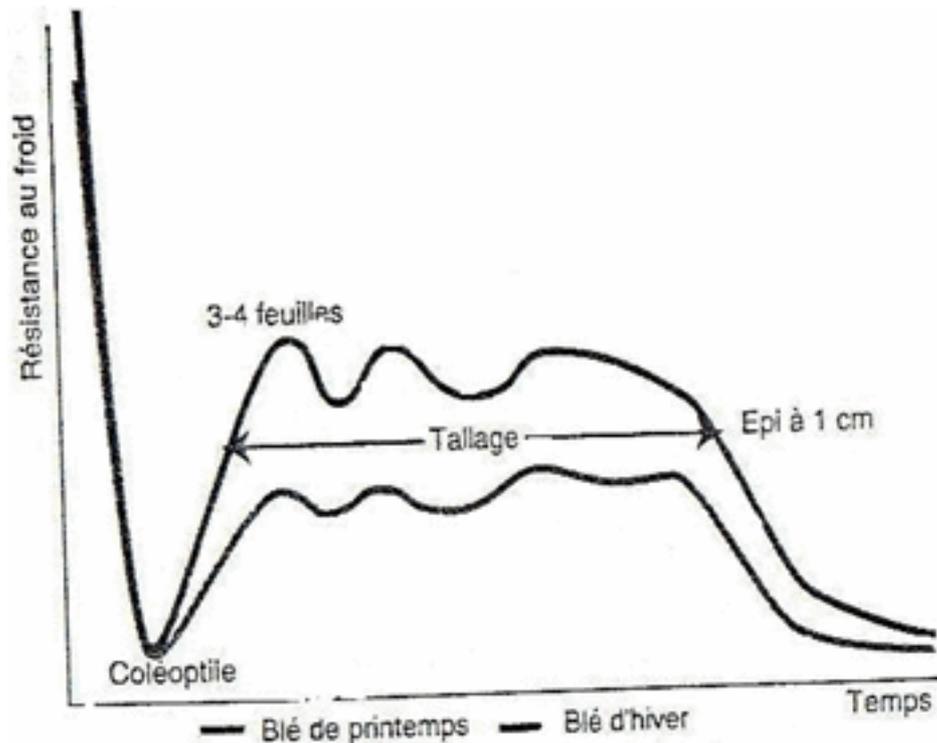


Figure 3. Evolution de la résistance au froid du blé en fonction du stade végétatif (Gate, 1995)

La conséquence, de l'effet du gel, est le rétrécissement des cellules qui engendre un arrêt du fonctionnement des membranes, voire leur rupture. La déshydratation des cellules s'accompagne d'un accroissement de leur concentration en sucres, sels et substances organiques.

L'augmentation de ces osmolytes est souvent toxique pour la cellule et pour les organites qu'elle porte tels que les chloroplastes, siège de l'activité photosynthétique. L'abaissement de la température s'accompagne aussi d'une réduction de la transpiration. Le passage de la température de 20°C à 0°C induit une diminution de la respiration allant jusqu'à 80% (Bakumenko *et al.*, 1977).

Le processus de refroidissement induit une redistribution du contenu cellulaire en eau. Lorsque les tissus cellulaires sont soumis à des températures au dessous de point de congélation, l'eau intra et inter cellulaire prend des températures inférieures à zéro (freezing) avant de devenir glace. Une température de -10°C engendre la formation de la glace à l'extérieur de la cellule, et induit un flux d'eau vers l'extérieur de la cellule, qui se déshydrate puis prend masse suite à la formation de la glace (Pearce, 2001).

Le mouvement de l'eau de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule dépend du degré d'osmolalité de la solution cellulaire et du nombre de cycles de gel- dégel. La cellule est donc soumise à des effets de stress mécaniques et de déshydratation, au cours du processus de congélation.

Les dégâts de ces stress dépendent de la durée, l'intensité du froid, la vitesse de congélation et de décongélation, des différences anatomiques et du contenu cellulaire. Les cellules contenant le moins d'eau sont celles qui sont les plus tolérantes (Hoshino et Tahir, 1987).

L'effet du froid sur la culture varie en fonction du stade de développement de la plante où survient la contrainte et de la nature de l'avènement du froid lui même. Au cours de la levée, c'est le nombre de plants produit par unité de surface qui est réduit. Pendant la période de tallage, c'est le nombre de talles qui est affecté (Strak *et al.*, 1986; Gate *et al.*, 1990).

Au cours de la montaison, on assiste à une régression des talles montantes en épis (Grignac, 1981). L'amplitude entre les moyennes de températures minimales et maximales amplifie les dégâts du froid sur les plantes.

Les dommages sont plus accentués, lorsque le froid se manifeste brutalement après une période aux températures relativement douces, ce qui ne donne pas assez de temps à la plante de s'accoutumer ou de s'endurcir (Couvreur *et al.*, 1979). La baisse du rendement en grains, suite aux effets du gel, peut atteindre des niveaux importants, allant jusqu'au sinistre total (Ducellier, 1932; Mouret *et al.*, 1989; Bouzerzour, 1990; Baldy, 1993).

Le blé dur présente de la résistance au froid qui est variable selon le stade végétative, le degré d'endurcissement, l'intensité du stress et la vitesse de dégel des organes touchés. Le blé dur présente son maximum de résistance à l'état de graine. Cette résistance diminue au stade coléoptile, augmente au cours de la période allant du stade 4 feuilles à la fin du tallage, pour chuter dès le stade épi-1cm jusqu'au stade méiose (Gates, 1995).

La résistance est maximale en période où la croissance est au ralenti et elle est moindre lorsque la croissance devient active. Les seuils de températures mis en cause sont de l'ordre de 2°C selon Gate (1995). Le stade méiose, événement important dans la vie de la céréale, puisque c'est à ce stade que les organes floraux atteignent leur taille maximale, est très sensible vis à vis des facteurs de l'environnement et notamment la température et l'humidité relative de l'air. La stérilité de ces organes est à craindre à des seuils de l'ordre de 4°C (Gate, 1995).

I.4.2. tolérance aux basses températures

La tolérance au froid est une caractéristique variétale, qui dépend à la fois du stade végétatif considéré, de l'intensité du froid, et de l'état d'endurcissement de la plante (Gazeau, 2002). Gate (1995) affirme que la tolérance absolue pour le gel de l'épi n'existe pas. Cependant certains géotypes se montrent moins sensibles que d'autres aux effets du gel. La stratégie, la plus efficace, consiste à positionner le cycle de la plante de telle sorte que le début de la phase de sensibilité au gel d'épis se réalise à une date à partir de laquelle le risque devient négligeable.

Cette stratégie est celle adoptée par la sélection naturelle qui est opérante chez les variétés populations locales. La phase méiose - épiaison de la variété Mohammed Ben Bachir intervient tardivement au moment où le risque de froid est minimal, pour le milieu où cette variété se montre relativement plus adaptée (Mekhlouf *et al.*, 2006).

Papadakis (1938) mentionne que la tolérance n'est autre que l'expression génétique d'une plante qui se met en harmonie avec les éléments du milieu dans lequel elle se développe. C'est un compromis entre le rythme de développement de la variété et les contraintes climatiques, compromis qui aboutit à un rendement acceptable.

Demarly (1984) définit la tolérance comme étant une réaction génétique du végétal vis à vis de la contrainte abiotique et qui se matérialise par des modifications au niveau cellulaire. La notion de tolérance est liée aux phénomènes d'échappement, d'évasion et de résistance aux stress (Levitt, 1980).

L'échappement est la situation où la plante, grâce à un rythme de développement spécifique, réussit à s'harmoniser à son environnement, en échappant partiellement ou complètement aux stress au pic de leur avènement. La résistance s'opère, grâce au maintien par divers mécanismes, d'un état interne satisfaisant qui permet à la plante de continuer ses activités métaboliques sans être fortement perturbée par le milieu extérieur qui peut être très stressant.

La tolérance, proprement dite, du stress est la capacité de la plante, malgré la présence du stress dans ses tissus, de maintenir une relative activité qui lui assure l'intégrité fonctionnelle de ses structures cellulaires. Cette intégrité permet la reprise des activités de la plante dès que les conditions de croissance redeviennent plus ou moins normales (Levitt, 1980).

Lamin et Fowler (1981) mentionnent que les espèces portant le génome B sont moins tolérantes au froid que celles qui portent le génome D qui représente une source intéressante de résistance au froid. *Aegilops speltaoides*, au génome B, montre aussi de la résistance aux basses températures. Barashkova et Vavilov (1991) le suggèrent, au même titre que *Aegilops tauschii*, porteur du génome D, comme des sources potentielles de résistance utilisables dans les programmes de croisements pour améliorer la résistance du blé dur au froid.

Pour s'adapter à son environnement et surmonter les effets des stress qui y prévalent, la plante met à contribution l'ensemble des caractéristiques phéno-morpho-physiologiques. Parmi ces caractéristiques le degré d'endurcissement joue un rôle important dans la tolérance vis-à-vis des basses températures (Szucs *et al.*, 1999).

L'endurcissement s'accomplit lorsque les plantes, au stade juvénile, sont exposées à des basses températures voisines de 2°C pendant une période variable allant de 15 à 90 jours. Ainsi selon Thomashow (1999) le seigle (*Secale cereale* L.) non endurci est détruit par le gel à -5°C; mais après endurcissement sous basses températures non gélives, il peut survivre à des températures gélives de l'ordre -30°C.

Maggio *et al.*, (2002) mentionnent que l'acclimatation au froid est le processus qui mène au développement de la tolérance au gel chez les plantes. La résistance à des températures seuils de -13°C est plus marquée lorsque les plantules ont été endurcies pendant 30 à 50 jours.

Single et Marcellos (1974) étudient la résistance au froid qui touche essentiellement l'épi et les organes floraux. Ils notent que cette résistance est fonction de l'endurcissement de l'épi. Ils notent qu'aussi longtemps que l'humidité interne de l'épi ne prend pas masse sous forme de glace, l'épi peut tolérer, au cours de longues périodes, des températures de -5°C, sans de grands dommages.

L'endurcissement des parties florales, encore sous la gaine, est possible, suite à la nature de la cuticule de la feuille étendard et à la texture du dernier nœud de la tige porteuse.

Ceci parce que la vague de froid peut traverser rapidement le tissu foliaire, mais elle est généralement incapable de passer au travers de la cuticule intérieure de la feuille vers l'épi. Elle peut être arrêtée au niveau du dernier nœud de la tige ou au niveau du nœud du premier article du rachis (Single et Marcellos, 1974).

Cependant une fois l'épi émerge de la gaine de la feuille étendard, le tissu des épillets est plus sensible au déplacement de la vague de froid, le long de la tige ou/et du rachis, en plus chaque épillet est exposé au danger de la formation de cristaux de glace suite au refroidissement de l'air. Ceci explique les forts dégâts que subissent les céréales dont l'épiaison est concomitante à l'apparition du gel (Bouzerzour et Benmahammed, 1994).

Ces résultats montrent l'existence de deux phénomènes différents, le premier concerne la capacité des nœuds de la tige et ceux du rachis à s'opposer au déplacement de la vague de froid vers les organes floraux et le second porte sur la capacité hydrophobique des enveloppes des épillets et des barbes à prévenir le contact entre les cristaux de glace en suspension dans l'air et l'humidité des tissus des parties florales de l'épi.

La variété Florence possède la capacité de limiter la progression du froid vers l'épi, grâce à la structure de son rachis. La cire cuticulaire, les poils des glumes et glumelles ainsi que les barbes limitent la surface de contact avec les tissus des épillets et ainsi réduisent les risques des dommages du froid aux organes floraux (Single et Marcellos, 1974).

Fowler *et al.*, (1996) conduisent une expérimentation pour étudier la relation entre la réponse aux basses températures et la vernalisation chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et le seigle (*Secale cereale* L.). Ils observent que toutes les plantes débutent leur durcissement graduel à des températures de l'ordre de 4°C.

La tolérance aux basses températures augmente, se stabilise puis décline, donnant une relation de type curvilinéaire entre la tolérance aux basses températures et le stade d'acclimatation. Ils notent une étroite liaison entre le temps de saturation de la vernalisation et le début de la diminution de la tolérance au froid.

Allard *et al.*, (1998) notent que l'osmolyte bétaine s'accumule progressivement chez le blé tendre, proportionnellement au degré de résistance au froid. La concentration de cet acide aminé est multipliée par un facteur de trois au cours de la période d'acclimatation au froid. Les plantes qui accumulent plus de bétaine sont plus tolérantes.

Soumis pendant 4 jours aux basses températures, le cultivar Glenlea se distingue par une température, induisant 50% de mortalité des sujets (TL 50%), de -8°C, alors que Frederick atteint le seuil de -9°C. L'application de la bétaine, à une concentration de 250 μM, au cours de l'acclimatation, amène la TL 50% de ces cultivars à -14°C et -22°C respectivement, en comparaison avec des LT 50% de -9°C et -16°C de ces mêmes cultivars acclimatés sans l'apport de la bétaine. Ces résultats indiquent que la bétaine induit l'activation de gènes qui améliorent l'acclimatation au froid chez le blé tendre et donc sa résistance aux basses températures.

Havaux et Lannoye (1982) étudient les mécanismes de protections des structures membranaires, mis en œuvre par l'orge au cours de son durcissement. Ils notent l'accumulation des composés cryo protecteurs tels les sucres solubles, les protéines solubles et surtout la proline chez les plantes acclimatées. Un mécanisme d'action possible de la proline, permettant d'expliquer son importance dans la résistance aux stress des végétaux a été proposé sur la base d'études physico-chimiques.

Cet acide en solution aqueuse, présente des propriétés physiques inhabituelles pour une substance de bas poids moléculaire. Son comportement est caractéristique des

colloïdes hydrophiles. Les molécules de proline en solution forment des agrégats par liaisons hydrophobes entre les cycles pyrrolidines. Ces liaisons peuvent inclure des groupes hydrophobes des protéines convertissant ceux-ci en groupes hydrophiles.

Il semble, grâce à sa capacité de liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau et ses interactions hydrophobes avec les groupes spécifiques des protéines, que la proline maintient la complète hydratation des enzymes et des protéines membranaires, les protégeant des effets des basses températures (Havaux et Lannoye, 1982).

Lalk et Dörffling (1985) étudient les mécanismes physiologiques qui accompagnent le phénomène d'endurcissement chez le blé tendre. Ils acclimatent les cultivars Holme, résistant au froid, et Amandus, sensible, graduellement à des températures de jour/nuit allant de 20°/15°C à 2°/0°C et une photopériode décroissante de 15 à 9h.

Cet endurcissement augmente la résistance au froid chez les deux variétés en comparaison avec les témoins non acclimatés. Elle induit une augmentation de l'osmolalité du suc cellulaire ainsi que l'augmentation de la concentration en ABA et en proline apparaissant dans cet ordre. Le cultivar résistant présente les plus fortes concentrations de ces osmolytes, mais la différence est significative uniquement pour la proline.

Les plantes endurcies, pulvérisées avec de l'ABA, soumises 24h après, au test de froid, présentent des niveaux de résistance plus élevés (températures plus basses). Ces auteurs suggèrent que le phénomène d'endurcissement induit l'accumulation de l'ABA. Le même test refait, mais en pulvérisant de la proline, n'améliore pas le degré de résistance des cultivars étudiés.

Veisz et Sutka (1998) attirent l'attention sur le rôle que joue la luminosité, qualitativement et quantitativement, sur le phénomène de l'acclimatation au froid. La lumière agit comme source d'énergie. Elle influe sur la manifestation de la résistance grâce à la photosynthèse qui augmente la concentration des sucres solubles et améliore la composition lipidique de la membrane chloroplastique.

L'endurcissement est ainsi meilleur, sous forte luminosité et au cours de longues photopériodes, de plus de 16 heures. Ling Cheng *et al.*, (1982) rapportent que le plasmalemma est le premier site cellulaire qui sent et répond aux stress environnementaux. Il est le premier site à subir les effets et dégâts du froid, vu que l'activité de l'enzyme ATPase est fortement inhibée chez les cellules endommagées par cette contrainte.

L'ATPase du plasmalemma cellulaire développe de la résistance au froid lors de l'endurcissement des plantules de blé d'hiver. L'amélioration de la résistance au froid de l'activité de l'ATPase aide la cellule à surmonter les effets du stress sans de grands dommages. Il est possible que cette résistance soit liée à l'existence d'une relation étroite entre l'activité de l'ATPase et le transport actif ionique.

Le maintien des activités de l'ATPase du plasmalemma, à des basses températures contribue donc à celui du transport ionique assurant ainsi la continuité des activités métaboliques de la plante au cours du processus d'endurcissement.

Grossi *et al.*, (1992) notent que l'analyse d'une translation *in vitro* de produits dérivés des ARNm isolés, ayants subis différents traitements hydrique, ABA exogène ou froid, montre l'existence d'une seule protéine, dans les trois cas. La protéine induite par le stress est caractérisée par des poids moléculaires (45 kDa) similaires.

Le niveau d'induction des ARNm est similaire dans les cas des stress hydrique et thermique. Comme cette polypeptide de 45kDa est décelable à de faible niveau chez le

témoin non stressé, elle n'est donc pas induite de nouveau, mais son degré d'expression est sensible aux stress.

Lang et al., (1989) montrent que l'ABA joue un rôle dans la réponse des plantes au stress thermique, vu que l'endurcissement au froid est induit chez *Arabidopsis* par traitement avec l'ABA et que le mutant d'*Arabidopsis*, déficient pour l'ABA, ne développe pas d'endurcissement. Il semble donc que les réponses de la plante au stress hydrique et au froid partagent, au niveau moléculaire du moins, des propriétés communes, comme le suggère Guy (1990).

Cette conclusion doit être, cependant, réservée à certains gènes seulement parce que d'autres gènes répondent uniquement à des stress spécifiques. En effet 3 sur les 4 ADNc, régulant la résistance au froid, testés par Grossi *et al.*, (1992), ne montrent pas d'homologies avec les ARNm induits par le stress hydrique ou par l'ABA exogène.

L'amélioration génétique de la résistance du blé dur aux basses températures a fait l'objet de plusieurs études. Les espèces apparentées ont été utilisées en croisements pour améliorer le comportement du blé dur vis à vis du froid (Lamin et Fowler, 1981; Barashkova, 1981). Plusieurs études se sont intéressées à la localisation dans le génome et sur les chromosomes des gènes qui contrôlent la résistance au froid.

Law et Jenkins (1970) substituent les chromosomes de Capelle Duprez chez Chinese Spring, une variété plutôt sensible au froid, ils observent que les chromosomes 4D, 5D et 7D de Capelle Duprez introduisent la résistance au froid chez Chinese Spring. Les gènes concernés des trois chromosomes fonctionnent de manière additive.

Veisz et Sutka (1998), utilisant Cheyenne, comme parent tolérant au froid, montrent que les chromosomes 5A, 5B, 5D, 4D et 7A de Cheyenne améliorent la résistance au froid de Chinese spring, testée en plein champ comme en phytotron. Ces auteurs notent que la tolérance, gérée par les chromosomes 7A et 1D, s'exprime nettement mieux sous de fortes illuminations ou longues photopériodes et atteint -10°C.

Par contre celle contrôlée par les chromosomes 4B et 5B atteint le seuil de -12°C. Pour situer les seuils mis en cause dans l'effet des basses températures et déterminer ainsi le degré de résistance à chercher chez un génotype donné, des tests de laboratoire ont été mis au point (Marshall et Kolb, 1982).

DÖffing *et al.*, (1990) utilisent le seuil de température létale qui détruit 50% des plantes (TL50%) pour déterminer la résistance du matériel végétal au froid. Ils identifient des variétés qui se distinguent par des TL50% variant de -15°C à -21°C. Bridger *et al.*, (1995) utilisent la résistance de la couronne comme test pour sélectionner des variétés plus résistantes au froid.

Maksimovic (1981) étudie l'hérédité de la résistance au froid chez l'orge. La descendance des parents sensibles (F1, F2, F3 et BC1) se montre sensible de par les résultats des tests de froid réalisés dans des chambres froides. La descendance des parents tolérants se montre, en général, aussi tolérante ou intermédiaire aux parents croisés.

Les F1 issues des croisements entre parents tolérants et parents sensibles au froid indique une dominance incomplète de la résistance. Les F2 et F3 étaient plutôt sensibles à intermédiaires du point de vue résistance relativement aux parents. Le backcross des F1 issues des parents sensibles avec les parents résistants donne une descendance résistante.

L'analyse des données indique que les cultivars d'orge Atlas et Ager portent un gène de résistance au froid probablement associé aux gènes contrôlant la réponse aux températures

vernales. La résistance mesurée en plein champ est fortement corrélée à l'accumulation de la matière sèche aérienne et des sucres solubles, à la hauteur des plantes, à la longueur de l'épi et à la durée de la phase végétative (semis- épiaison). Elle est négativement corrélée avec le nombre de nœuds du rachis et la largeur de la feuille en dessous de la feuille étendard (Maksimovic, 1981).

Beke et Sutka (1983) étudient l'aptitude générale et spécifique à la combinaison de la tolérance au froid chez le blé dur. Ils endurcissent les plantules F1 à des températures de -4°C , puis les soumettent aux effets du froid de -12°C . Après traitement, les feuilles sont coupées et le degré de tolérance au froid mesuré par la capacité des plantes à reprendre croissance.

La capacité de reprise de la croissance est mesurée suivant une échelle de 0 à 5. Pour une note de 0, les plantules sont incapables de reprendre croissance, et pour une note de 5, les plantules reprenant normalement leur croissance, indice de résistance à la température testée. L'analyse génétique indique une action génique de nature additive du contrôle de la résistance aux basses températures chez les cultivars croisés.

Shulyndin et Shchipak (1984) étudient 35 hybrides et leurs réciproques produits par croisements entre des triticales de types hiver et printemps. Ces auteurs notent un effet réciproque significatif chez 50% des hybrides étudiés, pourcentage qui est fortement réduit en F2. La température critique de résistance, de -14°C , était plus basse pour les hybrides F1 comparée à leurs parents de type printemps mais elle était comparable au niveau de résistance des parents tolérants.

Les F2 se ségréguent en types hiver et printemps, les formes hivernales étant aussi résistantes que les parents résistants et l'inverse est vrai pour les formes de printemps. Un fort pourcentage de plantes F2, issues de croisements entre parents de type hiver et parents de type printemps, tolèrent les basses températures. L'utilisation des types hivers pour améliorer la résistance des types printemps est suggérée comme une voie prometteuse.

I.4.3. la tolérance au froid et le marquage moléculaire

La tolérance des plantes aux stress abiotiques nécessite une approche multidisciplinaire incluant les études génétiques, physiologiques, moléculaires. La génomique fonctionnelle est employée pour comprendre les mécanismes moléculaires de la tolérance aux stress et d'appliquer cette connaissance dans la sélection des plantes. Les méthodes classiques de l'étude de la tolérance au froid s'appuient sur les caractères morphologiques et physiologiques. Elles sont confrontées aux difficultés de la détermination de la tolérance qui est de nature complexe et de faible héritabilité. Elles nécessitent un temps extrêmement long.

La biologie moléculaire est venue en appui aux méthodes classiques de la recherche sur la tolérance aux stress. La tolérance des plantes aux basses températures est corrélée à l'expression d'un ou plusieurs gènes (Fowler et al., 1999). Thomashow (1999) mentionne que des gènes de régulation de la tolérance au froid ont été identifiés et caractérisés chez plusieurs espèces. Les mêmes transcrits de gènes protègent les plantes des différents stress, suggérant des mécanismes similaires intervenant dans la tolérance.

Chapitre II. Ecophysiologie du blé dur (*Triticum. durum* Desf.) sous climat semi- aride

Introduction

Sur les hautes plaines orientales algériennes, la culture pluviale du blé dur représente avec l'orge et l'élevage ovin l'essentiel de l'activité agricole. La production de blé dur est consommée par l'homme, le plus souvent directement sur le site de l'exploitation et les résidus du blé sont utilisés par l'élevage (Mouret *et al.*, 1988). L'association céréales élevage est pratiquée en réponse aux contraintes climatiques qui caractérisent cette région au climat continental (Bouchemal, 1999).

Deux saisons se succèdent, l'une froide (octobre - février), brève et relativement pluvieuse et l'autre longue (mars- septembre), chaude et sèche. Les stress hydrique et thermique (gel et hautes températures) affectent le développement de la céréale tout le long de son cycle (Bouzerzour et Monneveux, 1992), par conséquent trouver des solutions permettant d'atténuer les effets de ces stress est un des principaux objectifs de la recherche agronomique.

Les préconisations agricoles convergent vers une meilleure conservation et utilisation de l'eau pour, et par, la plante. Elles portent sur les travaux du sol et le précédent cultural (Kribaa *et al.*, 2001), le choix des dates et des densités de semis (Bouzerzour et Monneveux, 1992), et l'adoption de variétés plus adaptées (Mekhlouf *et al.*, 2001).

Pour l'essentiel, cette adaptation variétale est liée à une phénologie et une croissance hivernale permettant de valoriser les pluies. Une croissance active en début du cycle nécessite une moindre sensibilité aux basses températures (Cantero-Martinez *et al.*, 1995). Elle améliore l'utilisation de l'eau et permet une production de biomasse aérienne plus importante (Oosterom et Acevedo, 1992).

Par ailleurs, une moindre sensibilité à la photopériode permet à la variété d'épier plus tôt et donc d'être moins exposée aux stress abiotiques de fin de cycle (Ceccarelli *et al.*, 1992). A l'opposé, les variétés ayant des besoins en vernalisation ou en longueur de jour élevés ont une croissance végétative importante qui ne s'exprime totalement que plus tardivement lorsque leurs besoins en froid et photopériodique sont satisfaits (Oosterom *et al.*, 1993).

Ces variétés sont, en général, assez tardives, ce qui leur permet d'esquiver les périodes de gel tardif; par contre, elles subissent les effets de la sécheresse et des hautes températures de fin de cycle (Oosterom *et al.*, 1993).

II.1.Objectifs

Cette étude a été conduite pour comparer, sur un pas de temps conséquent, 13 campagnes agricoles, l'adaptation de deux types variétaux de blé dur aux conditions climatiques des hautes plaines algériennes. Le premier type est la caractéristique des variétés locales (forts besoins en vernalisation, sensibilité à la photopériode) et le second représente assez bien les variétés modernes à cycle plus court grâce notamment à leur insensibilité à la photopériode et leur capacité de croissance à des températures relativement plus basses.

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1. Matériel

L'étude a été conduite à la Station Expérimentale Agronomique (SEA) de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) située à 4 kilomètres au sud-ouest de la ville de Sétif, au cours des 13 campagnes correspondant à la période 1987-2000. Le site expérimental se trouve à une altitude moyenne de 1080 m.

Les deux variétés étudiées sont largement cultivées par les agriculteurs de la région (Benmahammed *et al.*, 1999). Waha (W) est une sélection récente de l'ITGC. C'est une variété alternative, de type printemps, demi-naine et précoce à l'épiaison. Elle est sensible aux basses températures (gel) après le stade début-montaison.

Mohammed Ben Bachir (MBB) est une variété locale issue de la sélection généalogique faite à l'intérieur d'une population native de la région Sétifoise (Laumont et Erroux, 1961). C'est une variété demi-hiver, avec des besoins de vernalisation et photopériodique plus prononcés que la variété Waha. Elle est également plus haute de chaume (+20 cm) et plus tardive au stade épiaison (+10 j), caractéristique qui lui permet d'échapper aux gelées printanières (Bouzerzour *et al.*, 1995).

L'étude a porté sur le suivi des parcelles de production de semences G3 d'une superficie de 10 ha dans un système biennal céréale-jachère. L'itinéraire technique appliqué a peu varié d'une année à l'autre: les façons culturales sur jachère débutent par un labour profond réalisé avec une charrue à disques en décembre-janvier. Il est suivi par trois passages de cover crop. Le premier passage est fait au mois de mars pour fermer le labour.

Le second passage est réalisé au mois de mai pour détruire les adventices. Le lit de semis est préparé par la troisième préparation superficielle, au mois d'octobre, juste après un apport de 100 kg ha^{-1} d'engrais phosphaté à 46%. Les semis sont faits en novembre, à une densité de $300 \text{ grains m}^{-2}$.

Trente cinq unités ha^{-1} de N sont apportées à la culture au stade du tallage (mars) sous forme de nitrate d'ammonium ou d'urée. Le désherbage est fait avec du 2,4-D à raison de 1 l ha^{-1} dans 250 l d'eau ou du Grand-Star (*Tribénuron méthyle*) à raison de 12 grammes ha^{-1} juste après l'épandage de l'azote au stade tallage. La récolte est faite en juin.

II.2.2. Méthodes

Les données concernant la production et les dates de semis, d'épiaison et de récolte ont été collectées pour chaque campagne. Les dates des diverses interventions (apports d'engrais, désherbage, épuration) ont été aussi notées. Le rendement en grains a été mesuré après la récolte des parcelles avec la moissonneuse batteuse. La durée de la période allant du 1 janvier à l'épiaison des deux variétés est exprimée en jours et en degrés-jours.

Les degrés-jours ($\Sigma^{\circ}\text{C}$) ont été calculés par la formule:

$$\Sigma^{\circ}\text{C} = [(T_{\max} + T_{\min}) / 2] - T_b$$

T_{\max} = température maximale journalière ($^{\circ}\text{C}$)

T_{\min} = température minimale journalière ($^{\circ}\text{C}$)

T_b = température minimale journalière à partir de laquelle la croissance est permise; elle est égale à 0°C (Kirby *et al.*, 1999).

Le climat de chaque campagne a été caractérisé grâce aux données météorologiques issues de la station de l'Office National de la Météorologie, située à 2 km au nord-est de la station expérimentale agricole ITGC de Sétif. La probabilité (Pr, %) d'occurrence d'un cumul pluviométrique donné est déterminée par le calcul:

$$\text{Pr}(\%) = 100 [m_i / (n)] \quad (\text{Perrier et Salkini, 1987})$$

où

m_i = le nombre d'années où un cumul pluviométrique donné a été obtenu

n = le nombre de campagnes agricoles étudiées qui est de 13.

La corrélation entre les rendements des deux variétés a été calculée pour étudier la similitude de réponse à la variation environnementale. L'étude de la variation de rendement en grains entre les deux variétés a été aussi abordée par l'estimation de la pente de la régression linéaire (b) entre la capacité de production du milieu (X_j), estimée par la moyenne des rendements des deux variétés et la performance de chacune des deux variétés. Le modèle utilisé est le suivant:

$$Y_{ij} = \alpha_i + \beta_i X_{ij} + e_{ij} \quad (\text{Finlay and Wilkinson, 1963})$$

avec

α_i = constante, moyenne de la production en grains de la variété i

β_i = coefficient de régression de la variété i

X_{ij} = capacité de production du milieu j

e_{ij} = la résiduelle du modèle.

Une valeur de beta significativement inférieure à 1 est indicatrice d'une adaptation spécifique aux environnements défavorables; alors que des valeurs supérieures à 1 caractérisent, par contre, une adaptation spécifique aux environnements favorables. Une valeur de beta égale à l'unité est indicatrice d'une large adaptation.

La signification statistique de l'écart du coefficient de régression (b) par rapport à 1 est testée par la relation:

$$t_{obs} = |1 - b| / et_b \quad (\text{Steel et Torrie, 1980})$$

où

t_{obs} = t observé au seuil de 5% de probabilité

et_b = écart type du coefficient de régression

La régression multiple pas à pas a été utilisée pour rechercher les relations entre les variations du rendement en grains de chaque variété et les conditions climatiques (pluie, températures et cumul des degrés-jours). Le modèle utilisé est le suivant:

$$Y_{ij} = a_j + b_1X_{1,j} + b_2X_{2,j} + b_3X_{3,j} + e_{ij} \text{ (Drapper et Smith, 1981)}$$

où

Y_{ij} = rendement en grains de la variété i dans chaque environnement j

b_1, b_2, b_3 = coefficients de régression multiple

$X_{1,j}, X_{2,j}$ et $X_{3,j}$ = co-variables climatiques candidates pour chaque milieu j

Dans cette méthode les co-variables sont introduites une à une en fonction de leur degré d'explication de la variable à prédire. La co- variable la plus explicative est introduite la première, puis suivent celles qui présentent un coefficient de corrélation partiel plus élevé (Drapper et Smith, 1981).

L'écart de rendement entre les deux variétés a été calculé par l'expression:

$$\Delta_{RDT} = RDT_{Waha} - RDT_{MBB}$$

où

RDT_{Waha} = rendement en grains de Waha

RDT_{MBB} = rendement en grains de MBB.

La signification statistique de cette différence a été déterminée par un test t , avec l'hypothèse nulle (H_0) correspondant au fait que cette différence n'était pas significativement différente de la moyenne de la population des différences de rendement en grains entre les deux variétés (Steel et Torrie, 1980).

Le rendement correspondant à la limite inférieure de l'intervalle de confiance a été calculée selon la méthode proposée par Eskridge (1990) dont l'index a la forme:

$$Y_i - Z(1-\alpha)(S^2)^{1/2}$$

où

Y_i = est la moyenne de rendement de la variété i pour l'ensemble des environnements

S^2 = est la variance du rendement de la variété i , c 'est une estimation de la stabilité

$Z(1-\alpha)$ = est le $1-\alpha$ percentile de la distribution normale standardisée, avec α égale à 5%,
seuil qui autorise à accepter un faible rendement une année sur 20.

La sensibilité de Waha et MBB au cumul des températures a été étudiée par la régression de la durée à l'épiaison, en jours calendaires, sur la somme des degrés-jours perçus. Tous les calculs statistiques ont été faits avec le logiciel Statitcf (1991).

II.3.Résultats

II.3.1.Phénologie

La durée à l'épiaison de la variété Waha, comptée en nombre de jours calendaires à partir du 1^{er} janvier, suit une cinétique linéaire en fonction des degrés jours perçus, dans une gamme de cumul de températures comprise entre 800 et 1100 °C-j. Le modèle linéaire prend la forme suivante:

$$\text{Durée 1^{er} janvier - épiaison (j)} = -0,0725 \Sigma^{\circ}\text{C-j} + 185,6$$

Le coefficient de détermination (R^2) du modèle est de 0.99. Cette valeur élevée démontre bien que Waha est une variété de type alternatif pour laquelle la durée de la phase semis - épiaison est étroitement liée au cumul de températures obtenus lors de la phase semis - épiaison. L'épiaison intervient selon les conditions climatiques et notamment thermiques, entre le 13 avril et le 9 mai, soit l'équivalent 809 et 1140 degrés cumulés respectivement (Tableau II.1).

Cette caractéristique d'épiaison précoce est avantageuse pour esquiver les contraintes de sécheresse et hautes températures de fin de cycle de la culture. Elle l'est moins vis à vis des basses températures apparaissant plus tôt et conduisant au gel des épis; les gelées tardives printanières n'étant pas, en effet, exceptionnelles en zone semi-aride.

Contrairement aux observations précédentes, la durée à l'épiaison de MBB n'est pas liée aux degrés jours perçus ($r=0,3473$ ^{ns}). Cette variété réalise le stade épiaison entre le 5 et 19 mai, soit l'équivalent de 1002,6 à 1400,2 °C-j (Tableau II.1). Le cultivar MBB est plus contraint par ses besoins en vernalisation et/ou photopériodiques, ce qui lui confère une épiaison plus tardive que Waha.

Campagnes	RDT _{MBB} (q.h a ⁻¹)	RDT _{Waha} (q. ha ⁻¹)	Δ Rdt(q.ha ⁻¹)	Préc _{MBB} Nbj	Σ° C-j	Préc _{Waha} Nbj	Σ° C-J
Valeur maxi	23.5	26.0	10.4*	139.0	1400.2	129.0	1140.0
Valeur moy	13.1	15.4	2.7*	133.4	1158.7	116.2	959.5
Valeur min	6.7	5.2	-8.5*	125.0	1002.6	103.0	809.0
S ²	26.4	40.2	2.76	22.1	10591.9	62.3	1802.6
b	0,9316	1,1685					
et _b	0,1138	0,0739					
R ²	0,7883	0,8942					

Δ Rdt: différentielle de rendement entre Waha et MBB (RDT_{Waha}- RDT_{MBB}); b et et_b : coefficient de régression et écart type ;

R² : coefficient de détermination issue de la régression multiple entre variables environnementales et productivité; S² : variance du r

endement en grains. * = différence significative au seuil de 5% selon le test t.

Tableau 1. Valeurs moyennes de rendement en grains (RDT) et de précocité de la date d'épiaison (Préc) (en jours et degrés - jours depuis le 1^{er} janvier) pour les deux variétés au cours de la période 1988/ 2000

Le fait que cette date d'épiaison soit déterminée à la fois par des contraintes photopériodiques et des sommes de températures froides permet d'obtenir une date d'épiaison plus facilement prédictible pour MBB que pour Waha. En effet la variance de la durée de la phase semis- épiaison est plus faible pour MBB que pour Waha : 22.1 et 62.3 jours. Conformément aux caractéristiques de ces deux variétés, l'importance de ces variances s'inverse lorsqu'elle est estimée sur la base des degrés – jour cumulés (Tableau II.1).

La moyenne de la durée à l'épiaison exprimée soit en nombre de jours soit en somme de températures, montre que la variété MBB a un cycle relativement plus long, de ce fait, elle est moins apte à éviter le déficit hydrique et les hautes températures de fin de cycle.

La croissance à des températures relativement plus basses permet à la plante d'utiliser plus tôt les ressources offertes par le milieu, ce qui lui confère plus de possibilités de faire un meilleur rendement en grains.

II.3.2. Rendement en grains

Le rendement en grains de MBB est en moyenne significativement inférieure à celui de Waha (Tableau II.1). Les deux variétés diffèrent de part leur réponse à la fertilité du milieu. Le coefficient b de la variété Waha est significativement supérieur à 1, alors que celui de MBB n'est pas statistiquement différent de 1.

Une part importante de la variation du rendement en grains des deux variétés s'explique par la variation environnementale comme l'indiquent les valeurs prises par le coefficient de détermination (Tableau II.1).

Les valeurs respectives des coefficients de régression de chacune des 2 variétés traduisent la meilleure valorisation des environnements plus favorables pour la variété Waha, alors que MBB présente des rendements relativement plus réguliers au regard de la variation générale de la fertilité du milieu (Tableau II.1, Figure II.1).

La comparaison des variances de rendement confirme la régularité de production de MBB. Les deux variétés se caractérisent, cependant, par le même risque de produire un faible rendement sous contrainte.

Les rendements correspondants à la limite inférieure de l'intervalle de confiance sont, en effet, estimés à 4,7 et 4,9 q ha⁻¹ respectivement pour MBB et Waha. Ces résultats indiquent qu'en milieu défavorable Waha a la même probabilité de faire un faible rendement que MBB.

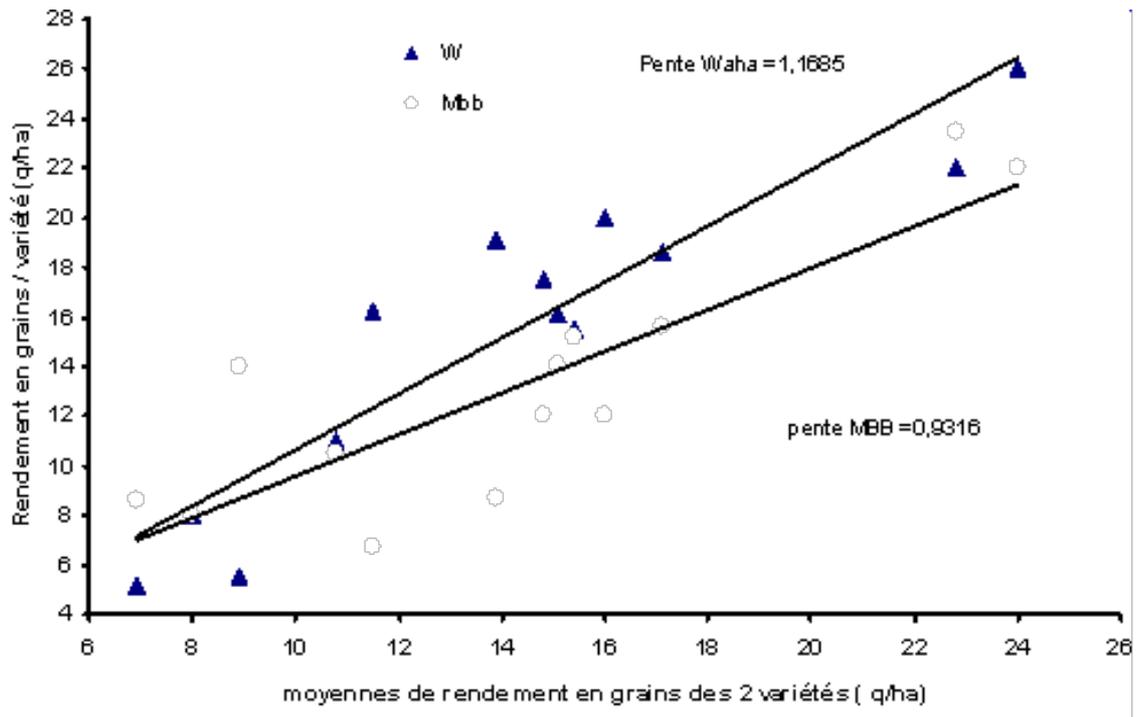


Figure 4. Réponse de Waha et MBB à la fertilité du milieu

La capacité différentielle de rendement varie entre -8,5 à 10,4 q ha⁻¹, avec une moyenne de 2,7q.ha⁻¹ en faveur de Waha (Tableau II.1). Pour 9 des 13 campagnes observées, le différentiel de rendement était favorable à cette variété. Parmi ces 9 campagnes, la différence était significative pour 7 d'entre elles; dans le même temps la différence n'était à l'avantage de MBB de façon significative que pour deux campagnes (Figure II.2).

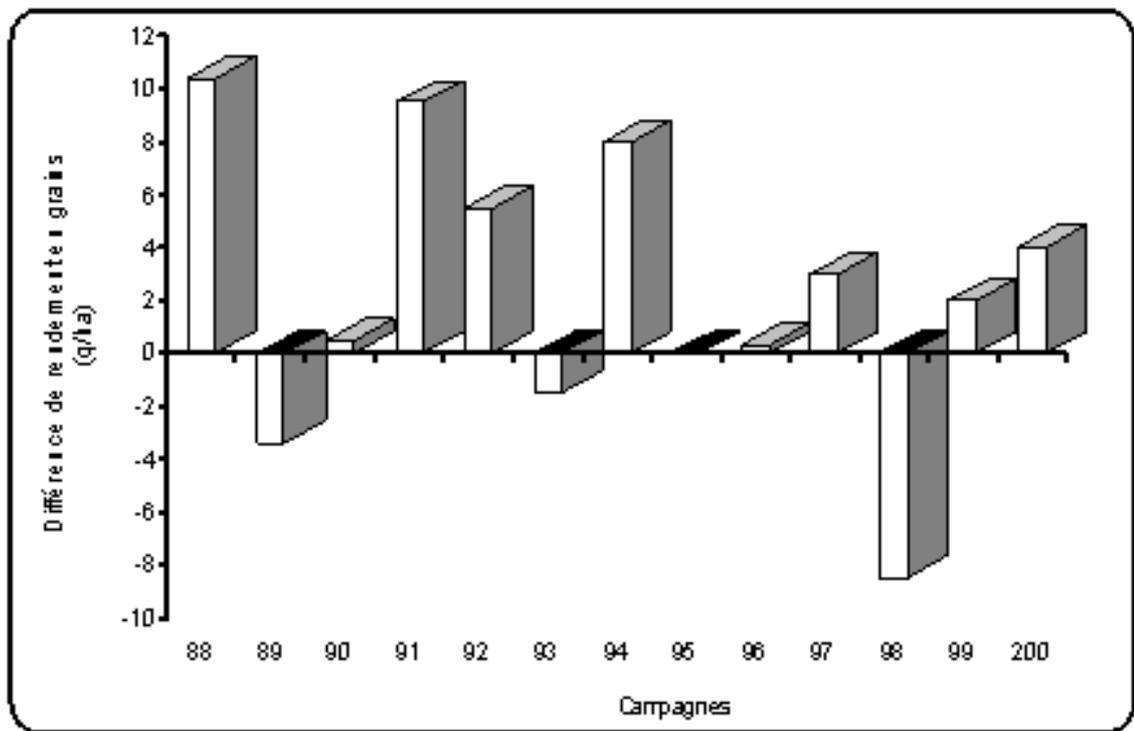


Figure 5. Ecart de productivité entre les 2 variétés ($RDT_{Waha} - RDT_{MBB}$) pour les différentes campagnes agricoles

L'irrégularité des rendements, en région semi -aride, est liée à l'intensité et à la nature aléatoire des stress abiotiques qui caractérisent ces environnements (Dkheel *et al.*, 1993; Al Hakim *et al.*, 1996). Elle est induite aussi par les réponses différentielles des variétés aux stress (Ceccarelli et Grando, 1991).

Les cumuls pluviométriques, sous lesquelles la culture du blé dur est produite, oscillent entre un minimum de 170 mm à un maximum de 450 mm. Dans 80% des cas, le cumul attendu, au terme du cycle de la culture (octobre à juin), est de 230 mm, avec une moyenne pour les vingt années considérées (1981-2000) de 321,2 mm (Figure II.3).

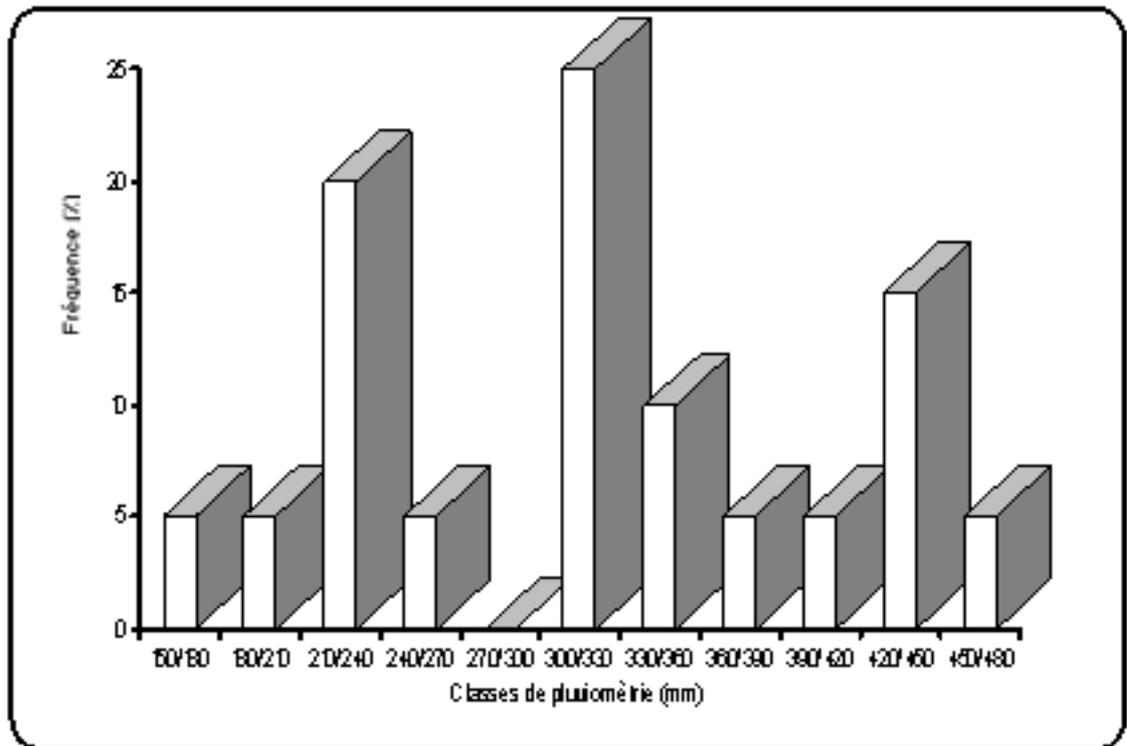


Figure 6. Distribution fréquentielle du cumul pluviométrique d'octobre à juin de la période 1980-2000

Dans de telles conditions environnementales, la distribution des précipitations joue un rôle important dans la détermination du rendement attendu. Les rendements en grains de la variété Waha comme ceux de MBB ne sont pas significativement corrélés avec le cumul des précipitations. Le coefficient de corrélation phénotypique prend les valeurs de 0,532^{ns} et 0,392^{ns}, respectivement pour ces deux variétés.

En intégrant le régime thermique, la régression pas à pas indique que MBB est sensible aux conditions climatiques, précipitations et cumul des degrés - jour perçus, de fin de cycle. Pour cette variété, le modèle retenu est le suivant:

$$RDT_{MBB} = 0,1132Pluie_{mai} + 0.0310\Sigma^{\circ}C_{mai} - 0,0362\Sigma^{\circ}C_{juin} + 14,69$$

Ce modèle prédit relativement bien la réponse de cette variété tardive ($R^2 = 0,70$). Il indique que le rendement en grains augmente lorsque l'élévation de la température du mois de mai est concomitante à un cumul pluviométrique élevé. Il est, par contre, pénalisé par l'élévation de la température du mois de juin.

Une relation relativement lâche ($p < 0,20$) a été identifiée entre le rendement de cette variété, la température moyenne (t_m) du mois d'avril et la pluie du mois de juin:

$$RDT_{Waha} = 1.9121tm_{avril} - 0.1974Pluie_{juin} + 20.4 (R^2 = 0,56)$$

Cependant si on retire les deux valeurs correspondant à la D_{RDT} négative, le rendement en grains pour les 11 campagnes restantes apparaît comme une fonction du cumul des degrés-jour perçus en cours du cycle et de la pluie du mois de mai. Le modèle est le suivant:

$$RDT_{Waha} = 0,0255\Sigma^{\circ}C_{octobre-juin} + 0,0648pluie_{mai} - 66,8 (R^2 = 0,91)$$

Les rendements les plus élevés ont été obtenus lorsque le cumul des degrés-jours perçus au cours du cycle de la culture est élevé. Pour la période étudiée, le cumul des degrés-jours perçus du mois d'octobre à juin est positivement corrélé avec les pluies enregistrées entre les mois d'octobre à février ($r= 0,68$) et négativement corrélé avec les pluies enregistrées entre les mois de mars à juin ($r= -0,76$).

Des températures moyennes plus élevées sont en général associées à un hiver pluvieux et un printemps relativement sec. Dans ces conditions, une variété précoce et alternative comme Waha tire un meilleur parti de ces conditions de croissance qu'une variété tardive non alternative comme MBB.

Waha se montre cependant sensible aux basses températures printanières. Sa capacité différentielle de rendement en grains diminue et change même de signe à mesure que la température minimale du mois d'avril est basse (Figure II.4).

Si l'épiaison coïncide avec l'avènement de températures minimales trop basses, au cours du mois d'avril, le potentiel de production est réduit. Le phénomène n'est pas noté chez MBB suite à sa tardiveté à l'épiaison, liée à une réponse à la vernalisation et/ ou à la photopériode.

Sur une période couvrant 13 campagnes agricoles (1982-2004), la moyenne journalière de la température minimale du mois d'avril (T_{mini04}) progresse selon le modèle :

$$T_{\text{mini}_{0.4}} (\text{°C}) = 0.0968X + 4.2503 (R^2 = 0.69)$$

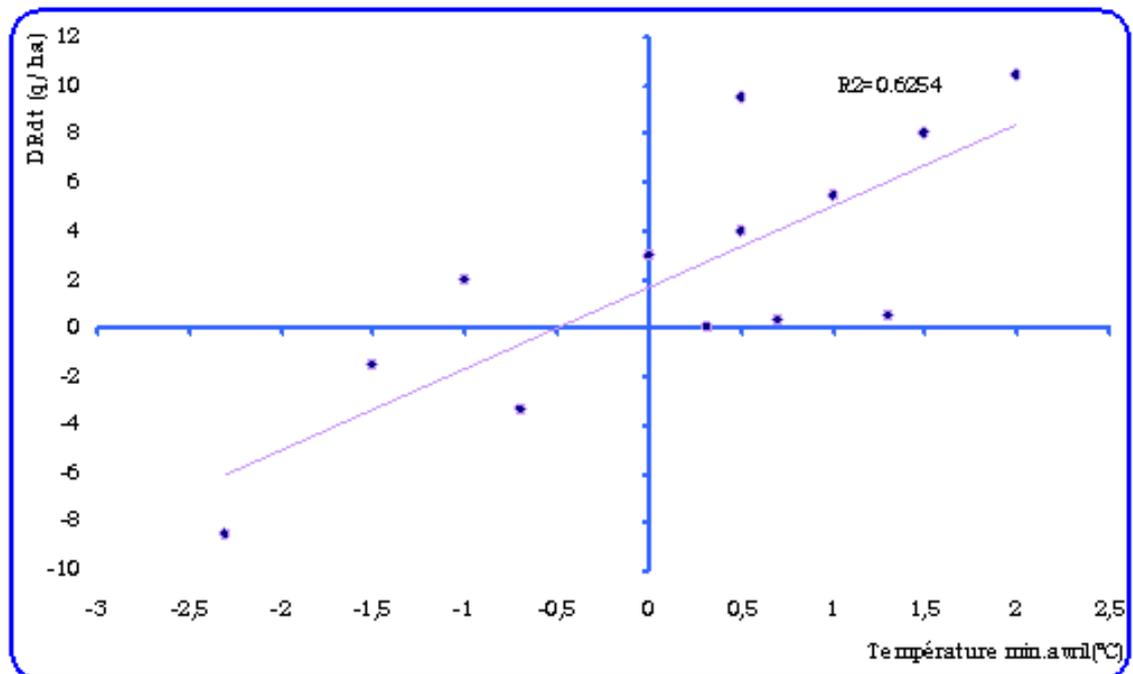


Figure 7. Relation entre la différence de productivité des variétés Whaha et MBB ($RDT_{\text{Whaha}} - RDT_{\text{MBB}}$) et la température moyenne minimale du mois d'avril (13 campagnes)

A partir du 19^{ème} jour d'avril, cette moyenne reste supérieure à 6°C. Elle est largement au dessus du seuil critique généralement mis en cause dans le cas du gel tardif (Mouret *et al.*, 1988; Oosterom *et al.*, 1993; Mekhlouf *et al.*, 2001). Des variétés qui épiant entre les 19 – 25 avril échapperont donc au gel tardif et en même temps minimisent les effets de la sécheresse et des hautes températures de fin de cycle.

II.4. Discussion

Différentes stratégies de sélection existent pour produire des variétés adaptées à la variation climatique du milieu de production (Monneveux et This, 1996). Housley *et al.*, (1982) citent comme paramètre d'adaptation l'amélioration du taux de remplissage pour compenser la réduction de la durée induite par les stress de fin de cycle. L'adaptation prend aussi la forme d'une mise à contribution des hydrates de carbones produits avant l'anthèse et stockés sous forme non structurale dans le pédoncule (Triboi *et al.*, 1985; Siddique *et al.*, 1989; Dakheel *et al.*, 1993).

La stratégie la plus utilisée par les sélectionneurs pour identifier des variétés plus tolérantes aux stress est l'esquive, par raccourcissement de la durée du cycle (Sayre *et al.*, 1995). La précocité au stade épiaison est associée à la réduction de la hauteur du chaume et à l'augmentation de la capacité de tallage– épi (Berger, 1985).

Une plus grande persistance de la chlorophylle, donc de l'activité photosynthétique post-anthèse, est souvent notée chez les génotypes précoces (Al Hakim *et al.*, 1996). La persistance de la chlorophylle de la feuille étendard, celle des glumes et des barbes aident aussi à un meilleur remplissage du grain, sous stress (Wardlaw et moncor, 1995; Richards *et al.*, 1997).

La précocité de la variété Waha apporte une ou plusieurs de ces caractéristiques qui ne sont désirables, pour les milieux semi-arides, que si elles engendrent un plus de rendement en grains.

La contribution de la génétique à l'amélioration du rendement en grains a été importante dans les milieux au climat régulier et favorable. Cette contribution est évaluée à 50%, du gain global de rendement (Berger, 1985 ; Slafler et Andrade, 1990). L'apport des nouveaux génotypes dans les milieux variables est plus difficile à mettre en relief à cause de l'instabilité du rendement en grains (Feyerherm et Paulsen, 1981; Blum *et al.*, 1991).

La variation d'une année à l'autre des quantités de pluies reçues, de leurs distributions et du régime des températures hivernales et printanières induit une forte variation des rendements. Sous conditions pluviales la durée de remplissage atteint rare sa valeur maximale, suite aux effets des stress climatiques qui ne permettent pas au grain d'atteindre son poids potentiel. La conséquence est un faible rendement en grains (Gallagher *et al.*, 1976; Abbassenne *et al.*, 1997).

Sous ces conditions, les nouvelles obtentions doivent être adaptées à la variabilité du milieu de production pour lequel elles sont destinées. L'adaptation à des milieux aux régimes hydriques et thermiques variables est associée à l'ajustement osmotique, à une plus grande production de biomasse racinaire et à un plus grand transfert des réserves d'assimilés vers le grain en pleine croissance, sous stress (Blum *et al.*, 1991; Richards *et al.*, 1997).

La précocité d'épiaison est un mécanisme d'adaptation très important qui permet l'esquive des stress de fin de cycle (Ceccarelli et Grando, 1991; Monneveux et This, 1996; Richards *et al.*, 1997). Cette caractéristique est le plus souvent associée à une amélioration du rendement et de l'adaptation aux stress conduisant à la régularité de la production (Pfeiffer, 1993).

Les résultats de la présente étude montrent l'avantage relatif des variétés précoces. Cependant pour régulariser le rendement en grains, il faut viser une date de précocité d'épiaison optimale qui doit se situer d'une année sur l'autre entre les 19 – 25 avril.

Conclusion

La sélection doit donc cibler des variétés dont la date de précocité d'épiaison correspondrait à cet optimum et qui, en plus, auraient des dates d'épiaison peu variables (en terme de jours calendaires) d'une année sur l'autre. L'obtention d'une productivité optimale et stable passe par l'obtention de ce type de variété. Cette sélection devrait donc porter à la fois sur les exigences thermo périodique et photopériodique de la plante, en plus de la tolérance aux basses températures.

Chapitre III. Etude de la variabilité génétique de la tolérance aux basses températures et des performances agronomiques

Introduction

La production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) subit, sur les hauts plateaux, les dégâts des basses températures de janvier à avril et puis elle est exposée au déficit hydrique et aux hautes températures au cours des mois de mai et juin. La sélection pour augmenter le rendement en grains était suivie par de la précocité au stade épiaison pour une utilisation effective de l'humidité limite du sol et pour échapper aux stress abiotiques, déficit hydrique et hautes températures, de fin de cycle de la culture.

Les génotypes sélectionnés sont, en général, alternatifs avec un cycle de développement assez court. La précocité s'avère avantageuse dans les basses plaines de l'intérieur du pays, à hiver plus doux. Les génotypes précoces subissent, cependant, de sérieux dommages dus aux basses températures, lors des saisons froides dans les régions d'altitude comme celle des hauts plateaux (Hadjichristodoulou, 1987; Bouzerzour et Benmahammed, 1994; Annichiarico *et al.*, 2002).

L'échappement, aux dégâts du froid tardif, a été obtenu avec succès grâce à la sélection de variétés dont l'épi se développe plus lentement, au niveau de la couronne, à la surface du sol, et qui épient tôt pour minimiser les effets des stress abiotiques de fin de cycle de la culture (Hoshino, et Tahir, 1987; Villegas *et al.*, 2000).

Le développement de variétés qui tolèrent les basses températures est important pour stabiliser et réduire des baisses de rendement en grains des régions d'altitude. L'existence de la variabilité génétique pour la tolérance aux basses températures est très importante pour que la sélection puisse être effective dans les régions caractérisées par ces contraintes climatiques (Fletcher, 1983).

La tolérance aux basses températures dépend principalement du processus d'acclimatation qui se déroule lorsque les plantes sont exposées aux basses températures non gélives (Rizza *et al.*, 1994). Le processus d'acclimatation lui même intègre des changements qui ont lieu au niveau cellulaire. Ces changements sont l'expression de ce qui est ressenti par les organes de la plante lorsqu'ils sont soumis aux basses températures non gélives lors de l'endurcissement (Fowler *et al.*, 1996).

La tolérance aux basses températures hivernales est plus présente chez les variétés de type hiver que chez celles de type printemps, plus facultatives. Elle est liée à la capacité génotypique d'endurcissement (Kosner et Pankova, 2002). Des tests artificiels, de laboratoire, ont été développés pour évaluer la variabilité génotypique de tolérance aux basses températures (Rizza *et al.*, 1994).

Les tests artificiels, du taux de survie de la couronne et celui de la stabilité de la membrane cellulaire, ont été utilisés pour évaluer la variabilité génotypique du blé dur (*Triticum durum* Desf) de tolérance des basses températures, et de tester si les géotypes qui possèdent la capacité de s'endurcir, en plein champ, au cours de l'hiver, retiennent cette caractéristique pour tolérer les basses températures printanières.

III.1. Objectifs

Les objectifs de la présente étude étaient d'évaluer la variabilité génotypique de résistance aux basses températures sur la base des tests artificiels de laboratoire et d'analyser les liaisons entre les résultats de ces tests et les performances agronomiques des géotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) suivis au cours de 4 campagnes agricoles en plein champ.

III.2. Matériel et méthodes

III.2.1. Matériel

Le matériel génétique utilisé est constitué de 12 variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) (Tableau III.1). Ces lignées ont été choisies sur la base de leur diversité géographique, la phénologie et la morphologie. Elles représentent les variétés anciennes et celles récemment sélectionnées. La description de certaines de ces variétés a été rapportée par plusieurs auteurs dont Erroux (1957); Bouzerzour et al., (1995); Abbassenne et al., (1997); et Fellah et al., (2002).

L'expérimentation a été conduite au cours des campagnes agricoles 1999/00 à 2002/03, sur le site expérimental de la station ITGC de Sétif, située aux coordonnées 36°12'N et 5°24'E à une altitude de 1081m. Elle a été conduite dans un dispositif en blocs complètement randomisés avec trois répétitions avec des parcelles élémentaires de 5 m de long par 1,2 m de large. La densité de semis adoptée est de 250 graines m². Le semis est réalisé avec un semoir à essai au cours du mois de novembre. L'expérimentation est engraisée par un apport 100 kg ha⁻¹ de superphosphate à 46%, juste avant le semis, et 100 kg ha⁻¹ d'urée à 34%, apportés au stade tallage. Le désherbage est effectué chimiquement, avec du GranStar [*Méthyl tribénuron*], à raison de 12 g ha⁻¹ mélangé à 250 l d'eau.

Tableau 2. Matériel végétal étudié au cours des campagnes 1999/00 à 2002/03

N°ordre	Pedigree	Origine
1	Méxicalli75	Mexicaine*
2	Merouani	Algérienne**
3	Mohammed Ben Bachir	Algérienne
4	Heider/Martes//Huevos de Oro	ICARDA
5	Waha	Algérienne
6	Roqueno	Espagnole*
7	Cyprus ₁	Chypriote*
8	Cyprus ₂	Chypriote*
9	Mazouna	Algérienne**
10	Durum d'Oran	Algérienne**
11	Beliouni3258	Algérienne**
12	Hedba ₃	Algérienne*

* = matériel provenant du projet Wanadin, ** =matériel reçu gracieusement de l'USDA Maryland banque de gènes via l'ITGC Alger

III.2.2. Méthodes

Pour caractériser les variétés étudiées, les notations faites ont porté sur:

- La détermination, en nombre de jours calendaires, de la durée des phases constitutives du cycle de développement de la plante en notant les stades repères levée, épi_{1cm}, épiaison et maturité physiologique.
- La hauteur de la plante, la biomasse aérienne, le nombre d'épis et le rendement en grains sont mesurés à maturité. Ces variables ont été estimées à partir de la fauche d'un bottillon de végétation provenant d'un segment de rang de 1 m de long.

L'indice de récolte et le nombre de grains par épi ont été déterminés par calcul.

$$IR = (Rdt/Biomasse) \times 100.$$

$$NGE = (RDT \times 1000) / NE \times PMG$$

- Le poids de 1000 grains est déterminé à partir du comptage et pesage de 250 graines par parcelle élémentaire.

- La biomasse aérienne produite aux stades épi_{1cm} et épiaison a été déterminée à partir de la récolte d'un segment de rang de 1 m de long.

- La feuille étendard a été caractérisée par son poids sec, sa longueur (L), sa largeur (l) et sa surface (SF) obtenue par le produit:

$$SF \text{ (cm}^2\text{)} = L \times l \times 0,607 \text{ (Spagnoletti Zeulli, and Qualset, 1990).}$$

Ces moyennes caractéristiques sont basées sur les valeurs prises sur 10 feuilles étendards par répétition. La valeur 0.607 représente le coefficient de régression de la surface déduite à partir du papier grammage sur celle déduite par le produit (L x l). La régression est faite pour 20 feuilles prises au hasard de l'essai.

• Le test de la tolérance au froid de la couronne est réalisé selon la méthode décrite par Marshall et Kolb (1982). Pour ce faire, au cours de la 3^{ème} décennie du mois de janvier 2002, 100 plantules par géotypes, au stade végétatif 3-4 feuilles, endurcies sous conditions de plein champ, sont échantillonnées de la 4^{ème} répétition, semée à cet effet.

Ces plantules sont transportées au laboratoire, lavées à l'eau courante et transplantées dans des boîtes en plastique (dimensions L= 20 cm, l=10 cm, et H=7cm) remplies de sable humide, à raison de 25 plantules par boîte.

Les boîtes sont ensuite introduites dans un freezer qui est programmé pour atteindre la température d'évaluation à une progression de $-2^{\circ}\text{C h}^{-1}$. Une fois la température seuil est atteinte, les plantules y séjournent pendant une durée de 60 minutes. Ce après quoi, la température du freezer est programmé pour augmenter à une vitesse de $+2^{\circ}\text{C h}^{-1}$ pour atteindre la température ambiante du laboratoire de 22°C .

Les plantules décongèlent sous conditions ambiantes, puis les feuilles et les racines sont coupées pour ne laisser une végétation de 3 cm de long au dessous et en dessus de la couronne ou plateau de tallage. Les plantules, ainsi excisées, sont laissées pour reprise de la croissance sous conditions ambiantes du laboratoire. Les températures seuils testées sont -5 , -10 , -12 et -15°C . Le nombre de plantules qui reprennent croissance est déterminé 10 jours après re-transplantation pour avoir une estimation de la résistance des géotypes évalués.

Des feuilles, échantillonnées au stade gonflement, sont testées a -1 , -3 , -6 et -9°C , pendant 60 minutes. L'intensité des dommages causés par le froid à la membrane est déterminée en mesurant la quantité relative d'électrolyte qui s'échappe de la cellule. Des échantillons traités, de 10 disques foliaires de 0.5cm de diamètre, mis dans des tubes à essai contenant 15 ml d'eau distillée déminéralisée, sont maintenus à température ambiante, pendant trois heures avant qu'une première lecture de la conductivité est prise.

Les échantillons sont ensuite mis dans un bain marie, dont la température est portée à 100°C , pendant 30 minutes et une seconde lecture de la conductivité de la solution est faite après trois heures. Les dommages de la membrane cellulaire sont estimés par la formule:

$$\% \text{ dommages} = 100 (C_1 - C_w) / (C_2 - C_w)$$

où C_1 est la conductivité de la solution prise juste après décongélation des échantillons, C_2 est la conductivité de la solution prise après passage dans le bain marie et C_w est la conductivité de l'eau utilisée (Bajji *et al.*, 2001).

III.2.3. Analyse des données

L'analyse des données a été faite en utilisant le logiciel statitcf (1991). Les données du taux de survie de la couronne et du pourcentage de dommage de la membrane cellulaire ont été transformées en arcsinus X et ensuite analysées. Ces données ainsi que celles relatives aux variables mesurées ont été analysées selon un dispositif factoriel en blocs complètement randomisés avec trois répétitions.

Les différences entre les moyennes géotypiques sont testées avec le test de la plus petite différence significative au seuil de 5% de probabilité (Ppds5%). L'analyse en

composantes principales a été faite sur la base de la matrice des corrélations entre les variables soumises à l'analyse et qui montrent des différences génotypiques significatives lors de l'analyse de la variance.

Les variances inter campagnes du rendement en grains, du nombre de grains par épi, du poids de 1000 grains et de la durée de la phase végétative ont été déterminées par variété, par la formule donnée par Lin *et al.*, (1986):

$$S^2_i = \sum (Y_{ij} - Y_i)^2 / (q-1)$$

où \sum = somme faite de la campagne $j=1$ à la campagne $j = q = 4$; Y_{ij} = moyenne du caractère considéré du $i^{\text{ème}}$ génotype observée au cours de la $j^{\text{ème}}$ campagne; Y_i = Moyenne des 4 campagnes du $i^{\text{ème}}$ génotype pour le caractère considéré = $(\sum Y_{ij})/q$.

III.3. Résultats

III.3.1. Effet de l'environnement sur l'expression des caractères morphologiques

L'analyse de la variance des variables mesurées au cours des 4 campagnes agricoles indique un effet année et une interaction génotype x année significatifs (Tableau III. 2). L'effet année est de loin le plus important, expliquant une grande partie de la variation observée dans les variables soumises à l'analyse. Cet effet met l'accent sur l'importante variabilité des conditions de croissance auxquelles est soumise la culture du blé dur sur les hauts plateaux.

Source	Année (A)	Génotype (G)	G x A	Résidus
ddl	3	11	33	94
PVG (j)	859*	199*	28*	12.2
HT (cm)	1594*	522 ^{ns}	286*	78.2
NE	961666*	21888 ^{ns}	18956*	3543.2
PMG	1019*	32 ^{ns}	30.0*	6.3
BIO	27347*	979 ^{ns}	1580.0*	156.6
NGE	3056*	48 ^{ns}	103.0*	14.4
RDT	3574*	217 ^{ns}	216.0*	30.1
HI	222.6*	173 ^{ns}	64.8*	18.6

Tableau 3. Carrés moyens de l'analyse de la variance des variables mesurées

ns, *, ** = effet non significatif et significatif au seuil de 5 et 1 % respectivement.

L'effet génotype, testé relativement à la variance de l'interaction génotype x année, n'est significatif que pour la durée de la phase végétative (Tableau III.2). Les différences entre génotypes restent apparentes malgré une interaction significative qui est surtout d'ordre quantitative, n'induisant pas de crossing-over ou de changements dans l'ordre de classement des génotypes étudiés, pour ces deux variables.

Pour les autres variables mesurées, la variation des conditions de croissance entre les différentes années induit des réponses génotypiques très différentes. Cette variation

environnementale conduit à un changement de classement des génotypes selon les années. Ces changements inhibent les différences entre génotypes qui sont ainsi masquées par les moyennes faites sur les 4 campagnes agricoles.

Les deux campagnes 1999/00 et 2000/01, avec une moyenne 32.9 q ha⁻¹, ont été relativement moins favorables à l'expression du rendement en grains, caractère ultime de la culture. Les deux campagnes suivantes ont été par contre relativement plus favorables, avec une moyenne de rendement en grains de 50.1 q ha⁻¹ (Tableau III.3).

Comparée à la plus petite différence significative dont la valeur est 5.8 q ha⁻¹, la différence entre les moyennes des campagnes favorables et défavorables, de 17.2 q ha⁻¹, est hautement significative. Cette différence est due à une durée de cycle et notamment une phase végétative plus longue, une production de biomasse aérienne plus élevée et des composantes de rendement prenant des valeurs au dessus de la moyenne générale des 4 campagnes agricoles (Tableau III.3).

Les moyennes de rendement, assez similaires, des deux campagnes classées comme défavorables, sont obtenues selon des itinéraires d'élaboration du rendement complètement différents. Les deux campagnes favorables sont moins divergentes pour les composantes que ne le sont les deux campagnes défavorables (Tableau III.3).

Ces résultats corroborent ceux de Benmahammed *et al.* (2004) ainsi que ceux de Moragues *et al.*, (2006) qui rapportent que le même rendement en grains peut être obtenu selon différentes combinaisons des composantes de rendement en grains. La campagne 1999/00 a été, ainsi, favorable à l'expression d'un nombre élevé d'épis m⁻², mais défavorable au nombre de grains par épi.

La situation inverse est notée lors de la campagne 2000/01. Les différences pour la biomasse, la durée de la phase végétative, le poids de 1000 grains et l'indice de récolte sont peu marquées entre les deux campagnes (Tableau III.3).

Slafer et Andrade (1991) ont rapporté des informations relatives au phénomène de compensation entre les composantes de rendement en grains chez les céréales. La composante nombre d'épis m⁻² se forme tôt, en début de cycle, une fois le maître brin débute sa montée, juste après la réalisation du stade épi_{1cm} (Hoshino et Tahir, 1987). Cette composante est déterminée une fois le stade gonflement se réalise. Un stress hydrique hivernal et/ou des basses températures du début printemps peuvent causer une forte réduction de cette composante (Gate, 1995; Chenaffi *et al.*, 2006).

Tableau 4. Moyennes des variables mesurées lors des 4 campagnes d'études

	PVG	HT	NE	PMG	BIO	NGE	RDT	HI
Effet moyen année								
1999/00	117	64	649	37.1	69	15.4	33.8	48.6
2000/01	119	67	278	36.8	65	30.4	31.9	49.3
2001/02	128	63	459	33.9	117	32.9	50.5	43.9
2002/03	121	78	340	46.2	112	36.3	49.7	45.8
Effet moyen géotype								
Mexicalli 75	117	62	481	38.7	98	29.4	47.0	50.6
Marouani	125	70	471	40.2	88	28.0	40.3	46.3
MBB	127	65	463	40.3	87	24.4	39.9	44.9
Heider/Mt/Ho	119	62	387	38.0	89	31.2	44.6	50.2
Waha	116	66	427	35.2	84	27.2	41.4	49.8
Roquéno	118	70	453	40.6	110	27.9	46.9	45.7
Cyprus ₁	117	66	428	36.3	83	30.0	41.8	50.9
Cyprus ₂	119	71	464	37.6	99	31.4	47.5	49.5
Durum d'Oran	127	74	455	38.3	99	30.3	36.6	39.8
Beliouni3852	124	61	435	39.8	79	27.7	40.0	50.3
Hedba3	124	85	354	38.7	84	30.0	34.9	42.5
Moyenne générale	121.7	68.5	432	38.5	90.9	28.7	41.5	46.9

PVG = durée de phase végétative 1^{er} jan. – épiaison (j), HT= hauteur de la plante (cm), NE= nombre d'épis m⁻², PMG= poids de 1000 grains (g), BIO= biomasse aérienne (q ha⁻¹), NGE= nombre de grains par épi, RDT= rendement en grains (q ha⁻¹), HI= indice de récolte (%). La composante nombre de grains par épi débute sa formation juste avant l'épiaison, au stade méiose, et s'achève 4 à 8 jours après l'épiaison, une fois que la floraison a eu lieu (Kirby *et al.*, 1992; Bahlouli *et al.*, 2005). Cette composante est sensible aux basses températures printanières (Bouzerzour et Benmahammed, 1994, Mekhlouf *et al.*, 2006). Le stress hydrique et les hautes températures de la période des 10 jours avant et après la date de réalisation du stade épiaison sont aussi délétères à cette composante (Wardlaw et Moncor, 1995, Bahlouli *et al.*, 2005).

Les différences notées entre les deux campagnes 1999/00 et 2000/01 sont elles dues à un effet de compensation ou bien un effet des contraintes abiotiques? Dans la mesure où l'objectif de cette étude est de détecter la variabilité génétique pour la tolérance au froid, l'étude comparative des conditions de croissance et du comportement des géotypes lors des deux campagnes défavorables fourniraient des indications utiles concernant la capacité génétique à tolérer cette contrainte climatique chez les géotypes évalués.

La comparaison des données climatiques des deux campagnes en question indique un printemps relativement plus pluvieux en 1999/00 qu'en 2000/01, associé à des températures moyennes plus douces en 1999/00 qu'en 2000/01. Ces conditions ont inhibé l'expression des épis et favorisé, par compensation, la réalisation d'un nombre de grains par épi relativement élevé lors de la campagne 2000/01 (Figure III.1).

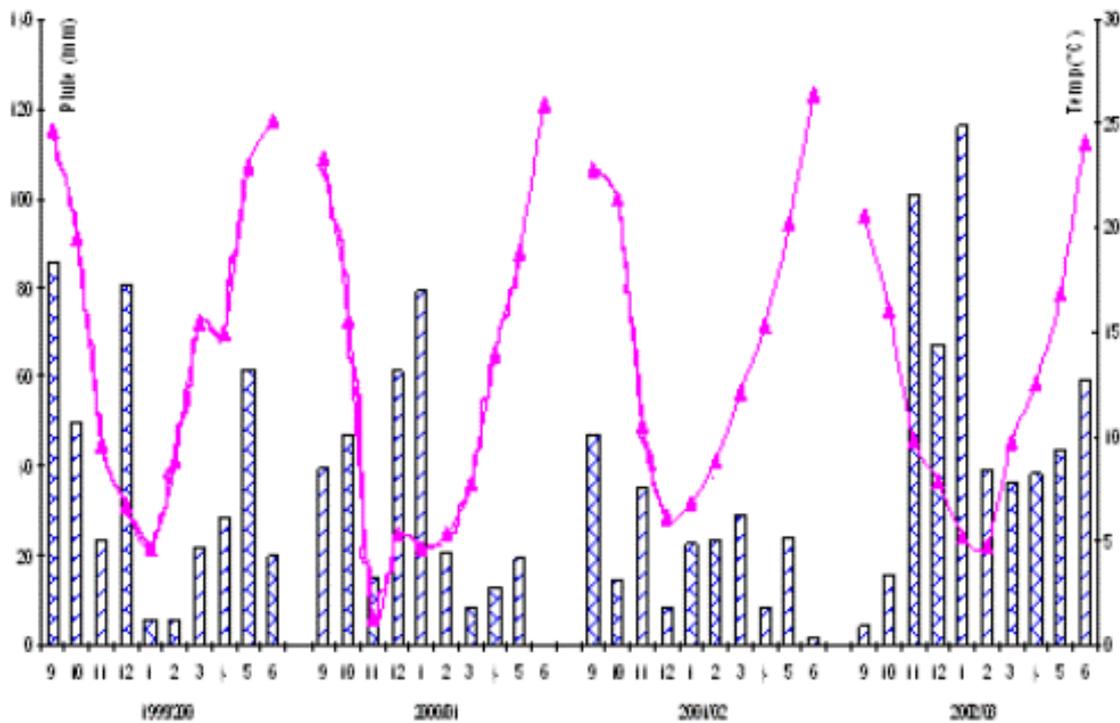


Figure 8. Température moyenne et pluviométrie mensuelles enregistrées lors des 4 campagnes de l'étude

Vu que l'effet moyen génotype n'est pas significatif, l'étude du comportement des variétés étudiées est à faire par campagne. Le groupage des années en fonction du potentiel exprimé de rendement, cache en effet des comportements variétaux très différents. L'examen du comportement des variétés par année indique que chaque saison est valorisée par un groupe de génotypes qui lui est spécifique.

Au cours de la campagne 1999/00, ce sont les génotypes Cyprus₂ et Beliouni₃₅₈₂ qui se sont mieux exprimés avec des rendements moyens de 50.4 et 46.8 q ha⁻¹ respectivement (Figure III.2). En 2000/01, c'est le génotype Waha qui s'est mieux comporté avec un rendement moyen de 45.0 q ha⁻¹, alors qu'au cours de la campagne 2001/02 ce sont les variétés MBB et Cyprus₁ qui sont les meilleures avec des moyennes de 64.9 et 60.9 q ha⁻¹.

En 2002/03, c'est le génotype Roqueno qui se classe premier avec un rendement de 77 q ha⁻¹ (Figure, III.2). Les génotypes, relativement stables au cours des 4 années, sont Cyprus₂ et Heider/Martes//Huevos de Oro avec des moyennes de rendements intersaisons de 47.5 et 44.6 q ha⁻¹ (Tableau III.3, Figure III.2).

Ces résultats mettent en relief l'effet de la variation climatique, indiquée par la figure III. 1, sur l'expression du rendement en grains des différentes variétés évaluées. Ils montrent aussi des différences de réponses des génotypes à la variation du milieu. Comme ils stressent l'importance d'évaluer les génotypes sur plusieurs années pour se prononcer avec moins de risque sur la capacité de production qui doit tenir compte du potentiel de rendement et de la stabilité temporelle de production.

Ces résultats corroborent ceux de Benmahammed *et al.*, (2004) qui trouvent que l'interaction génotype x environnement affecte fortement l'ordre de classement des génotypes et que presque chaque environnement (année) à son génotype spécifique à haut rendement en grains. L'interaction génotype x environnement est causée par la capacité différentielle des génotypes à répondre à la variation climatique et notamment la sensibilité vis à vis des contraintes abiotiques.

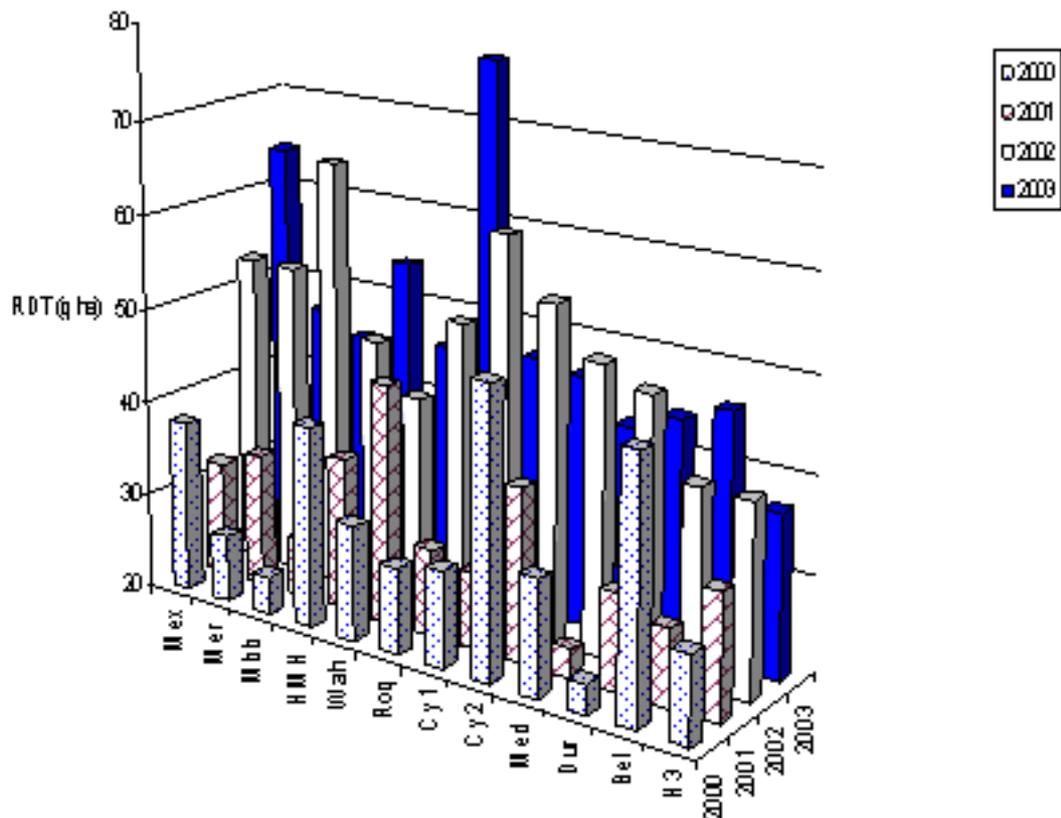


Figure 9. Rendement en grains observé lors des 4 campagnes pour les différents génotypes évalués

Annichiarico *et al.*, (2005) mentionnent les effets des basses températures sur la croissance, le développement et l'expression du potentiel de rendement de 24 génotypes de blé dur évalués sur les hauts plateaux algériens.

Cantero-Martinez *et al.*, (1995) mentionnent que les génotypes répondent différemment à la température moyenne de l'air à la sortie de l'hiver. Ceci conduit à des différences de taux de croissance tôt en début de cycle et à plus d'accumulation de la matière sèche au stade épiaison et à maturité. Dakheel *et al.* (1993) ainsi que Benmahammed *et al.*, (2008) rapportent qu'une meilleure vigueur de croissance tôt en début de cycle est liée à la précocité à l'épiaison.

La durée de la phase végétative utilisée pour estimer la précocité varie de 111 à 129 jours au cours de la campagne 1999/00, la plus précoce, et de 122 à 135 jours au cours de la campagne 2001/02, la plus tardive. Elle varie de 116 à 127 jours, en moyenne des 4 campagnes. Le génotype le plus précoce est Waha et les plus tardifs sont MBB et Durum d'Oran (Figure III.3).

Par campagne, la durée de la phase végétative ne montre de liaisons significatives qu'avec le poids de 1000 grains ($r = 0.580^*$) et l'indice de récolte ($r = -0.740^*$) en 1999/00. Elle est liée avec la hauteur du chaume ($r = 0.620^*$) et l'indice de récolte ($r = -0.700^*$) en 2000/01 et avec l'indice de récolte en 2001/02 ($r = -0.600^*$). L'indice de récolte est issu de la contribution des épis, du nombre de grains par épi et du poids de 1000 grains (Sayre *et al.*, 1997).

De ce fait la corrélation négative indique qu'une longue durée de la phase végétative induit l'accumulation de plus de biomasse aérienne qui n'est pas toujours bien valorisée sous forme de grains. Elle indique aussi qu'une longue durée de la phase végétative expose la plante aux stress de fin de cycle qui réduisent la fertilité et le nombre de grains m^{-2} , affectant ainsi indirectement l'indice de récolte.

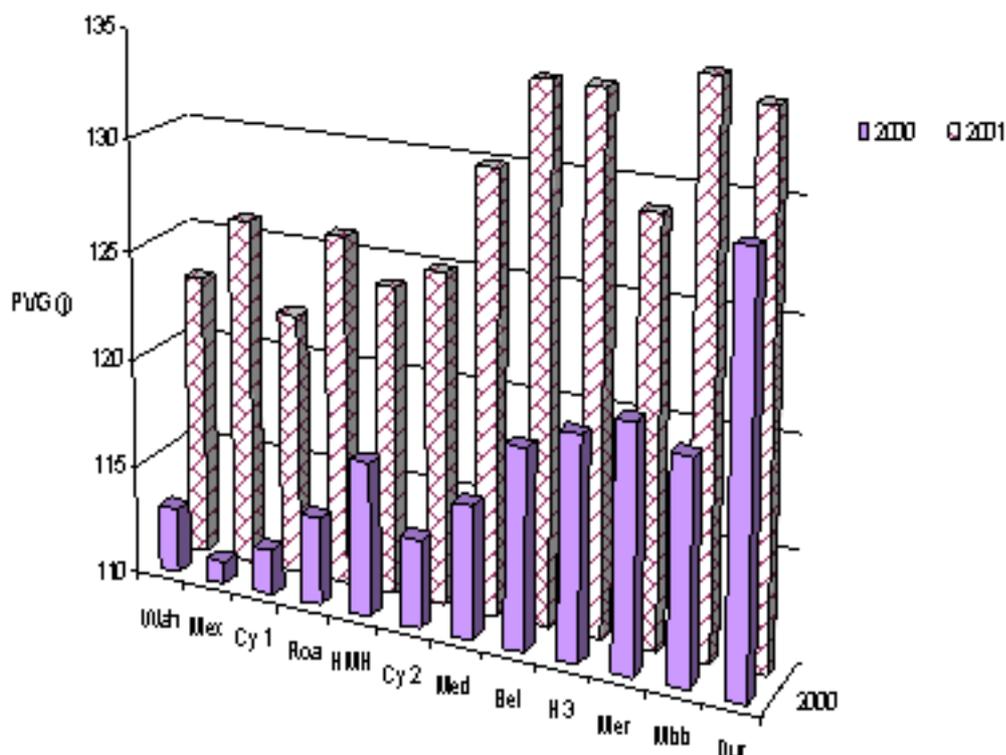


Figure 10 Variation de la durée de la phase végétative des différents génotypes au cours des deux années extrêmes

Le signe de la corrélation indique que ce ne sont pas les stress précoces qui sont à l'origine de la réduction de l'indice de récolte. L'échappement, lié à la durée du cycle, n'est donc pas exploitable directement dans le cas de la présente étude pour identifier les génotypes dont la tolérance - sensibilité est liée à la phénologie.

Les coefficients de corrélation indiquent que le rendement en grains est lié à la biomasse aérienne au cours des 4 années ($r = 0.920^*$, 0.830^* , 0.670^* et 0.650^*), à l'indice de récolte en 1999/00 ($r = 0.700^*$) et 2000/01 ($r = 0.580^*$) et au nombre d'épis par m^2 en 2001/02 ($r = 0.740^*$).

Le nombre de grains/épi est négativement lié au poids de 1000 grains en 1999/00 ($r = -0.640^*$) et au nombre d'épis/ m^2 en 2000/01 ($r = -0.720^*$). Le rendement en grains est donc tributaire de la biomasse et de l'indice de récolte (Figure III.4).

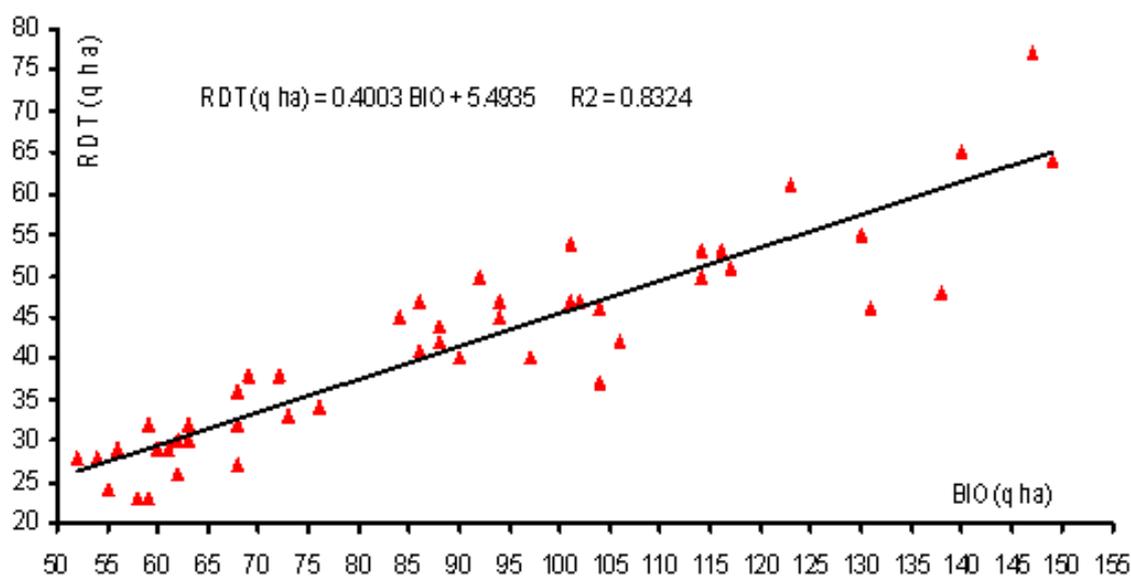


Figure 11. Relation entre le rendement et la matière sèche accumulée à maturité lors des 4 campagnes par les 12 génotypes évalués

III.3. 2. Réponses génotypiques aux basses températures

Le taux de survie exprimé par la couronne d'un génotype donné est la résultante de l'expression du processus d'endurcissement subi au cours de l'automne et l'hiver de la campagne 2001/02. Au cours de ces 90 jours, de novembre à janvier, la moyenne de la température minimale mensuelle était dans les limites des seuils de températures nécessaires au déclenchement du processus d'endurcissement (Tableau III.4). Selon Szucs *et al.*, (1999) les températures déclenchant le processus d'endurcissement sont inférieures à +4°C et le blé dur est complètement endurci en moins de 30 jours.

Tableau 5. Moyennes mensuelles des températures minimales (°C) enregistrées à la station ONM de Sétif durant les 4 campagnes agricoles de novembre à mai.

mois	Campagne	11	12	1	2	3	4
1999/00		2.3	0.3	-1.5	-2.3	2.5	3.1
2000/01		4.6	2.2	1.5	1	2.6	3.5
2001/02		1.9	-0.1	-1.1	-3.2	3.9	2.9
2002/03		5.3	5.0	0.3	1.3	2.6	4.1

L'analyse de la variance indique un effet significatif des températures testées sur le taux de survie de la couronne qui baisse de 6.37% par °C⁻¹ entre -5 à -15°C. La moyenne du taux de survie de la couronne est réduite de 96.39% à -5°C à 32.68% à -15°C (Tableau III.5).

En moyenne des températures testées, le taux de survie de la couronne indique que Cyprus₁, Cyprus₂, Waha, Heider/Martes//Huevos de Oro, Durum D'Oran et Belioni₃₂₅₈ se montrent relativement plus tolérants aux basses températures comparativement à Marouani et Hedba₃ qui se montrent sensibles et souffrent de gros dommages. Le reste des génotypes évalués présentent une tolérance intermédiaire aux basses températures (Tableau III.5).

Tableau 6. Valeurs moyennes du taux de survie (%) de la couronne des géotypes de blé dur endurcis en plein champ et soumis, au laboratoire, à différentes basses températures au cours de la campagne 2001/02.

Températures testées					
Géotypes	-5	-10	-12	-15	Moyenne*
Mexicali75	97.67	80.00	65.33	22.33	66.33
Marouani	96.67	74.33	31.00	07.33	52.08
Mohamed Ben Bachir	98.00	90.00	59.00	17.00	66.00
Heider/Martes/Huevos de Oro	98.33	91.33	76.00	46.00	77.92
Waha	96.33	92.00	59.00	29.00	69.08
Roqueno	94.33	89.33	51.67	03.33	59.66
Cyprus1	98.33	92.33	81.00	61.00	83.16
Cyprus2	97.67	94.00	83.00	61.67	84.12
Mazouna	92.00	82.67	39.00	24.33	59.50
Durum D'Oran	95.00	90.00	74.00	55.67	78.66
Beliouno3258	99.33	92.33	72.33	56.00	79.99
Hedba3	93.00	47.67	20.67	08.33	42.41
*Moyenne	96.39	84.67	59.33	32.68	68.24

* valeurs testées relativement à la variance d'interaction Géotype x Température, l'ANOVA est réalisée sur les valeurs transformées en arc sinus X; les valeurs présentées dans le tableau sont en % de survie; la Ppds5% entre les valeurs moyennes des géotypes est de 12.35%, celle entre les moyennes de température est de 7.13% et celle entre deux combinaisons quelconques (géotype x température) est de =8.45%

La signification de l'interaction géotype x température indique que les géotypes évalués régissent différemment aux températures testées (Tableau III.5, Figure III.5). Les températures de -10 et -12°C permettent de différencier les géotypes évalués sur la base de leur capacité à tolérer les basses températures.

A -15°C Cyprus₁, Cyprus₂, Durum D'Oran, Beliouni₃₂₅₈ et Heider/Martes//Huevos de Oro expriment près de 50% de taux de survie de la couronne; alors que Hedba₃, Roqueno et Marouani présentent un taux de survie presque nul (Tableau III.5).

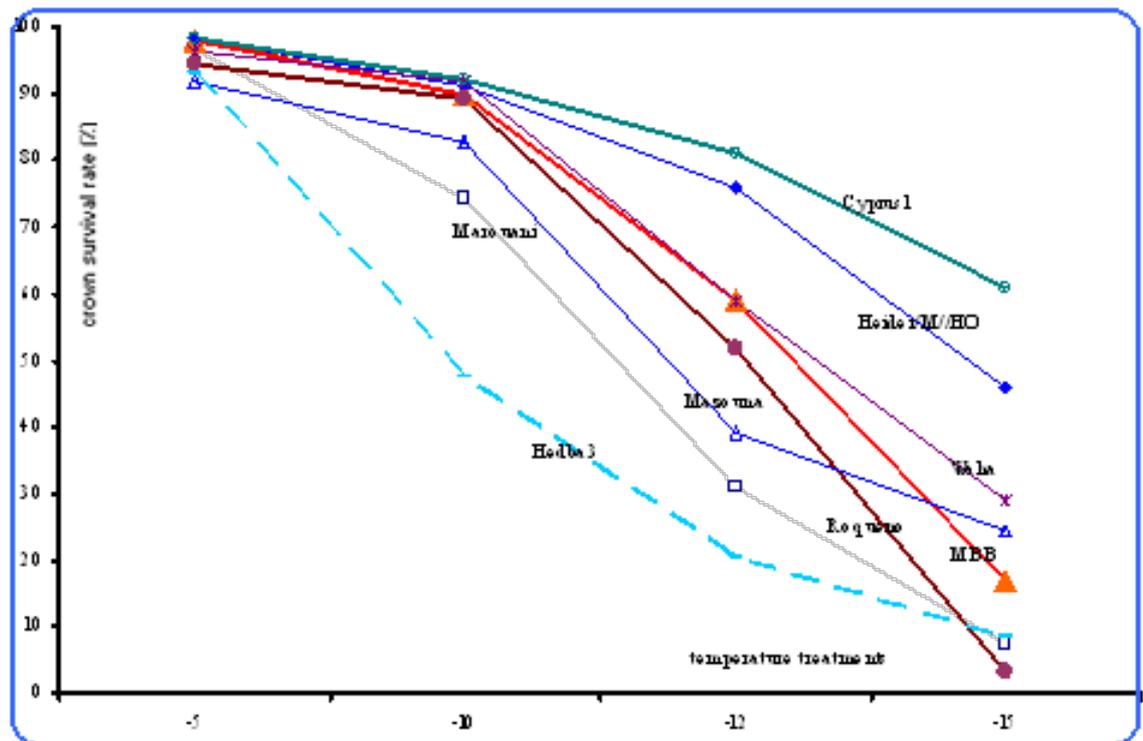


Figure 12. Interaction géotype x température du taux de survie de la couronne de certains géotypes de blé dur soumis à différentes températures basses.

Les différentes températures testées se montrent aussi effectives à causer des dommages sévères à la membrane cellulaire des différents géotypes évalués. L'interaction géotype x température n'est pas significative, les moyennes géotypiques, calculées sur les différentes températures, donnent donc une indication sur la tolérance du feuillage, échantillonné au stade gonflement, aux basses températures.

Les valeurs moyennes géotypiques indiquent que Cyprus₁ est le moins endommagé alors que Marouani et Hedba₃ présentent plus de 50% de dommages cellulaires. Cyprus₂, Durum D'Oran, Mohammed Ben Bachir et Beliouni₃₂₅₈ présentent un même degré de tolérance aux basses températures tel que mesuré par le test de fuite de l'électrolyte cellulaire (Tableau III. 6).

Tableau 7. Valeurs moyennes des dommages (%) causés par les basses températures à la membrane cellulaire des feuilles de blé dur échantillonnées au stade gonflement en plein champ au cours de la campagne 2001/02

Génotypes	Températures testées (°C)				Moyennes
	-1	-3	-6	-9	
Mexicali75	11.67	21.67	49.00	81.67	41.00
Marouani	23.33	41.00	61.67	91.67	54.42
Mohamed Ben Bachir	06.00	19.00	30.33	67.67	30.75
Heider/Martes/Huevos de Oro	12.33	35.33	49.33	73.67	42.67
Waha	18.67	36.00	68.33	82.67	51.42
Roqueno	23.67	33.67	42.33	92.67	48.08
Cyprus1	10.00	20.67	28.67	52.33	27.92
Cyprus2	09.00	21.33	36.67	58.00	31.25
Mazouna	19.33	46.33	60.33	78.33	51.08
Durum D'Oran	11.67	22.67	35.00	64.00	33.33
Beliouno3258	10.00	27.67	49.00	67.67	38.58
Hedba3	22.67	47.67	67.33	90.00	56.92
Moyennes	14.86	31.08	48.17	75.03	42.28

Lsd5% entre les valeurs moyennes des génotypes = 3.14%, Lsd5% entre les valeurs moyennes de traitements de la température = 2.29% et Lsd5% entre deux combinaisons quelconques de la température du génotype X évalue = 7.66%

A -6 C, Marouani, Waha, Mazouna et Hedba₃ présentent plus de 60% de dommages cellulaires alors que Durum D'Oran, Mohammed Ben Bachir, Cyprus₁, Cyprus₂ montrent moins de 40% de dommages cellulaires. La température de -6 C discrimine nettement entre les capacités de tolérance des différents génotypes évalués. Les résultats du test de fuite de l'électrolyte corroborent partiellement ceux du test de survie de la couronne du point de vue classement des génotypes évaluées vis à vis des basses températures ($r = 0.576$, $P < 0.05$, $n=48$).

III.3.3. Liaisons entre le comportement vis-à-vis des basses températures et les performances agronomiques de plein champ

Les trois premières composantes principales expliquent 67.6% du total de la variation disponible dans les données soumises à l'analyse en composantes principales (Tableau III. 7). La première composante principale (CP₁) explique 35.5% du total de la variation disponible.

A cette composante sont liées positivement les variances inter-saisons de la durée de la phase végétative, du nombre de grain par épi et le poids de 1000 grains. La variance inter-saisons du poids de 1000 grains est négativement liée à cet axe.

La seconde composante principale (CP₂) explique 18.2% de la variation disponible; elle représente le taux de survie de la couronne et la variance inter-saisons du rendement en grains qui lui sont positivement liés. Le % de dommages cellulaires et le nombre de grains par épi lui sont négativement liés (Tableau III. 7, Figure III. 6). La troisième composante principale (CP₃) explique, 13.9%, en plus, de la variation disponible. Elle représente le rendement en grains qui lui est négativement lié et la durée de la phase végétative qui lui est positivement liée (Tableau III. 7, Figure III. 6).

Du point de vue agronomique la CP₁ est à interpréter comme le contraste entre, d'une part, le poids de 1000 grains, la variation inter- années (stabilité) du nombre de grains par épi et de la durée de la phase végétative et, d'autre part, la stabilité du poids de 1000 grains.

La CP₂ représente essentiellement la réponse génotypique aux basses températures, mesurée par les tests de la couronne et de la fuite de l'électrolyte cellulaire, le nombre de grains par épi et la régularité inter- annuelles du rendement (Tableau III. 7, Figure III. 6). La CP₃ représente le rendement en grains qui s'oppose à la durée de la phase végétative (Tableau III. 7, Figure III. 6).

Les CP₁ et CP₂ expliquent 53.7% du total de la variation; le plan formé par ces deux axes constitue une bonne base d'interprétation de la typologie des génotypes évaluées et des relations entre les différentes variables mesurées. Suite à leur position relative le long de l'axe représentant la CP₁, les cultivars Marouani, Hedba3 et Beliouni **3258** présentent un poids de 1000 grains supérieur à la moyenne, une faible variance inter années du poids de 1000 grains et des variances inter années de la durée de la phase végétative et du nombre de grains par épi élevées.

Tableau 8. Pourcentage de la variation disponible expliquée par les composantes principales et vecteurs latents de l'analyse en composantes principales des variables mesurées

Composantes principales			
	1	2	3
Variance expliquée (%)	35.5	18.2	13.9
Vecteurs latents			
PVG	0.3556	0.1214	0.4910
σ^2 PVG	0.4500	-0.0590	-0.0407
PMG	0.3993	-0.1116	-0.1275
σ^2 PMG	-0.4252	-0.0388	0.2421
NGE	-0.2583	-0.5734	0.1587
σ^2 NGE	0.2847	-0.1695	-0.2618
RDT	-0.2455	-0.1932	-0.6612
σ^2 RDT	0.0025	0.6474	-0.3135
Taux de survie	-0.2887	0.3253	0.2186
% dommages	0.1984	-0.2189	0.0736

PVG= durée de la phase végétative, σ^2 PVG= variance inter- années de la durée de la phase végétative; PMG= poids de 1000 grains, σ^2 PMG= variance inter année du poids de 1000 grains; NGE= nombre de grains par épi, σ^2 NGE= variance inter années du nombre de grains par épi; RDT= rendement en grains, σ^2 RDT= variance inter années du rendement en grains.

Le long du même axe de la composante CP₁, Cyprus₁, Cyprus₂, Waha et Heider/ Martes//Huevos de Oro présentent les caractéristiques opposées. Ils se distinguent par un poids de 1000 grains inférieur à la moyenne, une variance inter campagnes du poids de

1000 grains élevée et de faibles variances de la durée de la phase végétative et du nombre de grains par épi (Tableau III. 8, Figure III. 6).

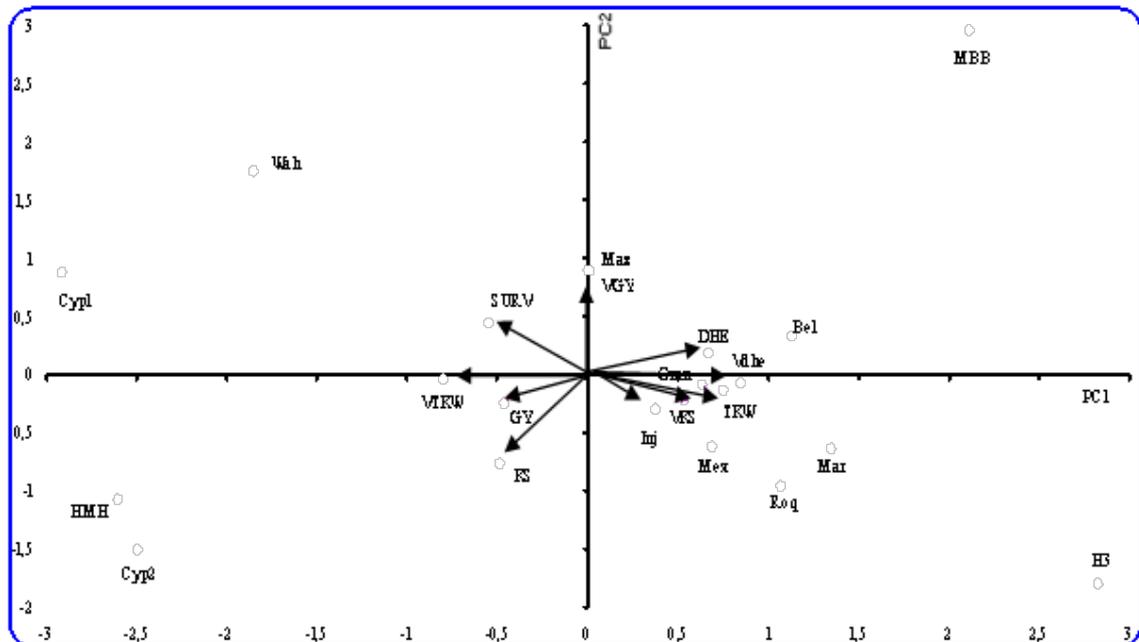


Figure 13. Projections des variables et des génotypes sur le plan formé par les composantes CP1 et CP2 qui expliquent 57.6% du total de la variation

(Les flèches indiquent les corrélations des variables avec les CP. GY = Rendement en grains, TKW= poids de 1000 gains, KS= nombre de grains par épi, DHE= durée de la phase végétative, Inj = dommages cellulaires, Sur= taux de survie de la couronne, et VGY, VTKW, VDHE, VKS = variances inter campagnes. H3 = Hedba3, MBB = Mohammed Ben Bachir, Oran = Durum D'Oran, Maz= Mazouna, Mar= Marouani, Cyp1= Cyprus1, Cyp2= Cyprus2, Wah= Waha, HMH= Heider/Martes//Huevos de Oro, Mex= Mexicali75, Roq= Roqueno, Bel= Beliouni3258).

En considérant les positions relatives des génotypes le long de l'axe 2, Mohammed Ben Bachir montre une tolérance aux basses températures au dessus de la moyenne, une variance inter campagnes du rendement élevée et un nombre de grain par épi inférieur à la moyenne de l'ensemble des génotypes sous évaluation.

De par sa position sur le plan formé par les deux composantes principales CP1 - CP2, Mohammed Ben Bachir se caractérise par un poids de 1000 grains et des variances de la durée de la phase végétative et du nombre de grains par épi élevées.

En plus Waha, Cyprus1 et Beliouni3258, étant positionnées dans le même quadrant du plan formé par les axes principaux 1 et 2 que le cultivar Mohammed Ben Bachir, se distinguent par une tolérance aux basses températures supérieure à la moyenne et un rendement irrégulier. Sur le quadrant opposé du même plan, Cyprus2, Heider/Martes//Huevos de Oro, Marouani et Hedba3 exhibent, eux aussi, une tolérance aux basses températures inférieure à la moyenne, une fertilité épi supérieure à la moyenne et un rendement en grain plutôt régulier (Tableau III. 8, Figure III. 6).

Mexicali₇₅, Roqueno, Mazouna et Durum D'Oran sont plutôt bien représentées par la CP₃. Mexicali₇₅ et Roqueno se caractérisent par un rendement relativement élevé et de la précocité au stade épiaison, alors que Durum D'Oran et Mazouna se distinguent un faible rendement en grains et sont tardifs au stade épiaison. Ces quatre génotypes se caractérisent par des valeurs intermédiaires pour les variables liées à la CP₁ (Tableau III. 8, Figure III. 7).

Parmi les génotypes possédant un rendement en grains élevé et sont précoces, Waha présente un rendement irrégulier associé à une faible fertilité de l'épi, alors que Cyprus₂ et Heider/Martes//Huevos de Oro montrent un rendement plus régulier et une fertilité épi élevée. Cyprus₁ possède des valeurs intermédiaires pour ces variables.

	PVG (j)	σ^2_{PVG}	PMG--	$\sigma^2_{PMG(g)}$	NGE	σ^2_{NGE}	RDT	$\sigma^2_{RDT(g/m^2)}$
Effet moyen année								
1999/00	117		37.1		15.4		338.2	
2000/01	119		36.8		30.4		320.1	
2001/02	128		33.9		32.9		505.3	
2002/03	121		46.2		36.3		497.2	
Effet moyen génotype								
Mexicali ₇₅	117	47	38.7	14.9	29.4	195	470.7	21.0
Marouani	125	30	40.2	46.0	28.0	144	403.2	13.2
Mohammed Ben B	127	39	40.3	18.9	24.4	108	399.1	41.3
Heider/Martes//HO	119	13	38.0	49.6	31.2	16	446.3	2.4
Waha	116	24	35.2	47.3	27.2	50	414.2	37.9
Roqueno	118	32	40.6	20.6	27.9	209	469.5	13.6
Cyprus ₁	117	19	36.3	53.5	30.0	87	418.2	22.5
Cyprus ₂	119	27	37.6	76.0	31.4	78	475.6	6.2
Mazouna	123	34	38.3	47.3	27.4	48	369.2	15.6
Durum d'Oran	127	37	38.3	45.3	30.3	248	366.5	12.8
Beliouni ₃₂₅₈	124	43	39.8	20.8	27.7	95	400.3	7.6
Hedba ₃	124	51	38.7	8.9	30.0	124	349.2	2.4
Moyenne	121.7	33.0	38.5	37.4	28.7	116.8	415.3	16.4
Ppds5%	3.7	--	2.5	--	5.8	--	32.2	--

** x 10³

Tableau 9. Effets moyen année, génotype et variance inter campagnes de la durée de la phase végétative, du poids de 1000 grains, du nombre de grain par épi et du rendement en grains

Parmi les génotypes qui se démarquent par un faible rendement en grains et sont tardifs à l'épiaison, Mohammed Ben Bachir montre un rendement irrégulier associé à une faible fertilité épi alors que Belouni₃₂₅₈, Marouani et Hedba₃ ont un rendement en grains plutôt stable et une bonne fertilité épi (Tableau III. 8, Figure III. 7).

En blé dur, comme pour les autres espèces de céréales à paille, le rendement en grains est une caractéristique qui est dépendante de plusieurs variables constitutives de

l'architecture de la plante. Ces variables sont elles mêmes soumises à l'influence des stress environnementaux dont l'action inhibe la pleine expression du potentiel génétique de la variété considérée. De sévères réductions du rendement en grains font suite à l'action du déficit hydrique, des basses et des hautes températures, agissent séparément ou en combinaison.

Les hauts plateaux de l'est algérien se caractérisent par un climat méditerranéen semi-aride, où 70% des 250-400mm de précipitations annuelles sont enregistrées au cours de la saison froid, allant de la fin de l'automne au début du printemps. Cette période est généralement suivie par un rapide changement dans les conditions climatiques, passant du froid et humide au chaud et sec (Bouzerzour et Dekhili, 1995). Dans ce contexte la variabilité génétique pour la tolérance aux stress joue un rôle important dans le développement de génotypes adaptés à ce type de climat fortement variable.

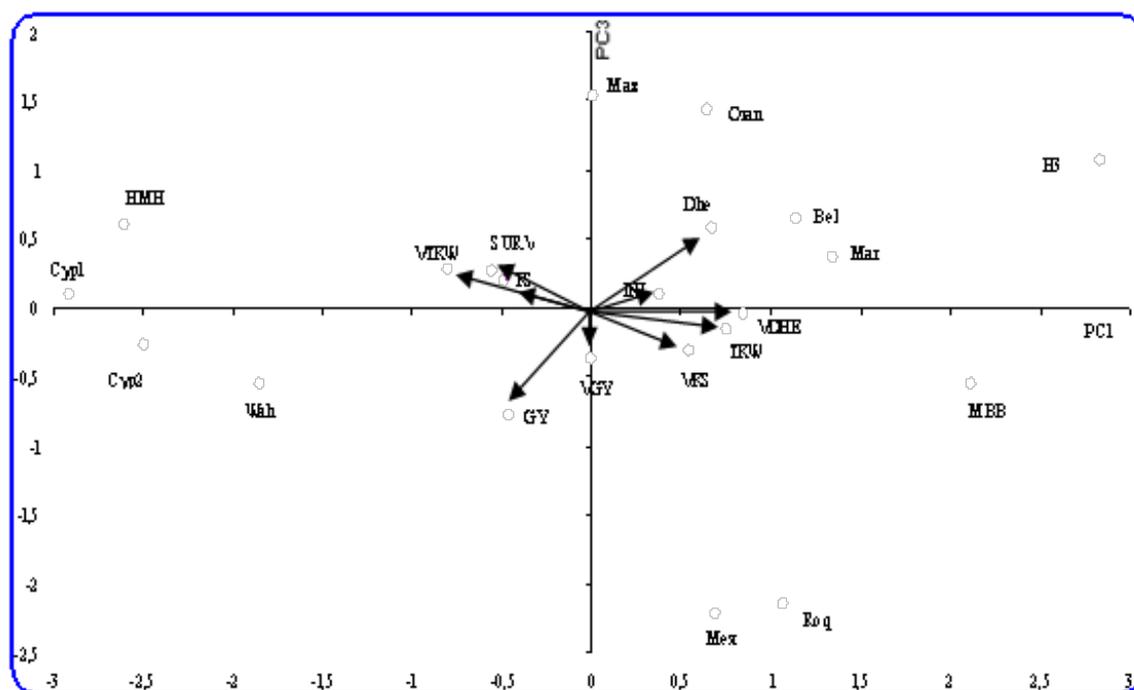


Figure 14. Projections des variables et des génotypes sur le plan formé par composantes principales 1 et 3 qui expliquent 56.10% de la variation démontrée par de l'analyse en composantes principales

(Les flèches indiquent les corrélations des variables avec les CP. GY = Rendement en grains, TKW= poids de 1000 gains, KS= nombre de grains par épi, DHE= durée de la phase végétative, Inj = dommages cellulaires, Sur= taux de survie de la couronne, et V_{GY}, V_{TKW}, V_{DHE}, V_{KS} = variances inter campagnes. H₃ = Hedba₃, MBB = Mohammed Ben Bachir, Oran = Durum D'Oran, Maz= Mazouna, Mar= Marouani, Cyp₁= Cyprus₁, Cyp₂= Cyprus₂, Wah= Waha, HMH= Heider/Martes//Huevos de Oro, Mex= Mexicali₇₅, Roq= Roqueno, Bel= Beliouni₃₂₅₈).

Les résultats de la présente étude montrent que les tests artificiels réalisés au laboratoire sont efficaces dans le classement des génotypes de par leur réponse aux basses températures. La présence d'interaction génotype x température indique que la réponse génotypique varie en fonction de l'intensité du stress thermique testé. Les températures de

-10 et -12°C discriminent nettement entre les différents génotypes testés sur la base du taux de survie de la couronne.

Les résultats du test de la fuite de l'électrolyte cellulaire, effectué sur les feuilles échantillonnées au stade gonflement, étaient positivement corrélés avec ceux du test de la couronne dans le classement des génotypes évaluées du point de vue degré de tolérance aux basses températures. Cette liaison est indicatrice que les génotypes qui sont aptes à s'endurcir en hiver, en plein champ, gardent cette caractéristique jusqu'au stade gonflement.

Les caractères agronomiques mesurées variées significativement entre campagnes agricoles et génotypes, suggérant la présence d'une variabilité génotypique appréciable et de réponses génotypiques variables aux conditions de croissance exprimées lors des différentes campagnes d'évaluation.

Il était cependant possible d'identifier des génotypes qui se distinguent par un rendement en grains élevé et relativement stable dans le temps, associé à une combinaison favorable de composantes de rendement parmi les groupes de génotypes précoces et tardifs. La tolérance était présente aussi bien chez les génotypes tardifs que précoces. Les résultats ne montrent, cependant, pas de relations claires entre les performances agronomiques et la tolérance aux basses températures mesurée de par les tests artificiels.

Une meilleure connaissance de l'adaptation permet de mieux cibler le germoplasme adéquat pour les environnements variables afin de réduire des risques de production nulles au niveau des exploitations. La régularité de la production s'explique généralement par les différences de sensibilité des génotypes vis-à-vis de la variation environnementale.

Cette variation s'exprime sous forme de basses températures au cours de la croissance de l'épi (Vargas *et al.*, 1998), de gel printanier au stade épiaison (Voltas *et al.*, 1999), de déficit hydrique et de hautes températures au cours de la période de remplissage du grain (Wardlaw, 2002). Les facteurs climatiques expliquent généralement une grande part de la variance d'interaction génotype x environnement du rendement en grains du blé dur (Annichiarico *et al.*, 2002; Bahlouli *et al.*, 2005).

Sayre *et al.*, (1997) mentionnent que les composantes du rendement qui contribuent le plus à la réduction du rendement en grains sous stress sont le nombre de grains par m² et le nombre de grains par épi, le poids individuel du grain a moins d'effet. Les basses températures induisent la mortalité des talles fertiles et réduisent la fertilité de l'épi. Les basses températures hivernales se font plus sentir sur la mortalité des talles, alors que les basses températures printanières affectent la fertilité de l'épi (Fletcher, 1983).

Dans la présente étude, la variabilité du rendement en gains n'est pas liée à la variation du nombre de grains par épi ni à la capacité du génotype à tolérer les basses températures mais à la durée de la phase végétative. En effet les performances de rendement en grains, la régularité du rendement et la tolérance des basses températures se présentent comme des caractéristiques peu corrélées et sont représentées par des composantes principales différentes.

Selon Annichiarico *et al.*, (2002) une durée de la phase végétative intermédiaire, des valeurs moyennes au dessus de la moyenne du nombre d'épis/m² et de grains par épi, et une tolérance élevée des basses températures hivernales et printanières sont nécessaires à l'adaptation du blé dur dans les environnements variables. L'adaptation évolutive à la variation climatique de l'environnement de production a contraint les populations locales de blé dur à développer une certaine tardiveté d'épiaison associée à l'évitement des effets du déficit hydrique de fin de cycle, grâce à un système racinaire très profond, un chaume long et la présence de longues barbes (Ali Dib *et al.*, 1992).

Pour vérifier si la variabilité génotypique d'endurcissement et ses conséquences sur la tolérance aux basses températures est d'intérêt pour l'adaptation sous conditions naturelles de production, les données de plein champ doivent être concordantes. Les dommages causés par les basses températures aux géotypes évalués, sous conditions de plein champ, ne peuvent être aisément attribués aux basses températures suite aux effets confondus des stress de fin de cycles qui agissent sur les mêmes caractères.

Il est difficile dans ce cas de s'attendre à une corrélation significative entre les résultats des tests de laboratoire et les performances agronomiques de plein champ. En plus, l'endurcissement est une caractéristique très complexe, et un faible score de dommage cellulaire et/ou un taux élevé de survie de la couronne ne peuvent, évidemment, induire une tolérance vis-à-vis de tous les stress.

L'utilisation des tests artificiels permet, cependant, de cribler le matériel végétal pour la tolérance aux basses températures qui est une composante du processus d'endurcissement. Ces considérations expliquent, en partie, les faibles liaisons trouvées entre les performances agronomiques de plein champ et les résultats des tests artificiels de laboratoire.

Les résultats de la présente étude identifient, cependant, des géotypes qui sont précoces, tolèrent relativement les basses températures et ont un haut potentiel de rendement en grains. Ces géotypes, Waha et Cyprus₁ serviront comme source génétique pour améliorer de la tolérance aux basses températures dans des fonds génétiques à cycle courts. Les conditions matérielles doivent être créées et des protocoles développés afin de pouvoir appliquer les tests artificiels à des stades végétatifs plus tardifs, plus critiques vis-à-vis du gel de printemps.

La variabilité génétique joue, dans ce contexte, un rôle très important dans la détermination de l'adaptation aux divers stress abiotiques et de ce fait comme support de développement des géotypes adaptés à la variation climatique. Les recherches sur la tolérance aux diverses formes de stress abiotiques par les méthodes de sélection classiques sont de plus en plus coupées et renforcées par les méthodes moléculaires d'analyse des gènes et des transcrits impliqués dans la réponse aux stress. Ce qui permet de faire des progrès plus conséquents.

Conclusion

Les tests artificiels employés se sont montrés efficaces dans le classement de géotypes évalués selon le degré de tolérance aux basses températures. Les températures de -10 et -12°C pour le test de la couronne et -6°C pour le test foliaire de la perte d'électrolyte discriminent nettement entre les différents géotypes. Les données des deux tests artificiels sont relativement liées indiquant que les géotypes qui possèdent la capacité de s'endurcir en hiver gardent, en partie, cette caractéristique plus tardivement au printemps.

Les variables agronomiques mesurées varient significativement d'une campagne à l'autre et d'un géotype à l'autre, suggérant la présence de la variabilité génétique et des différences de réponses à la variation de l'environnement. La tolérance aux basses températures est détectable chez les géotypes tardifs et précoces. Cependant les résultats obtenus ne montrent pas de liaisons entre cette tolérance et les performances

agronomiques, vu que les composantes du rendement sont sujettes aux effets des basses températures et des stress de fin de cycle.

Chapitre IV. Expression des protéines sous le choc du froid

Introduction

Au cours de leurs cycles végétatifs les plantes sont sujettes aux stress biotiques et abiotiques. Pour faire face à cette situation, elles développent de nombreuses stratégies adaptatives qui s'expriment à différents niveaux organisationnels à l'échelle de la plante (organe, cellule, organite).

La résistance aux stress qui dépend du stade de développement de la plante, et de l'intensité du stress, ne peut être prévue d'avance, suite à son caractère relatif. Il existe cependant plusieurs critères d'ordre morphologiques, physiologiques et biochimiques qui discriminent relativement bien entre génotypes tolérants et sensibles aux stress. Cette discrimination permet d'envisager la sélection de génotypes résistants.

Ainsi les stress induisent des modifications quantitatives et qualitatives des protéines synthétisées. Les protéines de choc de froid émergent suite à une réponse cellulaire rapide, stimulée lorsque la température baisse fortement relativement à la température optimale de croissance (Thomashow, 1999). Les polypeptides nouvellement synthétisés sont dirigés vers les différents compartiments cellulaires (Dionne *et al.*, 2001). La réorientation de la synthèse protéique induite par le froid fait suite à l'activation du processus de bocage-déblocage de l'expression génique en réponse au stress (Danyluk *et al.*, 1996).

Les protéines ainsi synthétisées jouent un rôle dans la structure et l'assemblage des protéines au sein du cytoplasme et du réticulum endoplasmique. On assiste, chez les sujets sensibles, à une réduction de l'efficacité du système de transport membranaire des sels et des ions métalliques, suite au fait que le froid endommage les pompes transmembranaires (Sarhan et Perras , 1987).

L'accumulation des protéines nouvellement synthétisées permet aux plantes de stabiliser les membranes contre les dommages occasionnés par le stress vu que ces protéines sont thermostables (Salzman *et al.*, 1996; Pearce, 1999; Zerrad *et al.*, 2006). Selon Gusta *et al.*, (1996), ces protéines, nouvellement synthétisées, agissent, en combinaison avec les hydrates de carbone solubles et d'autres composés azotés, dans l'acquisition de la tolérance aux basses températures. Selon Xin et Browse (2000), la protection des membranes cellulaires contre l'effet du froid se réalise par un changement de la composition lipidique de la membrane.

IV.1. Objectif de l'étude

La présente étude se fixe pour objectif d'analyser le changement de la composition protéique foliaire des plantules de blé dur soumises au choc du froid, avec et sans acclimatation.

IV.2. Matériel et méthodes

IV.2.1. Matériel végétal et conduite de l'expérience

Trois génotypes de blé dur (*Triticum durum*, Desf), Waha, Martondur₃ et Martondur₃/Waha ont été semés, dans des pots en plastiques de 1l de contenance, remplis de terreau, à raison de dix graines par pot. Deux pots ont été semés par génotype. Un pot par génotype a été conduit dans des conditions ambiantes du laboratoire, 20- 23°C de température moyenne le jour, 11-12 heures de photopériode et 60-65% d'humidité relative, jusqu'au stade 3-4 feuilles. Ce pot constitue le traitement non endurci (T1).

Le pot restant a été soumis, après germination, à des basses températures de 3±1°C, pendant deux semaines, pour endurcissement (T2). Après quoi l'ensemble des pots, des traitements T1 et T2, a été soumis à un choc de basses températures de -5°C pendant 24 heures dans un freezer thermo réglable de marque LMS. L'expérience a été répétée trois fois, dans le temps, suite à la faible capacité volumique du freezer utilisé.

IV.2.3. Mesures

IV.2.3.1. Teneur en chlorophylle

La teneur en chlorophylle a été déterminée sur un prélèvement de 100 mg de matière fraîche du tiers médian de la dernière feuille bien développée. Les échantillons foliaires sont broyés dans 10 ml d'acétone à 80%. Après filtration, sur du papier Whatman N°1, l'absorbance de l'extrait est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre, modèle Sontarys Techtron 635, aux longueurs d'ondes 663 et 645 nm, utilisant une cuvette en plastique de 1 ml de volume et de 1cm d'épaisseur. La concentration en chlorophylle totale, exprimée en mg l⁻¹, est déduite par la formule suivante, attribuée à Arnon (1949) par Richardson *et al.*, (2002):

$$\text{Chlorophylle totale (mg l}^{-1}\text{)} = 20,2 A_{645} - 8,02 A_{663}$$

IV.2.3.2. extraction des protéines solubles et SDS-Page

Selon Bensadoun et Weinstein, (1976), il existe plusieurs variantes de la méthode d'extraction des protéines, suite à la grande variabilité des échantillons soumis à l'analyse. Le principe de base, à respecter lors de l'extraction, est de solubiliser le maximum des protéines existantes, tout en minimisant les modifications induisant des artefacts lors de l'électrophorèse.

La dénaturation des protéines doit permettre l'individualisation et la solubilisation des polypeptides par rupture des ponts di- sulfures et des liaisons hydrogène non- covalentes. Pour assurer la rupture des ponts di- sulfures, des anti-oxydants tels que le β- mercapto-éthanol sont utilisés. Des substances qui suppriment les interactions hydrophobes, tel que le sodium dodécyl sulfate (SDS) sont nécessaires pour rompre les liaisons non- covalentes (Bensadoun et Weinstein, 1976).

Dans la présente expérience, 2 g de matière fraîche du tiers médian des feuilles bien développées sont échantillonnées et homogénéisées pendant trois minutes dans un tampon contenant 50 mM HEPES (N-2-Hydroxy Ethyl Piperazine -N'- Ethane Sulfonique acide) pH 7.0, 10mM MgCl₂, 1mM EDTA, 10% (v/v) éthylène glycol.

Le mélange a été centrifugé pendant 15 minutes à 10000 g à 4°C. Les protéines solubles ont été précipitées dans 65% (p/v) de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et incubées pendant 10 minutes à 100°C. Elles sont ensuite centrifugées pendant 10 minutes à 12000 g et puis précipitées de nouveau dans 65% (p/v) de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

La quantification des protéines solubles a été faite selon la méthode de Bradford (1976). Cette méthode permet, grâce à une réaction colorée des protéines avec le bleu de coomassie, d'estimer par spectrophotométrie, à la longueur d'onde 595nm, la concentration des protéines ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ MF) des extraits obtenus, par référence à une courbe d'étalonnage établie à partir d'une solution d'albumine de sérum de boeuf.

Pour ce faire on prépare, à partir d'une solution mère de sérum albumine à 1 mg/ml, des solutions de sérum d'albumine à 200, 400, 600, 800 et 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dans des fioles de 50 ml. On mélange 1000 μl de chacune de ces solutions à 200 μl de réactif de Bradford, on agite au vortex puis on mesure l'absorbance à 595 nm dans les 5 minutes qui suivent. On trace ensuite la droite:

Absorbances = F(solutions sérum albumine) entre 200 et 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Le réactif de Bradford est préparé en dissolvant 100 mg magnésium, 2 mg de bleu de Coomassie G250 dans 50 ml d'éthanol 95%. La solution est mélangée à 100 ml d'acide phosphorique à 85% et complétée à 1 l avec de l'eau distillée. Le réactif est filtré à l'aide du papier Whatman N°1 et stocké dans une bouteille ambre à la température ambiante.

Pour le SDS-PAGE, l'extrait protéique a été solubilisé dans un tampon composé de 3% (p/v) SDS (sodium dodécyl sulfate), 10% (v/v) glycérol et 62.5 mM Tris, pH 6.8 et 5% (v/v) β -mercapto éthanol. Des échantillons de 100 μl sont chargés dans les puits de l'électrophorèse de marque FISHER dans un gel de polyacrilamide de 15% (p/v).

Le gel de séparation est préparé selon Laemmli (1970), avec 375 mm Tris-HCl, pH 8.8, 0.1% (p/v) SDS, 0.05% (p/v) ammonium persulfate et 0.4 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ TEMED. Le gel de concentration à 4% est préparé avec 125 mm Tris-HCl, pH 6.8, 0.1% (p/v) SDS, 0.05% (p/v) ammonium persulfate et 0.5 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ TEMED.

Les gels sont retirés des plaques et colorés, pendant 2 heures, dans une solution constituée de méthanol, d'eau et d'acide acétique dans des proportions volumiques de 40:50:10 contenant du bleu de coomassie à 0,2%. Les gels sont décolorés par plusieurs lavages successifs dans une solution d'acide acétique -méthanol - eau dans les proportions 7:30:63 (Laemmli, 1970).

Les gels obtenus ont été photographiés et analysés par comparaison avec les marqueurs protéiques de différentes masses moléculaires provenant d'un kit Sigma. Ces protéines standards (marqueurs) sont la phosphorylase b de 97.4 kDa; l'albumine de sérum de boeuf de 66.0 kDa; l'ovalbumine de 43.0 kDa; l'anhydrase carbonique de 29.0 kDa; la trypsine inhibitrice du soja de 20.1 kDa et le lysozyme de 14.3 kDa.

IV.2.4. Analyses statistiques

L'analyse des données est faite par la méthode ANOVA utilisant le logiciel Statitcf (1991). Les mesures ont fait l'objet d'une analyse de la variance à deux facteurs. L'analyse est complétée par des comparaisons multiples des moyennes par le test de la plus petite différence significative au seuil de 5 % (Steel et Torrie, 1980).

IV. 3. Résultats et discussion

IV.3.1. Teneur en chlorophylle

Le contenu en chlorophylle de la feuille est étroitement lié à l'activité photosynthétique, à l'accumulation de la matière sèche et au taux de la croissance relative (Poshmasari *et al.*, 2007). Il est étroitement lié, également à la concentration de l'azote de la feuille. Hussein *et al.*, (2000) montrent que des concentrations chlorophylliennes et azotés foliaires élevées conduisent à une importante production de biomasse aérienne.

Le choc du froid affecte significativement le contenu en chlorophylle de la feuille. On note cependant peu de différences significatives pour le contenu chlorophyllien entre les génotypes étudiés, mais des réponses variables selon le traitement appliqué, induisant une interaction génotype x choc de froid significative (Tableau IV.1).

Ainsi en l'absence d'endurcissement et du choc de froid, le contenu en chlorophylle est nettement plus élevé. Sous l'effet du froid et en absence d'endurcissement, le contenu en chlorophylle est significativement réduit, comme il l'est après endurcissement. En effet les moyennes du contenu en chlorophylle sont de 16.63, 12.30 et 10.20 mg l⁻¹, respectivement pour le traitement non endurci et n'ayant pas subi de choc du froid, le traitement endurci et soumis au choc du froid et le traitement n'ayant pas subi d'endurcissement mais soumis au choc du froid (Tableau IV.2).

Tableau 10. Carrés moyens des écarts de l'analyse de la variance de la chlorophylle totale des trois génotypes.

Sources de la variation	ddl	Carrés moyens des écarts
Stress (S)	2	96.72 [*]
Génotypes (G)	2	16.90 ^{ns}
G x S	4	19.86 ^{**}
Résiduelle	16	0.93

ns,* et ** effets non significatifs et significatifs au seuil de 5 et 1% respectivement.

L'interaction génotype x traitement du froid indique des réponses variées dépendantes du génotype. Après endurcissement, Waha perd près de 17.9% de son contenu en chlorophylle foliaire sous l'effet du choc du froid. La réduction du contenu en chlorophylle, sous l'effet du choc du froid, est de 28.2% en l'absence d'endurcissement (Tableau IV.2, Figure IV.1).

Martondur₃ perd 12.7% contre 31.7% pour les mêmes traitements, par contre la lignée Martondur₃/Waha est la plus affectée, avec des réductions de 34.1 et 63.1% du contenu en chlorophylle, sous l'effet du choc du froid après et sans endurcissement, respectivement (Tableau IV.2, Figure IV.1).

Le contenu en chlorophylle donne toute l'importance à la feuille comme source productrice des hydrates de carbone. Il joue dans ce cadre un important rôle dans le processus photosynthétique. Les plantes contiennent plusieurs types de chlorophylles mais seulement les formes a et b sont impliquées dans le processus de capture de l'énergie lumineuse par les antennes réceptrices (Lichtenthaler, 1987).

Le contenu en chlorophylle est très sensible aux effets des divers stress comme la nutrition azotée, l'éclairement, la pollution de l'air, les herbicides, les hautes températures, l'intensité lumineuse et les basses températures (Lichtenthaler, 1987, Ludlow et Powles, 1988). Ainsi Colom et Vazzana (2002) mentionnent que le stress hydrique réduit significativement le contenu en chlorophylle et que la chlorophylle a est plus sensible que la chlorophylle b chez les graminées pérennes. Cette sensibilité varie selon les génotypes. En effet certains génotypes montre une sensibilité élevée de l'appareil photosynthétique à la photo- inhibition qui fait suite à la fermeture des stomates et à la réduction de l'assimilation du CO₂ induites par le stress (Ludlow et Powles, 1988).

Effets		Moyennes	
Stress (S)	Endurcissement + choc froid (T1)	12.30	
	Pas d'endurcissement + choc froid (T2)	10.20	
	Pas d'endurcissement - choc froid (T3)	16.63	
	Ppds5%	03.83	
Génotype (G)	Martondur ₃	12.01	
	Martondur ₃ /Waha	12.52	
	Waha	14.60	
	Ppds5%	03.83	
S x G	T1	Martondur ₃	12.31
	T1	Martondur ₃ /Waha	12.20
	T1	Waha	14.38
	T2	Martondur ₃	9.62
	T2	Martondur ₃ /Waha	6.83
	T2	Waha	12.16
	T3	Martondur ₃	14.10
	T3	Martondur ₃ /Waha	18.53
	T3	Waha	17.26
		Ppds5%	1.67

Tableau 11. Valeurs moyennes de la chlorophylle (mg l⁻¹) mesurée chez les trois génotypes soumis au stress

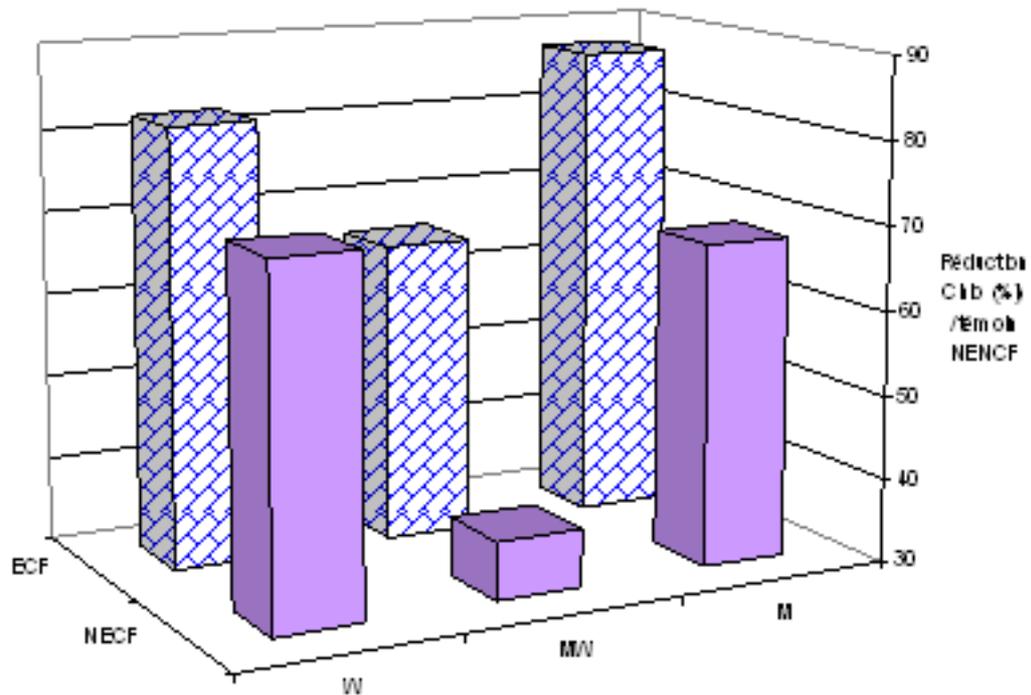


Figure 15. Réduction de la teneur en chlorophylle totale sous l'effet du choc du froid et l'endurcissement, % de la valeur moyenne du témoin non endurci et non traitement par le choc du froid (ECF = endurci + choc du froid, NECF = non endurci + choc du froid)

Heckathorn *et al.*, (1998) notent que les protéines du choc thermique, de faible poids moléculaire, des chloroplastes (cLMW_HSP) interviennent dans la stabilité du photosystème II (PSII) au cours du stress en maintenant le transfert des électrons. En ajoutant des cLMW_HSP à des chloroplastes isolés avant et après stress, Heckathorn *et al.*, (1999) montrent que les cLMW_HSP protègent le PSII de la dénaturation, adaptant le fonctionnement de ce dernier aux conditions imposées par le stress. **Knight et Ackerly (2001)** rapportent une corrélation positive entre l'expression des cLMW_HSP et la fluorescence chlorophyllienne, ce qui supporte l'hypothèse que le rôle des cLMW_HSP est de maintenir l'activité de transfert des électrons du PSII sous stress.

Les résultats de la présente étude indiquent que le choc du froid induit une réduction significative du contenu en chlorophylle. Cette réduction est, cependant, relativement moindre après endurcissement. Les réponses varient en fonction des génotypes et du traitement imposé. Après endurcissement Martondur affiche un contenu en chlorophylle plus stable que sans endurcissement. L'endurcissement améliore la stabilité de la chlorophylle de Waha comparativement au traitement sans endurcissement.

La chlorophylle de Martondur₃/Waha est la plus instable sous choc du froid, après ou sans endurcissement. Ces résultats suggèrent que le génotype Martondur répond mieux à l'endurcissement et qu'il porte des gènes induisant l'expression cLMW_HSP qui protègent le PSII des effets du stress, rendant la chlorophylle relativement plus stable sous l'effet des basses températures.

IV.3.2. teneurs en protéines solubles

L'analyse de la variance des protéines solubles montre des effets stress, génotype et une interaction stress x génotype significatifs (Tableau IV.3). Ces résultats indiquent que l'endurcissement active l'accumulation des protéines solubles, cependant les génotypes évalués répondent différemment à l'endurcissement (Tableaux IV.3 et IV.4). Ainsi après endurcissement, et en moyenne des trois génotypes, la quantité des protéines totales est de 38.6% supérieure à celle notée chez le traitement non endurci et soumis au choc du froid.

Tableau 12. Carrés moyens des écarts de l'analyse de la variance des protéines solubles accumulées chez les trois génotypes sous l'effet du choc du froid, avec et sans endurcissement

Sources de la variation	ddl	Carrés moyens des écarts
Stress (S)	1	465.32**
Génotypes (G)	2	129.18**
G x S	4	105.48**
Résiduelle	16	6.25

** effets significatifs au seuil de 1%.

Effets	Moyennes
Stress Endurcissement + choc froid (T1)	36.51
(S) Sans endurcissement + choc froid (T2)	26.34
Ppds5%	02.62
Génotype Martondur ₃	27.23
(G) Martondur ₃ /Waha	36.41
Waha	30.64
Ppds5%	03.21
S x G T1 Martondur ₃	29.07
T1 Martondur ₃ /Waha	46.25
T1 Waha	34.21
T2 Martondur ₃	25.39
T2 Martondur ₃ /Waha	26.56
T2 Waha	27.07
Ppds5%	04.55

Tableau 13. Valeurs moyennes des protéines solubles (mg/ml) mesurée chez les trois génotypes soumis au choc du froid avec et sans endurcissement

En moyenne des traitements du froid, Martondur₃/Waha accumule significativement plus de protéines, ce génotype est suivi par Waha et en dernière position Martondur₃ avec des moyennes respectives de 36.41, 30.64 et 27.23 mg/ml (Tableau IV.3). L'interaction stress x génotype indique qu'après endurcissement Martondur₃/Waha accumule le plus de

protéines. En absence d'endurcissement, cette même lignée ne se démarque pas des deux autres génotypes testés (Figure IV. 2, Tableau IV.4).

IV.3.3. SDS-PAGE

La comparaison des profils électrophorétiques sur gel de polyacrylamide met en évidence des différences entre variétés et traitements de froid (Figure IV.3). Ces différences sont d'ordre quantitatives et qualitatives. En effet les bandes protéiques diffèrent en nombre et en intensité (Figure IV.3). Par ailleurs, on relève la présence de protéines de différents poids moléculaires variant de 6.5 à 205 kDa (Figure IV.3)

Pour Waha, on note des différences entre le traitement endurci (WE= 1) et le traitement non endurci (WNE= 2). L'endurcissement induit, chez ce génotype, la synthèse *de novo* d'une protéine de faible poids moléculaire dont la masse est proche de 45 kDa (repère 1). L'endurcissement accentue, aussi, chez ce même génotype, l'accumulation d'une protéine de faible poids moléculaire dont la masse est de 6.5 kDa (repère 2).

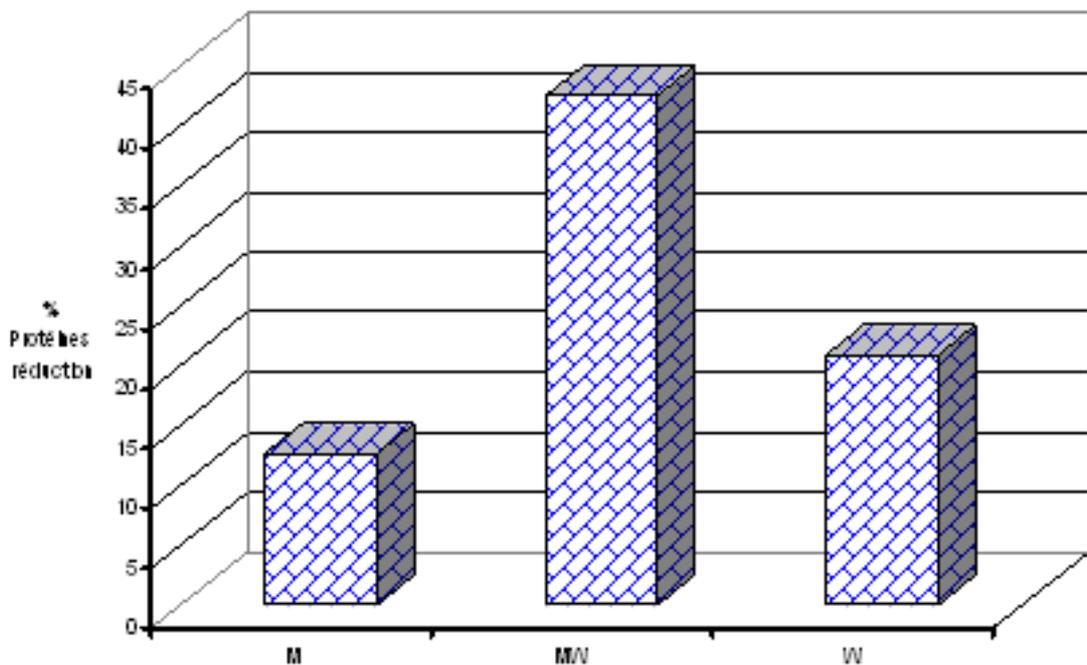


Figure 16. Pourcentage de réduction des protéines solubles sous le choc du froid, en absence d'endurcissement, chez les trois génotypes étudiés

L'analyse des profils des protéines accumulées chez Martondur₃/Waha (M/WE= 3, M/WNE= 4) fait apparaître une surexpression d'une protéine de haut poids moléculaire, de l'ordre de 116 kDa, en absence d'endurcissement et la répression de l'expression d'une protéine d'un poids moléculaire de 30 kDa, après endurcissement (Figure IV.3). L'analyse des profils des protéines accumulées chez Martondur₃ (ME =5, MNE =6) n'indique pas de changement dans le nombre de bandes, mais une surexpression des protéines après endurcissement, comparativement au traitement non endurci (Figure IV.3).

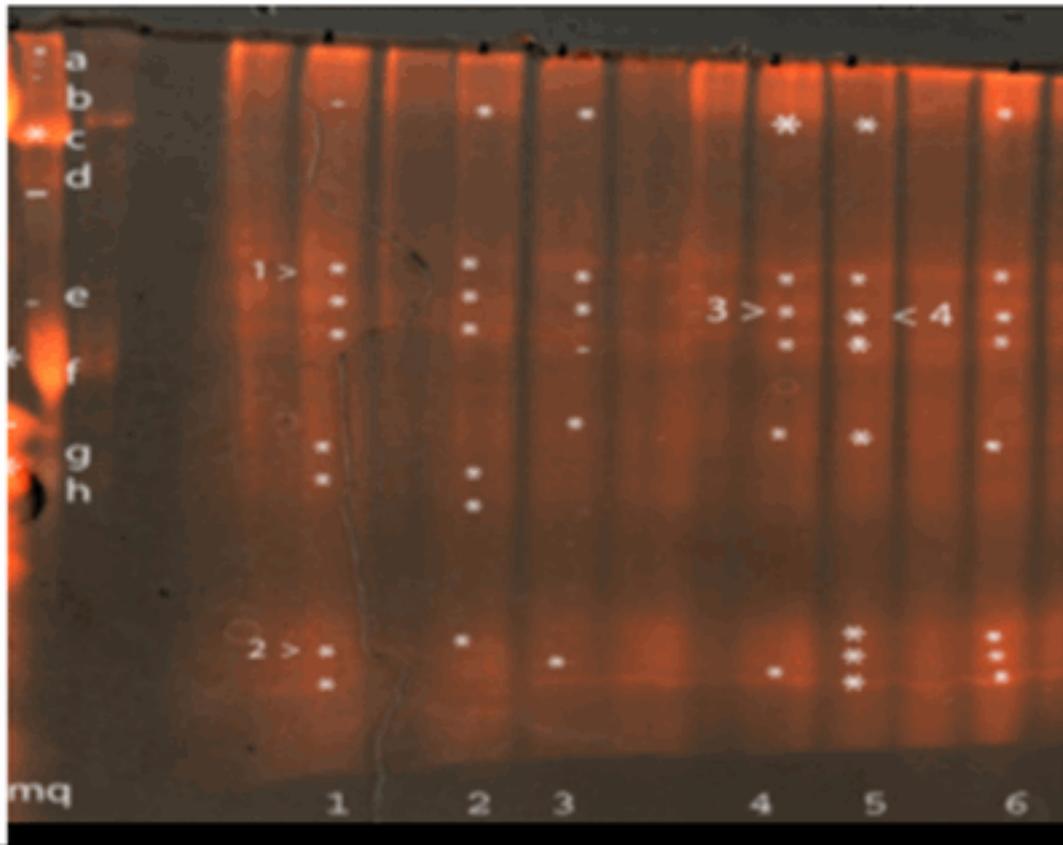


Figure 17. Réponse protéique des trois cultivars soumis au choc du froid (1=WE, 2=WNE, 3= M/WE, 4 =M/WNE, 5= ME, 6= MNE)

Ces résultats corroborent avec ceux de **Sarhan et Perras** (1987) observent, suite à l'analyse des profils électrophorétiques des protéines solubles, que l'acclimatation au froid induit des changements dans la nature des protéines solubles accumulées chez le blé, avec une prépondérance des protéines de haut poids moléculaires, dans le voisinage de 200 kDa.

L'accumulation de ces protéines chez les génotypes tolérants comparativement aux génotypes sensibles suggère l'existence d'une corrélation entre la tolérance au froid et l'accumulation de ces protéines spécifiques. Ces mêmes auteurs observent l'augmentation de l'intensité d'accumulation de trois protéines dont les poids moléculaires sont de 48, 47 et 42 kDa. Par contre l'intensité de cinq autres protéines, dont le poids moléculaire varie de 93 à 63 kDa, diminue au cours de l'endurcissement (**Sarhan et Perras**, 1987).

Ces changements sont interprétés comme faisant suite au ajustement métabolique en réponse aux basses températures, plutôt que des changements spécifiques liés au développement du processus d'endurcissement. L'acclimatation des plantes au froid est un processus actif résultant de l'expression de nombreux mécanismes physiologiques et métaboliques d'adaptation aux basses températures.

Parmi les changements métaboliques les plus importants observés sous basses températures, on note l'accumulation des hydrates de carbones, des protéines, des acides nucléiques, des acides aminés et des hormones régulatrices de la croissance (Gusta *et al.*, 1996). Plusieurs résultats des recherches suggèrent que l'accumulation des sucres en combinaison avec les protéines nouvellement synthétisées, protègent les protéines et les membranes de la dénaturation par le froid (Dionne *et al.*, 2001). Houde *et al.*, (1992)

trouvent une corrélation entre l'accumulation des protéines thermostables de type WC₁₂₀ et l'induction de la tolérance au froid chez le blé tendre.

En comparant les profils des protéines extraites, Parida *et al.*, (2004) notent que les polypeptides 31, 30, 27, 16 et 13 kDa forment l'essentiel des protéines présentes dans les plantes non acclimatées. Les mêmes profils des protéines sont présents chez les plantes acclimatées avec, cependant, une forte intensité des polypeptides 30 et 31 chez les génotypes tolérants et la synthèse *de novo* d'un polypeptide de 26 kDa.

Parida *et al.*, (2004) mentionnent que le contenu protéique foliaire décroît graduellement sous l'effet de l'intensité du stress salin. Cette diminution des protéines totales est attribuée à l'activité croissante des protéases sous stress et se fait au profit d'une augmentation des acides aminés. L'hydrolyse des protéines par des protéases libère les acides aminés qui jouent un rôle dans l'ajustement osmotique.

Yen *et al.*, (1997) observent, également, l'accumulation de cinq polypeptides, au poids moléculaire de 40, 34, 32, 29 et 14 kDa, sous stress salin. Ces polypeptides diffèrent du point de vue rapidité d'induction après imposition du stress. Trois polypeptides, aux masses moléculaires 40, 34, 29 kDa, apparaissent rapidement (réponse précoce) et les deux autres, dont la masse moléculaire est de 32 et 14 kDa, apparaissent plus tardivement (réponse tardive). Guy et Haskell (2005) identifient plusieurs polypeptides de haut poids moléculaires dont la synthèse et la présence dans le tissu foliaire étaient significativement corrélées avec l'induction de la tolérance au froid. Ils établissent que des changements d'expressions géniques ont lieu au cours de l'acclimatation conduisant à la synthèse de nouvelles protéines en réponse au froid. Dionne *et al.*, (2001) notent que le génotype tolérant accumule plus de protéines que le sensible chez le ray grass annuel (*Poa annua* L.).

Les résultats de la présente étude indiquent que l'endurcissement induit par les basses températures 2/4°C affecte le contenu en chlorophylle qui est significativement réduite chez les trois génotypes. Cette réduction est accentuée pour ce caractère sous choc thermique. A l'opposé, on constate que l'endurcissement, active la synthèse des protéines solubles chez les trois génotypes.

L'analyse des profils protéiques révèle une réponse variée pour les trois génotypes étudiés. A ce sujet, on note l'apparition de nouvelles bandes chez Waha ; une répression d'une bande pour Martondur₃/Waha à une surexpression de bande pour le cultivar Martondur₃.

Conclusion

Le teneur moyenne en chlorophylle est peu variable chez les trois génotypes étudiés. Par contre, on enregistre une variation chez les traitements. Mettant en relief, l'effet de l'endurcissement et du choc thermique provoqué par les basses températures sur la réduction du contenu chlorophyllien.

La synthèse des protéines totales révèle des variations à la fois entre cultivars et au sein des traitements appliqués (endurcissement + stress, stress sans endurcissement). Expliquant en partie, la variabilité génotypique. La lignée Martondur₃/Waha se distingue par un dynamisme remarquable en accumulant plus de protéines après endurcissement. Cette réponse, semble être due à sa capacité de tolérance au froid.

L'analyse électrophorétique a révélée des différences quantitatives et qualitatives entre des traitements et au sein génotypes étudiés. Cette différence est matérialisée par la présence de protéines de différents poids moléculaires variable. A ce sujet, après endurcissement, on note l'apparition de bandes de faibles poids moléculaires chez Waha. L'endurcissement fait apparaître une protéine de poids moléculaire assez important chez le cultivar Martondur₃/Waha.

Conclusion générale et perspectives

La culture du blé dur au niveau de la zone des hautes plaines est confrontée à plusieurs contraintes abiotiques qui sont les causes principales de la faiblesse des rendements et l'irrégularité de la production. Parmi ces contraintes le gel dû aux basses températures négatives, qui engendre des pertes importantes et touche essentiellement le peuplement au m² et la fertilité de l'épi.

L'étude a portée sur l'évaluation du comportement de deux variétés de blé dur divergentes aux conditions environnementales et évalue leur potentiel de production sur une longue période. Dont, le but est de déterminer le type de variété le mieux adaptée. Suivi par une étude portant, sur la variabilité génétique pour la tolérance au froid provoqué par les basses températures, et le choix de critères permettant de sélectionner pour cet objectif.

Les résultats révèlent que dans le cas de la zone des hautes plaines céréalières, le génotype relativement stable en matière de productivité est celui qui se caractérise à la fois par une précocité à l'épiaison, peu variables en termes de durée (en jours calendaires), stable et aurait un niveau de tolérance aux basses températures est souhaitable. Les génotypes évalués pour cette étude, sont les variétés Mbb et Waha.

La sélection de lignées tolérantes au gel tardif, provoqué par les basses températures durant la phase méiose-épiaison est nécessaire en vue de réduire les pertes de rendement et stabiliser la production au niveau des zones des hautes plaines. Les tests de tolérance au froid réalisés sur douze génotypes divergents en conditions contrôlées ont permis de faire un classement des variétés selon le degré de tolérance au froid. Les températures de -10 et -12°C pour le test de la couronne et -6°C pour le test foliaire de la perte d'électrolyte discriminent nettement entre les différents génotypes. Les résultats des tests de froid, montrent qu'à -15°C Cyprus₁, Cyprus₂, Durum D'Oran, Beliouni₃₂₅₈ et Heider/Martes// Huevos de Oro expriment près de 50% de taux de survie de la couronne; alors que Hedba₃, Roqueno et Marouani présentent un taux de survie presque nul. Le test de l'intégrité cellulaire révèle qu'à -6°C, les génotypes Cyprus₁, Cyprus₂ semblent être les plus tolérants avec moins de dommages enregistrés. Inversement à cela, les variétés Marouani, Waha, Mazouna et Hedba₃ présentent le taux de dommages le plus élevés. Ainsi, les résultats des deux tests se joignent partiellement dans le classement des génotypes vis-à-vis des basses températures. Il ressort, à travers les résultats que la tolérance au froid n'est pas corrélée aux performances agronomiques, vu que les composantes du rendement sont sujettes aux effets des basses températures et des stress de fin de cycle.

D'autres part, les mesures de la teneur en chlorophylle, des protéines totales et un dosage par électrophorèse ont été tentées sur deux lignées parentales (Martondur₃ et Waha) et une lignée fixe Martondur₃/Waha-L28, sur des échantillons endurcis et stressés, non endurcis et stressés et des témoins (conditions normale de culture). La teneur en chlorophylle est peu variable entre génotypes, par contre l'endurcissement induit des variations par rapport aux échantillons non endurcis. Les résultats indiquent que

l'endurcissement maintient le contenu chlorophyllien à niveau significativement supérieur, comparativement aux échantillons non endurcis.

La synthèse des protéines totales révèle des variations chez l'ensemble des traitements étudiés. L'endurcissement, induit une augmentation de la quantité des protéines totales de 38.6% à celle notée chez le traitement non endurci et soumis au choc du froid. Chez les génotypes, endurcis et traités par le froid, Martondur₃/Waha-L28 accumule significativement plus de protéines, suivi par Waha et en dernière position Martondur₃ avec des moyennes respectives de 36.41, 30.64 et 27.23 mg/ml. La lignée Martondur₃/Waha-L28 se distingue en accumulant plus de protéines après endurcissement. Cette réponse, semble être due à sa capacité de tolérance au froid.

La séparation des protéines par électrophorèse révèle des différences entre les échantillons témoins et soumis aux stress. Cette différence est qualitative et également quantitative, donnant plus de concentration à certaines bandes, par contre d'autres semble avoir une tendance inverse.

En tout état de cause, nous pensons avoir lancé la réflexion sur un phénomène qui est à la fois redoutable et complexe et constitue un facteur limitant de la production dans les conditions des hautes plaines céréalières. La sélection de matériel génétique précoce à l'épiaison, possédant un niveau de tolérance acceptable aux basses températures gélives et stables semble être amplement justifiée. Cette manière de voir les choses peut être considérée comme une approche globale de sélection vis-à-vis des stress abiotiques (gel, froid et sécheresse) au niveau de la zone.

La productivité d'une variété de blé dur est sous le contrôle de deux types de caractéristiques, endogènes propres à elle-même (potentiel génétique) et de milieu de culture (déficit hydrique, sécheresse, choc thermique, froid, gel ... etc.). Dans cette étude nous considérons que le froid gélive durant certaines phases sensibles de la plante du blé dur est réellement un facteur limitant qu'il faut prendre en considération dans les programmes d'amélioration /sélection. Ce travail peut être développé pour mieux 1) élucidé le phénomène de l'endurcissement dans l'expression des différences génétiques de tolérance au froid gélive chez le blé dur. 2) développer des outils et des tests d'aides à la sélection 3) mettre en place une pépinière génétique de froid.

En effet, l'endurcissement au froid chez le blé est sous le contrôle d'un système génétique très complexe, impliquant des changements physiologiques et métaboliques. Ce système est induit par les basses températures durant la période d'acclimatation. Il ressort, à travers plusieurs écrits que certaines protéines spécifiques sont induites lors de la période d'endurcissement au froid et que leur accumulation est corrélée avec le degré de tolérance au gel.

Cependant, la nature des changements physiologiques et moléculaires ainsi que la nature des protéines impliquées dans la régulation de ce processus est à élucidée. Ainsi, il serait intéressant de poursuivre les travaux de recherche en : a) mise en relief des changements (Expression et/ou répression) en protéines lors d'une application d'un processus d'endurcissement. b) localisation et caractérisation de ces protéines. Pour réaliser cette étude diverses méthodes chromatographiques couplées à l'électrophorèse, seront utilisées. Ces protéines une fois identifier et caractériser, sont les transcrit de l'expression des gènes de la tolérance au gel. Ce dernier point, nécessite l'utilisation d'outils ou de méthodes d'analyse d'expression des gènes, cartographie génétique, détection de QTL, transformation génétique.

Les premiers résultats obtenus dans cette étude peuvent constituer une base de travail dans ce domaine. Un programme de recherche sur les blés est engagé par l'INRAA / ITGC et l'ICARDA, dont le volet tolérance au froid est pris en charge au niveau de l'Unité de Sétif. Par ailleurs, tout progrès dans ce thème ne peut être réalisé en dehors du recours à la sélection assistée par des marqueurs moléculaires et travaillant au sein d'un réseau de recherche spécialisé.

Références bibliographiques

- Abbassenne, F., 1997. Etude génétique de la durée des phases de développement et influence sur le rendement et ces composantes chez le blé dur (*Triticum durum*, Desf). *Thèse de Magister*. INA, El Harrach.
- Abbassenne, F., Bouzerzour, H., et Hachemi, L. 1998. Phénologie et production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) en zone semi-aride. *Annales Agronomiques INA*, 18 : 24-36.
- ADE. 2000. le marché mondiale du blé et la place de l'Union Européenne. Rapport d'évaluation de la politique communautaire du blé dur : 30pp.
- Al Hakim, A., Monneveux, P. and Deleins, E. 1996. Selection response for carbon isotope discrimination on a *Triticum polonicum* x *Triticum durum* cross: potential interest for improvement of water efficiency in durum wheat. *Plant Breed.* 115:122-126.
- Ali-Dib, T., Monneveux, P., et Araus, J.L. 1992. Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur. II. Caractères physiologiques d'adaptation. *Agronomie*, 12:381-393.
- Allard, F., Houde, M., Kröl, M., Ivnov, I., Huner, N.P.A and Sarhan, F. 1998. Betaine improves freezing tolerance in wheat. *Plant and cell physiology*, 39: 1194-1202.
- Annichiarico, P., Chiari, T., Bazzani, F., Bellah, F., Doucene, S., Yallaoui-Yaici, B., Abdellaoui, Z., Belloula, B., Bouazza, L., Bourmel, L., Hamou, M., Hazmoue, T., Kelkouli, M., Ould Said, H., and Zerargui, H. 2002. Response of durum wheat cultivars to Algerian environments -II. Adaptive traits. *J. Agri. Environ. Intern. Development*, 96:189-208.
- Annichiarico, P., Chiari, T., Delloi, G., Doucene, S., Yallaoui-Yaici, B. and Bellah, F. 2002. Response of durum wheat cultivars to Algerian environments: V. Long term yield potential of locations. *J. Agri. Environ. Intern. Development*, 96:261-271.
- Annichiarico, P., Abdellaoui, Z., Kelkouli, M. and Zerargui, H., 2005. Grain yield, straw yield and economic value of tall and semi dwarf durum wheat cultivars in Algeria. *Journal of Agricultural Science*, 143: 57-67
- Annichiarico, P., Bellah, F., and Chiari, T. 2006. Repeatable genotype x location interaction and its exploitation by conventional and GIS- based cultivar recommendation for durum wheat in Algeria. *Eur. J. Agro.* 24:70-81.
- Araus, J. L., Ali Dib, T., and Nachit, M. 1998. Some insights into morphological traits associated with cereal yield increases in mediterranean environments. *In: Proceeding of SEWANA, ICARDA*: 139-157.
- Araus, J.L., Slafer, G.A., Reynolds, M. P. and Royo, C. 2002. Plant breeding and water relations in C₃ cereals. What should we breed for? *Ann. Botany.* 89: 925-940.

- Araus, J. L., Villegas, D., Aparicio, N., Garcia del Moral, L. F., El Hani, S., Rharrabti, Y., Ferrio, J. P. and Royo, C. 2003. Environmental factors determining carbon isotope discrimination and yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Crop Sci.*, 43:170-180.
- Arnon DI. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1–15. in Richardson, A. D., Shane, Duigan P., and Graeme, P. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. Berlyn Yale University, *School of Forestry & Environmental Studies*, 370 Prospect Street, New Haven CT, 06511 USA.
- Bahlouli, F., Bouzerzour, H., Benmahammed, A. and Hassous, K. L. 2005. Selection of high yielding and risk efficient durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars under semi arid conditions. *J. Agro.* 4: 360-365.
- Bajji, M., Kinet, JM., and Lutts, S. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in *durum* wheat. *Plant growth regulation* 00:1-10.
- Bakumenko, N. J. and Rusako, V. A. 1977. *Soviet plant physiology – V.24-1 Part. 2:* 148-151.
- Baldy, C. 1974. Contribution à l'étude fréquentielle des conditions climatiques et leur influence sur la production des principales zones céréalières en Algérie. *Document technique*, projet céréales 152p.
- Baldy, C., Ruelle, P. et Fernandes, A. 1993. Résistance à la sécheresse du sorgho-grain en climat méditerranéen. *Sécheresse*, 4 : 85-93.
- Barashkova, E. A. 1981. Role of the D genome in increasing the frost resistance of winter wheat. *Referativnyi Ezhurnal*, 2:65-124.
- Barashkova, E. A. et Vavilov, N. 1991. Physiological – genetic aspects of frost resistance in winter wheat. Relationship of frost hardiness with genome composition in wheat. In Papayotov I. and Pavlova S. (eds) *wheat breeding-prospects and future approaches*, Albena, Bulgarie: 379-384.
- Beke, B. and Sutka, G. 1983. Combining ability for frost resistance in durum wheat. *Cereal Research Communications*, 11: 221- 227.
- Belaid, A. 2000. The economics of durum wheat production in WANA : past trends and futur prospects. *Actes du 1^{ier} Symposium International sur la filière Blé*. Alger: 49-64.
- Belaribi, M. 1990. Adaptation du déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum*, Desf.). Etude des caractères morphologiques et physiologiques. *Thèse de doctorat*, ENSAM : 151pp.
- Benmahammed, A. Bouzerzour, H. et Benbelkacem, A. 1999. Synthèse des activités de sélection du blé dur des stations de Sétif, Khroub, Tiaret et Sidi Bel Abbes. *Document interne ITGC* : 35 pages.
- Benmahammed, A., Djekoun, A., Bouzerzour, H. et Ceccarelli S. 2004. Response to F3 bi-directional selection for above ground biomass and its effect on grain yield in F4

- to F7 generation of three barley (*Hordeum vulgare* L.) cross population. *Al Awamia*. Maroc. 75 : 33-39.
- Benmahammed, A., Bouzerzour, H., Mekhlouf, A., Benvelkacem, A. 2008. Variation de la teneur relative en eau, l'intégrité cellulaire, la biomasse et efficacité d'utilisation de l'eau des variétés de blé dur (*Triticum turgidum* L. var *durum*) conduites sous contraintes hydrique. *Recherche Agronomique INRAA* N° 21 : 37-47.
- Bensadoun, A. and Weinstein D. 1976. Assay of proteins in the presence of interfering materials. *Anal. Biochem.* 70: 241-250.
- Berger, M. 1985. Etude des caractères morpho-physiologiques, des composantes du rendement et de leurs corrélations génétiques et environnementales chez le blé tendre. *Thèse Docteur Ingénieur, ENSA, Toulouse*, 182 pages.
- Blum, A., Shpiller, L., Golan G., Mayer, J. and Simane, B. 1991. Mass selection of wheat for grain filling without transient photosynthesis. *Euphytica* 54: 111-116.
- Blum, A. 1998. Plant breeding for stress environments. *C.R.C. Press (eds)*, Boca Raton, florida, USA.223P.
- Blum, A., Zhang, J. and Xiang Nguyen, T. 1999. Consistent differences among wheat cultivars in osmotic adjustment and their relationship to plant production. *Field Crop Research* 64:287-291.
- Bouchemal, S. 1999. Espoirs et angoisses des paysans des Hautes Plaines Algériennes. *Territoires en Mutation* 4:65-75.
- Bouzerzour, H. 1990. Caractéristiques d'adaptation des orges destinées aux hauts plateaux Sétifiens. *Céréaliculture*, 23 : 11-18.
- Bouzerzour, H. et Monneveux, P. 1992. Analyses des facteurs de stabilité du rendement de l'orge dans les conditions des hauts plateaux algériens. *Les Colloques* 64:205-215.
- Bouzerzour, H. and Benmahammed, A. 1994. Environmental factors limiting barley grain yield in the high plateaus of Eastern Algeria. *Rachis*, 12: 11-14.
- Bouzerzour, H., Zerargui, H. and Dekhili, M. 1995. Relationships among duration of vegetative and grain filling periods, yield components and grain yield in durum wheat. *Awamia* 75:15-23.
- Bouzerzour, H. and Dekhili, M. 1995. Heritabilities, gains from selection and genetic correlations for grain yield of barley grown in two contrasting environments. *Field Crop Research*, 41:173-178.
- Bouzerzour, H., Adjabi, A., Benmahammed, A., Hadj Sahraoui, A. et Harkati N. 2002. Productivité et adaptation des variétés de céréales en zone semi-aride d'altitude. *Céréaliculture* 37: 4-12.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitative of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Bridger, J. J., Hatfield, J. L., Klein, R. P. and Mullet, J. E. 1995. Accumulation of heat shock proteins in field grown cotton. *Plant physiol.* 78: 394-408.
- Canterro-Martinez, C., Villar, JM., Romagosa, I. and Fereres, E. 1995. Growth and yield responses of two contrasting barley cultivars in a Mediterranean environment. *European Journal of Agronomy* 4 : 317-326.

- Ceccarelli, S. and Grando, S. 1991. Selection environment and environmental sensitivity in barley. *Euphytica* 57:157-167.
- Ceccarelli, S., Grando, S. and Hamblin J. 1992. Relationships between barley grain yield measured in low and high yielding environments. *Euphytica* 64: 49-58.
- Chenafi, H., Bouzerzour, H., Aidaoui, A. and Saci, A. 2006. Yield response of durum wheat (*Triticum durum*, Desf) cultivar Waha to deficit irrigation under semi arid growth conditions. *Asian Journal plant Sci.*, 5: 854-860.
- Colom, M.R. and Vazzana, C. 2002. Water stress effects on three cultivars of *Eragrostis curvula Ital.* *J. Agron.*, 6: 127-132.
- Couvreur, Dagneaud et Massé (1979). Les céréales et le froid, perspectives agricoles N° 22 : 12-21.
- Cheng, TH.H., Shen, Z.H., Li, P.H. 1982. Adaptability of crop plants to high temperature stress. *Crop. Science*.22:719-725.
- Dakheel, A. J., Nasi, I., Mahalakshmi, V. and Peacock J. M. 1993. Morpho-physiological traits associated with adaptation of durum wheat to harsh mediterranean environments. *Aspects of Applied Biology* 34:297- 307.
- Danyluk, J., Carpentier, E. and Sarhan, F. (1996) Identification and characterization of a low temperature regulated gene encoding an actin-binding protein from wheat. *FEBS Letters* 389: 324-327.
- Debaeke, P. and Aboudrare, A. 2004. Adaptation of crop management to water-limited environments. *Europ. J. Agronomy*, 21:433-446.
- Demarly, Y. 1984 Mécanismes génétiques de l'adaptation chez les végétaux. *Bull. Soc. Bot. Fr. Actual. Bot.*, 131 : 125-137.
- Dionne, J., Castonguay, Y., Nadeau, P. and Desjardins, Y. 2001. Amino acid and protein changes during cold acclimation of green-type annual bluegrass (*Poa annua* L.) ecotypes. *Crop Sci.* 41:1862–1870.
- DÖffing, K., Shulenburg, S., Lesselich, G., DÖffing, H. 1990. Abscicic acid and proline levels in cold hardened winter wheat leaves in relation to variety-specific differences in freezing resistance. *J. Agronomy and crop Science* 165 : 230-239.
- Drapper, N. R. and Smith H. 1981. Applied regression analysis. *Ed. John Wiley & Sons*, NY, 709 pp.
- Ducellier, L. 1932. Espèces et variétés de céréales cultivées en Algérie. *Direction de l'Agriculture et de la colonisation*.
- Erroux, J. 1957. Introduction au catalogue des blés dur cultivés en Algérie. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle d'Afrique du Nord*, 49: 124-142.
- Eskridge, K. M. 1990. Selection of stable cultivars using a safety-first rule. *Crop Sci.* 30:369-374. Eskridge, K. M. 1990. Selection of stable cultivars using a safety-first rule. *Crop Sci.* 30:369-374.
- FAO, base de données. FAOSTAT, accès du 14 novembre 2006.
- Feliachi, K. 2002. PNDA, Intensification et développement des filières, cas de la céréaliculture. *Acte des 3^{èmes} Journées Scientifiques sur le Blé*, 12 et 13 février 2002, Université Mentouri, Constantine.

- Fellah, A., Bouzerzour, H., Benmahammed, A. and Djekoun, A. 2002. Selection pour améliorer la tolérance aux stress abiotiques chez le blé dur (*Triticum durum*, Desf.). *Actes IAV*, 22: 161-168.
- Ferrar, P.J. and Osmond, C.B. 1986. Nitrogen supply as a factor influencing photoinhibition and photosynthetic acclimation after transfer of shade grown *Solanum dulcamara* to high light. *Planta* 168: 563-570.
- Fowler, D. B. 1978. Selection for winter hardiness in wheat. II. Variation within the field trials. *Crop Sci.*, 19: 773-775.
- Fowler, D. B., Chauvin, L. P., Limin, A. E. and Sarhan, F. 1996. The regulatory role of vernalization in the expression of low temperature –induced genes in wheat and rye. *Theor. Appl. Genet.*, 93: 554-559.
- Fowler, D. B., Limin, A.E., and Ritchie, J. T. 1999. Low-temperature-tolerance in cereals: Model and Genetic interpretation. *Crop Sci.*, 39:626-633.
- Feyerherm, A. M. and Paulsen, G. M. 1981. An analysis of temporal and regional variation in wheat yields. *Agronomy Journal* 73: 863-867.
- Finlay, K. W. and Wilkinson, G. N. 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding program. *Aust J. Agric. Research* 14:742-754.
- Fletcher, R. J. 1983. Breeding for frost resistance in early flowering wheat. Proc. 6th Inter. *Wheat genetics Symposium*, pp: 965-969.
- Gallagher, J.N., Biscoe, P.V. and Hunter, B. 1976. Effects of drought on grain growth. *Nature* 264: 541-542.
- Gate, PH., Demùaijpola, M., Laroche, G. et Noailles. 1990. Adaptation of cereals in the altitude condition of the erat. *Perspective Agricole* 147:51-64.
- Gate, P. 1995. Ecophysiologie du blé, de la plante à la culture. *Editions TEC & DOC*, Lavoisier, Cachan.
- Gazeau, C. 2002. les végétaux et les basses températures. Marina Botard ep. Raffaud tuteur : Claude Gazeau. Université Pierre et Marie curie (Paris 6) *DEUG science et vie année 2002*.
- Giunta, F., Motzo, R. and Deidda, M. 1993. effect of drought on yield and yiel components of durum wheat and tritcale in Mediterranean environment. *Fie ld crops Res.* 33: 399-409.
- Grignac, P. 1981. Rendements et composantes du rendement du blé d'hiver dans l'environnement méditerranéen Français. *Communica tions Scientifiques. Séminaire de Bari*, Sept –oct 1-2 : 11p.
- Grossi, M., Cattivelli L., Terzi, V. and Stanca, M. 1992. modification of gene expression induced by ABA, in relation to drought and cold tress in barleey shoots. *Plant physiol. Biochem.*30 (1):97-103.
- Gusta, L.V., R.W. Wilen, and P. Fu. 1996. Low-temperature stress tolerance: The role of abscisic acid, sugars, and heat-stable proteins. *Hortscience* 31:39–46.
- Guy, C. L. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance role of protein metabolism. *An. Rev. Plant Physiol.*, 41: 187-223.

- Guy, C.L., and Haskell, D. 2005. Detection of polypeptides associated with the cold acclimation process in spinach. *Electrophoresis*, 9: 787-796.
- Hadjichristodoulou, A. 1987. The effects of optimum heading date and its stability on yield and consistency of performance of barley and durum wheat in dry areas. *J. Agric. Sci Camb.*, 108: 599 - 608.
- Harlan, J. R. 1975. Crops and Man. *ASA and CSSA, Eds. Madison, Wisconsin*, 325 pages. .
- Havaux, M. et Lannoye, R. 1982. Changements biochimiques observés pendant l'adaptation au froid de l'orge. *Agronomie 2* (10) : 923-929.
- Heckathorn, S. A., Downs, C. A., Sharkey, T. D. and Coleman, J. S. 1998. The small methionine-rich chloroplast heat-shock protein protects photosystem II electron transport during heat stress. *Plant Physiology* 116: 439-444.
- Heckathorn, S. A., Downs, C. A. and Coleman, J. S. 1999. Small heat shock proteins protect electron transport in chloroplasts and mitochondria during stress. *American Zoologist*, 39: 865-876.
- Heikkila, J.J., Pap JET., Schultz, G.A., Serek Bewley, J. 1984. Induction of heat shock protein messenger by water stress, abscissic acid and wounding. *Plant physiol* 90: 140-145.
- Hoshino, T. and Tahir, M. 1987. Relationship between ear primordia development and growth attributes of wheat cultivars in dry areas of North Africa and West Asia. *JARQ* 21: 226-232
- Housley, T.L., Kirleis, A.W., Ohm, H.M. and Patterson, F.L. 1982. Dry matter accumulation in soft red winter wheat seeds. *Crop Sci.* 22: 290-294.
- Hurkiman, W.J., Tanaka, C.K., Dupont, F.M. 1988. The effect of salt stress on polypeptides in membrane fractions from barley roots. *Plant Physiol* 88:1263-1273.
- Hussein, F., Bronson, K. F., Singh, Y., Singh, B. and Peng S. 2000. Use of chlorophyll meter sufficiency indices for nitrogen management of irrigated rice in Asia. *Agron. J.* 92: 875-879.
- Houde, L.M., R.S. Dhindsa & F. Sarhan. 1992. A molecular marker to select for freezing tolerance in gramineae. *Mol. Gen. Genet* 234 : 43-48.
- Kahal, N. 1974. Etude agronomique des zones céréalières des hauts plateaux de l'est Algérien (Sétif, Constantine, Guelma). *Mem. Ing. Agr., Département Hytoch., INA, Alger.*
- Klein, J.D., Cohen I., Hebbe, S., Asido, Y., Dolgin, B., et Bonil, D. J. 2002. Establishment of wheat seedlings after early sowing and germination in an arid Mediterranean environment. *Agron. J.*, 94: 585-893
- Kirby, E.J.M. and Appleyard, M. 1984. Cereal Development Guide. *National Agricultural Centre. Arable Unit, Kenilworth, UK.*
- Kirby, E. J. M., Sprink, J. H. and Frost, D. L. 1999. A study of wheat development in the field: analysis by phases. *European Journal of Agronomy* 11:63-82.
- Knight, C.A. and Ackerly, D. D. 2001.** Correlated evolution of chloroplast heat shock protein expression in closely related plant species. *American Journal of Botany*, 88:411-418

- Kribaa, M., Hallaire, S. and Curmi, J. 2001. Effects of tillage methods on soil hydraulic conductivity and durum wheat grain yield in semi-arid area. *Soil and Tillage* 37:17-28.
- Kribaa, M. 2002. Effet de la jachère sur les sols de la céréaliculture pluviale des zones semi-arides méditerranéennes. Cas des hautes plaines Sétifiennes en Algérie. *Thèse d'Etat INA*, El Harrach, 170pp.
- Kosner, J. and Pankova, K. 2002. The effect of chromosome 3B genes of Ceska Presivka on vernalization response, photoperiod sensitivity and earliness of wheat. *Czech J. Genet. Plant. Breed.*, 38:41-49.
- Koranev, A.V., Koranev, V.G. 1993. Use of genome specific antigens prolamin electrophoresis with the evaluation of wheat and its wild relatives. In Biodiversity and wheat improvement. *Ed. Damania AR. John Willey and son.* 259-270.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- Lalk, I. and Dörffling, K. 1985. Hardening, ABA, proline and freezing resistance in two winter wheat varieties. *Physiologia Plantarum* 63: 287- 292.
- Lang, V., Heino, P. and Palva, E. T. 1989. Low temperature acclimation and treatment with exogenous abscisic acid induce common polypeptides in *Arabidopsis thaliana*. *Theor. Appl. Genet.*, 77:729-734.
- Laumont, P. et Erroux, J. 1961. Inventaire des blés durs rencontrés et cultivés en Algérie. *Mémoires de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord*, 5:94 pages.
- Law, C.N. and Jenkins, G. 1970. A genetic study of cold resistance in wheat. *Genet. Res. Com.* 15: 197-208.
- Levitt, J. 1980. Response of plants to environmental stress. *Vol. 1, 2nd ed. Academic Press*, New York.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophyll's and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Methods in Enzymology* 148: 350–382.
- Lamin, A.E. et Fowler, D.B. 1981. Cold hardiness of some wild relatives of hexaploid wheat. *Can. J. Bot.*, 59:572-573.
- Limin, A. E., Danyluk, J., Chauvin, L. P., Fowler, D. B. and Sarhan, F. 1997. Chromosome mapping of low-temperature induced *Wcs120* family genes and regulation of cold tolerance expression in wheat. *Mol Gen Genet* 253: 720–727.
- Limin, A.E. and Fowler, D.B. 2006. Low-temperature tolerance and genetic potential wheat (*Triticum aestivum* L.): response to photoperiod, vernalization and plant development. *Planta* 224: 360–366.
- Lin, C.Y., Robert, J.K. and Key, J.L. 1984. Acquisition of thermo tolerance in soybean seedlings: Synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localization. *Plant Physiol.* 74:152-160.
- Lin, C. S., Binns, M. R. and Lefkowitz, L. P. 1986. Stability analysis: where do we stand? *Crop Sci.* 26: 894-900.
- Ling-Cheng Jian, Long-Hua Sun and He-Zhu Dong (1982). Adaptive Changes in ATPase Activity in the Cells of Winter Wheat Seedlings during Cold Hardening. *Plant Physiology* 70:127-131.

- Ludlow, M.M. and Powles, S.B. 1988. Effects of photoinhibition induced by water stress on growth and yield of grain sorghum. *Aust. J. Plant Physiol.*, 15: 179-194.
- MADR. 2005. Données statistiques du Ministère de l'agriculture. Bureau des statistiques
- Maggio, A., Fujita, T., Ibeas, J.I., Damsz, B., Hasegawa, P.M., Joly, R.J., Bressan, R.A. 2002. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *Plant J.* 31:699-712.
- Mahfouzi, S., Limin, A. E. and Fowler, D. B. 2001. Developmental Regulation of Low-temperature Tolerance in Winter Wheat Crop Development Centre, University of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada, S7N 5A8. *Annals of Botany* 87: 751-757.
- Maksimovic, D. 1981. The inheritance of cold resistance in barley (*Hordeum sativum* Jess.) *CAB Abstract*, N°2707.
- Marcellos, H. and Single, W.V. 1984. Frost injury in wheat ears after ear emergence. *Aust. J. Pl. Phys.* 11: 7-15.
- Marshall, H.G. 1969. Effect of seed source and seedling age on the freezing resistance of winter oats. *Crop Sci.* 9:202-205
- Marshall, H. G. and Kolb, F. L. 1982. Individual crown selection for resistance to freezing stress in winter Oats. *Crop Sci.*, 22: 506-510.
- Mekhlouf, A., Bouzerzour, H. et Dehbi, F. 2001. Rythme de développement et variabilité de réponses du blé dur (*Triticum durum* Desf.) aux basses températures. Tentatives de sélection pour la tolérance au gel. *Proceedings séminaire sur la valorisation des milieux semi-arides*. OumEl Bouaghi, p : 75-80.
- Mekhlouf, A., Bouzerzour, H., Bemahammed, A., Hadj Sahraoui, A. et Harkati, N. 2006. Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum*, Desf.) au climat semi- aride. *Sécheresse* 17 (4) :507-513.
- Monneveux, P. et This, D. 1996. La génétique face au problème de la tolérance des plantes cultivées à la sécheresse: Espoirs et difficultés. *Sécheresse* 8: 29- 37.
- Monneveux, P. et Belhassen, E. 1996. Adaptation génétique face aux contraintes de la sécheresse. *Cahier de l'Agriculture* 4: 251-261.
- Moragues, M., Garcia del Moral, L.F., Moralejo, M., Royo, C. 2006. Yield formation strategies of durum wheat landraces with distinct pattern of dispersal within the Mediterranean basin I: Yield components. *Field Crops Research* 95: 194-205.
- Mouret, J.C., Conesa, A., Gaid, A. et Monneveux, P. 1988. Identification des facteurs de variabilité du rendement de blé dur en conditions hydriques limitantes dans la région de Sidi Bel Abbes. *Céréaliculture* 23:1-9.
- Mouret, J.C., Conesa, A., Gaid, A., Monneveux, P. 1989. Etude intégrée de l'agrosystème blé dur. Identification des facteurs de variabilité du rendement (1987/88). Projet de recherche –développement sur l'intensification des céréales, légumes secs, fourrages, dans la wilaya de Sidi bel Abbes. *INRA-ITGC*, 99p.
- Oosterom, E. J. and Acevedo, E. 1992. Adaptation of barley (*Hordeum vulgare* L.) to harsh Mediterranean environments. III. Plant ideotype and grain yield. *Euphytica* 62: 29-38.

- Oosterom, E. J., Ceccarelli, S. and Peacock J. M. 1993. Yield response of barley to rainfall and temperature in Mediterranean environments. *Journal of Agricultural Sciences (Cambridge)* 121:304-313.
- Ouellet, F., Carpentier, E., Jamie, M., Cope T. V., Monroy, A. F. and Sarhan, F. 2001 Regulation of a Wheat Actin-Depolymerizing Factor during Cold Acclimation. *Plant Physiology*, 125: 360–368.
- Papadakis, J.S. 1938. Ecologie agricole. Eds. Jules Duculot, Gembloux, 313 pp.
- Parida, A. K., Das, A. B., Mitra, B. and Mohanty, P. 2004. Salt-stress Induced Alterations in Protein Profile and Protease Activity in the Mangrove *Bruguiera parviflora*. *Z. Naturforsch.* 59:408- 414.
- Passioura, J. B. 2002. Environmental biology and crop improvement. *Functional Plant Biology* 29: 537- 546.
- Passioura, J. 2004. Increasing crop productivity when water is scarce: from breeding to field management. In proceedings of the 4th International Crop Science Congress "New directions for a diverse planet" Brisbane, Australia. 12 pages, www.regional.org-au/au/cs
- Paulsen, G. M. and Heine, E.G. 1983. Grain production of winter wheat after spring freeze injury. *Agro. j.* 75: 105-107.
- Pearce, R.S., Dunn, M. A., Rixon, J., Harrison, P. and Hughes, M. A. 1996. Expression of cold inducible genes and frost hardiness in the crown meristem of young barley (*Hordeum vulgare* L.) plants grown in different environments. *Plant Cell Environ.* 19:275-290.
- Pearce, R.S. 1999. Molecular analysis of acclimation to cold. *Plant Growth Regulation* 29: 47-76.
- Pearce, R. S. 2001. Plant Freezing and Damage. *Annals of Botany* 87: 417-424.
- Perrier, E. R. and Salkini, A. B. 1987. Water balance calculation. *Proceedings of a workshop on regional consultation on supplemental irrigation in the Near East and North Africa. Ed Icarda, Aleppo*, 37-77.
- Pfeiffer, WH. 1993. Drought tolerance in bread wheat. Analysis of yield improvement over years in Cimmyt germplasm. *Proc. of the Int. Conf. on Wheat Production Constraints in Tropical Environments. Klatt (eds). Mexico D.F., Cimmyt*, 274 - 284.
- Poshtmasari, H. K., Pirdashti, H., Nasiri, M. and Bahmanyar, M. A. 2007. Chlorophyll content and biological yield of modern and old rice cultivars under different urea fertilizer rates and applications. *Asian Journal of Plant Sciences* 5:1-7.
- Richards, RA, Rebtzke, GJ., Van Herwaardlen, AF., Dugganb, BL. and Condon AG. 1997. Improving yield in rainfed environments through physiological plant breeding. *Dryland Agriculture* 36: 254 - 266.
- Richards, R.A. Rebetzke, G.J. Condon, A.G. and Van Herwaar-Den, A.F. 2002. Breeding opportunities for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. *Crop Sci.* 42:111–121.
- Rijsberman, F.R. AND Mohamed, A. 2003. water, food and environment: conflict on dialogue. *Water Science and Technology.* 47(6):53-62.

- Rizza, F., Crosatti, C., Stanca, A. M. and L. Cattivelli,. 1994. Studies for assessing the influence of hardening on cold tolerance of barley genotypes. *Euphytica* 75: 131-138..
- Saber, N. et Mrabet, R. 2002. Impact of no tillage and crop sequence on selected soil quality attributes of a *vertic calcixeroll* soil in Morocco. *Agronomy*, 22:451-459.
- Salzman, R.A., R.A. Bressan, P.M. Hasegawa, E.N. Ashworth, and B.P. Bordelon. 1996. Programmed accumulation of LEA-like proteins during desiccation and cold acclimation of overwintering grape buds. *Plant, Cell Environ.* 19:713–720
- Sarhan, F. and Perras, M. 1987. Accumulation of a high molecular weight **protein** during cold hardening of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Cell Physiology*, 28:1173-1179..
- Sayre, K. D., Acevedo, E. and Austin, R. B. 1995. Carbon isotope discrimination and grain yield for three bread wheat germplasm groups grown at different levels of water stress. *Field Crop Research* 41:45-54.
- Sayre, K. D., Rajaram, S. and Fischer, R. A. 1997. Yield potential progress in short bread wheats in North West Mexico. *Crop Sci.* 37:36-42.
- Shulyndin, A. D. and Shchipak, G. V. 1984. Frost resistance and winter hardiness in F1 and F2 hybrids between winter and spring triticales. *Genetika* 20: 82-89.
- Siddique, K. H. M., Belford, R.K., Perry, M.W. and Tennant D. 1989. Growth development and light interception of old and modern wheat varieties in Mediterranean environment. *Aust. J. Agri. Res.* 40:473-487. .
- Simane, B., Peacock, J. M. and Struik, P.C. 1993. Differences in development plasticity growth rate among drought. Resistant and susceptible cultivars of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Plant and Soil*, 157: 155-166.
- Single, W. V. and Marcellos, H. 1973. Studies on frost injury to wheat. IV. Freezing of ears after emergence from the leaf sheath. *Aust. J. Agric. Res.* 25: 679-686.
- Single, W. V., and Marcellos, H. 1974. Studies on frost injury to wheat. IV. Freezing of ears after emergence from the leaf sheath. *Aust. J. Agric. Res.* 25 :679-689.
- Slafer, G.A. & Andrade, F. H. 1990. Genetic improvement effect on pre-anthesis phenological attributes related to wheat grain yield. *Field Crop research* 23: 255-263.
- Slafer, G.A., Araus, J.L and Richards, R.A. 1999. Physiological traits that increase the yield potential of wheat. In: E.H. Satorre and G.A. Slafer (eds), *Wheat: Ecology and physiology of yield Determination*, 379-415. *Food product press*, Binghamton.
- Spagnoletti Zeulli, P. L. and Qualset, C. O. 1990. Flag leaf variation and the analysis of diversity in durum wheat. *Plant Breeding* 105: 189-202.
- Statitcf. 1991. Logiciel de statistique. Version 5, 0. *Edition ITCF*.
- Strak, J. C. and Longley, T. 1986. Changes in spring wheat tillering patterns in response to delayed irrigation. *Agron. J.* 78.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. Principles and procedures of statistics, a biometrical approach. *Ed. Mc Graw Hill Inc.* NY. 633 pp.
- Stitt, M. and Hurry, V. 2002. A plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in *Arabidopsis*. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 199-206.

- Sutka, J. 1994. Genetic control of frost tolerance in wheat. *Euphytica* 77: 277-282.
- Szucs, P., Veisz, O., Szunics, L., Lang, L. and Bedo, Z. 1999. Contribution of the hardening period to developing freezing resistance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Cereal Research Communications*, 27:281-287.
- Tahti, E. L., Belabed, A. et Sadki K. 1998. Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*). *Bulletin de l'Institut Scientifique (Rabat)* 21 : 81-87.
- Tardieu, F. 2003. Virtual plants: modeling as a tool for the genomics of tolerance to water deficit. *Trends in Plant Science* 8: 9-14.
- Thomashow, M. F. 1999. Plant cold acclimation, freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Plant mol.* 50: 571-599.
- Triboi, E., Blanchon, J. and Magne, T. 1985. Déterminisme du poids moyen du grain chez le blé: Effet sur la variation du rendement. *CR. Acad. Agri. France* 71: 871-886.
- Vargas, M., J. Crossa, K., Sayre, M., Reynolds, M. E. Ramirez, and M. Talbot,. 1998. Interpreting genotype x environment interaction in wheat by Partial Least Squares Regression. *Crop Sci.*, 38:679-689.
- Veisz, O. and Sutka, J. 1998. Role of the chromosome 4B in suppressing frost resistance in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Res. Comm.* 26: 47-52.
- Veisz, O. and Sutka, J. 1998. Frost resistance of 'Cinese Spring' /Cheyenne' chromosome substitution lines under short-and long-day hardening conditions. *Plant breeding* 117: 93-94.
- Villegas, D., Aparicio, N., Nachit, M., Araus, J. L. and Royo, C. 2000. Photosynthetic and developmental traits associated with genotypic differences in durum wheat yield across the Mediterranean basin. *Aust. J. Agric. Res.* 51: 891-901.
- Voltas, J., Van Eeuwijk, F.A., Sombrero, A., Lafarga, A., Iguarta, E. and Romagosa, I. 1999. Integrating statistical and ecophysiological analyses of genotype by environment interaction for grain filling of barley. I. Individual grain weight. *Field Crop Res.*, 62:63-74.
- Wardlaw, IF. and Moncur, L. 1995. The response of wheat to high temperature following anthesis. The rate and duration of kernel filling. *Aust J. Plant Physiol.* 22: 391-397.
- Wardlaw, I.F. 2002. Interaction between drought and chronic high temperature during kernel filling in wheat in a controlled environment. *Ann. Bot.* 90: 469-476.
- Wilhelm, W.W., Mielke, L.N. et Fenster, C.R. 1982. Root development of winter wheat as related to tillage practice in Western Nebraska. *Agron. J.*, 74: 85-88.
- Xin, Z., and Browse, J.** 2000. Cold comfort farm: The acclimation of plants to freezing temperatures. *Plant Cell Environ.* **23**: 893–902.
- Yalcin, H., Cakir, E. et Aykas, E. 2005. Tillage parameters and economic analysis of direct seeding, minimum and conventional tillage in wheat. *Journal of agronomy*, 4:329-332.
- Zerrad, W., Hillali, S., Mataoui, B. S., El Antri, S. et Hmyene, A. 2006. Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaire de résistance au stress

hydrique de deux variétés de blé dur. Actes *Congrès International de Biochimie*;
Agadir, 09-12 Mai 2006: 6p.