

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach –  
Alger



*Thèse*

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences agronomiques

Présentée par

**BENKHERBACHE NADJET**

*Thème:*

Caractérisation physiologique, biochimique  
agronomique et biomoléculaire de quelques  
génotypes d'orge (*Hordeum vulgare L.*)  
sélectionnés en zone semi aride d'altitude

**Présentée et soutenue publiquement le : 29 juin 2013**

**Directeur de thèse:**

M. DJEKOUNE Abdelhamid .....professeur à l'Université Mentouri de Constantine

**Président:**

M. ABDELGUERFI Aissa ..... Professeur à l'Ecole Nationale Supérieur Agronomique El-Harrach-Alger

**Examineurs:**

Mme YKHLEF Nadia ..... Professeur à l'Université Mentouri de Constantine

M. KHELIFI Lakhdar..... Professeur à l'Ecole Nationale Supérieur Agronomique El-Harrach-Alger

M. BOUZERZOUR Hamenna..... Professeur à l'Université Ferhat Abbes, Sétif

M. BENMAHAMED Ammar ..... Professeur à l'Université Ferhat Abbes, Sétif

*Caractérisation physiologique, biochimique agronomique et biomoléculaire de quelques génotypes d'orge  
(Hordeum vulgare L.) sélectionnés en zone semi aride d'altitude*

---

---

## AVANT PROPOS

Au terme de ce travail viennent les remerciements, la fin d'une bataille mortelle entre les préoccupations de la vie et l'ambition, la réussite. Au cours de ces quelques années, j'ai vécu une expérience enrichissante au niveau personnel et professionnel. Ceci je le dois à l'aide du tout puissant et à beaucoup de personnes.

A la mémoire de mon mon père.

Mon estime va à **Pr. DJEKOUNE Abdelhamid**, mon directeur de thèse, pour m'avoir aidé dans la réalisation de cette thèse. D'autre part pour la grande autonomie et la confiance qu'il a eue à mon égard pendant ce travail. Son air sûr de lui me conférait à chaque rencontre beaucoup de confiance. Je tiens vivement à lui exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude.

Mon respect va à tous les enseignants de l'INA pour leur encouragements et aides incessantes.

Mes vifs remerciements et ma profonde gratitude vont au jury qui m'ont honoré par leur présence :

**Pr. ABDELGUERFI Aissa** pour avoir accepté de présider ce jury, pour, aussi, ses encouragements qui n'ont pas cessé malgré l'éloignement.

**Pr. KHELIFI Lakhdar** pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail, pour ses précieux conseils et l'aide qu'il apporte à chaque fois que l'on frappe à la porte de son bureau.

Je remercie vivement **Pr YEKHLEF Nadia** pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail. Je lui suis reconnaissante pour son aide et la souplesse que j'ai eu en communiquant avec elle.

Je tiens à remercier **Pr. BOUZERZOUR Hammema** pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail, je dirais plus, car son apport ne s'est pas limité à ça mais plutôt à tant d'email échangés pour des questions qui n'avaient de solutions que chez ce grand monsieur, qui à mes yeux incarne le chercheur agronome à qui je dois beaucoup de respect.

Mes remerciements vont au **Pr BENMAHAMED Ammar**, pour avoir accepté de juger ce travail, qu'il retrouve ici des éléments précieux pour compléter sa connaissance sur les variétés sur lesquelles j'ai travaillé et qu'il sélectionné lui et M. **BOUZERZOUR** .

Mon estime va à mon mari **M. DJEGHDALI Mustapha** qui a été toujours à mes cotés ne m'a, à aucun moment, délaissé. Combien de fois il s'est déplacé avec moi ? Combien de fois à t'il supporté cette thèse qui a pris part dans notre quotidiens ? Il m'a tant encouragé pour finir sans m'en vouloir pour autant d'avoir donné de la place au travail dans notre vie. Je tiens à dire que mes enfants m'ont tant aidé, je ne l'es ai pas négligé pour autant, j'ai été la maman présente à tout moment. Je ne trouvais pas suffisamment pour finir ma thèse mais petit à petit toute chose prend fin.

Je remercie **Ma mère** qui m'a toujours encouragé, elle attend avec impatience ma soutenance, oui le jour qui lui fera honneur. Et qui ne m'a jamais privé de ses daawates surtout durant sa dernière Omra. Je ne la remercierais jamais autant, que dieu lui accorde santé et longue vie.

Je n'oublie pas mes frères et sœur, chacun a su apporter une aide et je leur suis reconnaissante. Ma sœur **HOURIA** pour avoir supporté si bien mes enfants lors de mes déplacements, mes frères **ABDELKRIM, FATEH, HAMID**, mon neveu **AKRAM** et beau frère **BRAHIM** pour s'être souvent déplacé avec moi. Ma sœur **SOUAD** dont la proximité m'a été d'un grand apport. Je n'oublie pas de citer ma nièce **SOUHILA** qui m'a beaucoup aidé au labo. En tout ça fait vraiment un travail de famille.

Je remercie mes collègues de travail, les enseignants du département d'agronomie de l'université de M'sila, pour leurs encouragements tout au long de cette thèse particulièrement **TIR Anissa**, M. et Mme **CHERIEF, BOUDJELLAL Amel, MEFTI**, **BAHLOULI**, **BENNIUO**, M. et Mme **KHALDI, ZEDDAM**, **MEZRAG, MAHMOUDI**, **TIR**, **CHOURGHAL**, **OUYAHIA**, **SERGUINE, MIMOUNE, GUERMAH, HAMDANI, MADANI Djamil**a, **BAKIRI Nouara, GUENDOZEN, M.** et Mme **HADJ KOUIDER**.

Je remercie vivement M. **TIAIBA Ammar** et M<sup>me</sup> **BOUTERA Nacera** pour leurs aide, conseils judicieux et surtout le temps qu'ils m'ont consacré.

Je remercie l'ex chef de département de Biologie **SARI M.** pour avoir mis à ma disposition ses laboratoires et à M. **SEGHIRI Kamel** pour le respect qu'il m'a accordé et son aide précieuse.

Je ne remercierais jamais assez le personnel de **PITGC** de Sétif, du directeur au gardien, et surtout **HASSOUS** et **MAHFOUD** qui m'ont grandement aidé, soit par le suivi des cultures ou fourniture de semence.

Ma gratitude va en France, à mon amie **Nadia BENNEGADI** et **M. Youcef Elmeddah** pour leur soutien moral et leur patience au cours de la lecture de ma thèse et ce malgré leurs occupations.

Je n'oublierais pas le centre de recherche génomique (CRA) de Fiorenzuola d'Arda, d'Italie, à qui je dois une grande partie de mon travail. Particulièrement à **Nicola PECCHIONI, Enrico FRANCIA** et surtout **Alessandro TONDELLI** qui m'ont initié à la biologie moléculaire et ont rendu mon séjour au centre agréable. Je n'oublie pas **M. STANCA** le directeur du centre pour sa bonne humeur et son accueil. Je tiens à citer **Valentina, Delfina, David et Betty** et tout le reste de l'équipe qu'ils voient ici accepte ma reconnaissance. Mon séjour au sein de cette équipe restera un moment de vie exceptionnel travail intense et relations humaines de grande qualité.

Je remercie de près et de loin tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail.

## **Caractérisation physiologique, biochimique, agronomique et biomoléculaire de quelques génotypes d'orge (*Hordeum vulgare L.*) sélectionnés en zone semi aride d'altitude.**

### **Résumé :**

Cette étude se propose de décrire quelques ascensions d'orge sélectionnées pour la région semi aride de Sétif. Le choix a porté sur six génotypes considérés très adaptés aux conditions locales, parmi eux le génotype local Tichedrett.

La description phénotypique a été faite sur la base de la réponse aux conditions de la région, avec un suivi du comportement physiologique, biochimique et agronomique de ces génotypes pendant deux campagnes. Nous avons noté que le polymorphisme phénotypique est largement dépendant des conditions du milieu. Les années sèches favorisent une bonne production de biomasse, surtout épi, et une accumulation des sucres totaux. Alors qu'en année moins sèche les génotypes présentent un rendement élevé régulé par l'augmentation de la RWC, la proline, et favorisé par une biomasse et un poids de mille grains assez élevés. Les variétés telle que Tichedrett semblent être programmées pour investir plus dans le tallage, qui est un caractère de tolérance au stress s'il est associé à un bon rendement grains.

Le polymorphisme génétique a été étudié par l'utilisation de marqueurs biomoléculaire et par comparaison avec des génotypes dont la variabilité vis-à-vis de ces marqueurs est connue. Nous avons décrit le type d'adaptation saisonnière (*VRN-H1/VRN-H2*) des sélections locales et qui ont été du type printemps. Les génotypes Soufara 's', Rahma et Tissa ont les mêmes allèles de précocité à l'épiaison que Nure dont la récessivité de *ppd-H1* et de *vrn-H3*. Tichedrett et Elbahia ont présenté une sensibilité à la photopériode par la présence d'un gène différent et une récessivité du gène *vrn-H3*.

Les gènes de résistance au froid *Fr-H1 (VRN-H1)* et *Fr-H2 (Hvcbf4)*, les génotypes sélectionnés en la région semi aride de Sétif se sont distingués par la variabilité de cette résistance. Les marqueurs déhydrines (*DHN3* et *DHN7*), le *CBFs* (3A, 8, 10B et 12), *ICE1*, *FRY1*, *LOS2* et *HvWRKY38* ont permis de décrire le polymorphisme existant entre les individus.

Les génotypes ont été soumis à un stress hydrique et Le résultat a été comparé avec les marqueurs des gènes candidat à la résistance au stress abiotique. Nous avons trouvé que l'indice de stabilité membranaire était largement impliqué dans la résistance au stress hydrique des génotypes étudiés.

**Mots clef :** Orge, polymorphisme phénotypique, polymorphisme génétique, stress hydrique.

---

## Physiological and biochemical and biomolecular agronomic characterization of some genotypes of barley (*Hordeum vulgare L.*) selected in semi arid region.

### **Abstract :**

This study describes some genotypes of barley selected for the semi-arid region of Setif. The choice has focused on six genotypes considered highly adapted to local conditions, among them the local genotype Tichedrett.

The phenotypic description was made on the basis of the responsiveness of these genotypes to the region, by monitoring of physiological, biochemical and agronomic characters during two years. We noted that the phenotypic polymorphism is largely dependent on environmental conditions. Dry years lead to good production of biomass, especially the spikes biomass, and an accumulation of total sugars. While in year less dry, the genotypes have a high yield regulated by increased RWC, proline, and promoted by a biomass and a high thousand grain weight. Varieties as Tichedrett is programmed to invest more in tillering, which is a character of stress tolerance when combined with a good grain yield.

Genetic polymorphism was studied by the use of biomolecular markers and by comparison with genotypes whose variability among these markers is known. We describe the growth habit (VRN-H1/VRN-H2) of local selections which have been spring types. Genotypes Soufara 's', Rahma and Tissa have the same alleles of Nure, earliness at heading with recessiveness of *ppd-H1* and *vrn-H3*. Tichedrett and Elbahia showed sensitivity to photoperiod by the presence of one different gene and recessive gene *vrn-H3*.

The genotypes selected in the semi arid region of Setif present variability for frost resistance Genes *Fr-H1* (*VRN-H1*) and *Fr-H2* (*Hvcbf4*). Dehydrins (*DHN3* and *DHN7*), the *CBFs* (3A, 8, 10B and 12), *ICE1*, *FRY1*, *LOS2* and *HvWRKY38* were polymorph between genotypes.

The genotypes were subjected to water stress and the result was compared with markers of candidate genes for abiotic stress resistance. We found that the index of membrane stability was involved in the resistance to water stress of the genotypes studied.

**Key words:** barley, phenotypic polymorphism, genetic polymorphism, growth habit, abiotic stress.

---

## وصف الميزات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية و البيولوجية الجزيئية و الفلاحية لبعض أصناف الشعير (*Hordeum vulgare* L) في المناطق الشبه الجافة المرتفعة.

### التلخيص:

تهدف هذه الدراسة إلى وصف بعض أنواع الشعير التي تم اختيارها للمنطقة الشبه الجافة في سطيف. تم اختيار ستة أصناف تعتبر مناسبة جدا للظروف المحلية ، من بينها الصنف Tichedrett ذات الأصل المحلي. وجاء هذا الوصف المظهري على أساس قدرتها على الاستجابة للمنطقة ، مع رصد سلوكها الفسيولوجية والبيوكيميائية الزراعية لمدة سنتين متتاليتين.

لاحظنا أن النمط الظاهري يعتمد إلى حد كبير على الظروف البيئية. سنوات الجفاف تؤدي إلى إنتاج جيد من الكتلة الحيوية ، وخصوصا في كتلة السنابل ، وتراكم السكريات الكلية. بينما في السنة أقل جفافا الأصناف لديها الكفاءة العالية التي يميزها RWC ، زيادة البرولين ، و وزن الكتلة الحيوية الكلية و كتلة ألف الحبة عالية نوعا ما. أصناف مثل Tichedrett تتميز بزيادة في عدد السيقان، وهو عامل تصنيف عند دمجها مع مردود الحبوب الجيد. تمت دراسة تعدد الأشكال الوراثية عن طريق استخدام العلامات المميزة الجزيئية وبالمقارنة مع صنفين معروفين التميز. تم وصف التكيف الموسمي (*VRN-H1/VRN-H2*) و قد كانت الأصناف المحلية ذات النمو الربيعي. الأصناف 's' Soufara و Rahma و Tissa لها نفس التركيب الوراثي للصنف Nure أي الاسبال المبكر مع *ppd-H1* و *vrn-H3* المتنتحية. أظهرت Tichedrett و Elbahia والحساسية الضوئية بوجود جين واحد مختلف والجينات المتنتحية لـ *vrn-H3*.

الأصناف المختارة من منطقة شبه جافة سطيف تباينت من حيث مقاومة الصقيع من خلال الجينات *Fr-H1 (VRN-)* *Fr-H2 (Hvcbf4)* و *H1* . العلامات المميزة الجزيئية التالية *dehydrins* مع *DHN7* و *DHN3* و *CBFs* مع *3A* ، *8* ، *10B* و *12* و العلامات *ICE1* و *FRY1* و *LOS2* و *HvWRKY38* التي كانت مختلفة بين الأفراد وتعرضت أصناف الشعير إلى نقص المياه ومقارنة النتيجة مع العلامات المميزة الجزيئية المرشحة لمقاومة الإجهاد اللاأحيائية. وجدنا أن مؤشر الاستقرار الغشاء الخلوي كان مشاركا بدرجة كبيرة في مقاومة الإجهاد المائي مع المورثات التي شملتها الدراسة.

**كلمات المفتاح:** الشعير، النمط الظاهري، النمط الوراثي، التكيف الموسمي، الإجهاد اللاأحيائية.

## Table des matières

AVANT PROPOS	
RÉSUMÉS	
LISTE DES TABLEAUX.....	I
LISTE DES FIGURES .....	IV
LISTE DES ABREVIATIONS .....	VII
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE I : Synthèse bibliographique .....	6
1.1. Présentation de l'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> L.).....	6
1.1.1. Description de la plante .....	6
1.1.2. Taxonomie et origine.....	6
1.1.3. Aspect génétique.....	7
1.1.4. Ecologie et méthodes de culture de l'orge .....	7
1.1.5. Place de l'orge dans la céréaliculture algérienne.....	8
1.1.6. Sélection de l'orge .....	9
1.2. Réponse de la plante à la sécheresse .....	10
1.2.1. Effet de la sécheresse sur la croissance et le développement de la plante.....	11
1.2.2. Effets de la sécheresse sur les paramètres physiologiques .....	12
1.2.2.1. Sécheresse et le potentiel hydrique .....	12
1.2.2.2. Sécheresse et l'ajustement osmotique .....	13
1.2.2.3. Ajustement stomatique .....	15
1.2.2.4. Photosynthèse ( <i>stay green</i> ) .....	16
1.2.2.5. Membrane cytoplasmique et stress hydrique .....	16
1.2.2.6. Aquaporines .....	17
1.2.2.7. Protéines LEA.....	17
1.3. Marqueurs moléculaires comme outil d'aide aux programmes de sélection.....	18
1.3.1. Introduction aux différents types de marqueurs moléculaires.....	18
1.3.2. Application dans la sélection assistée par marqueurs (SAM) .....	20
1.3.3. Application des marqueurs dans l'étude de la diversité génétique.....	21
1.3.4. Recherche de QTL, gènes candidats.....	22
1.3.3. Le stress hydrique : approche intégrée de la réponse moléculaire, génétique et physiologique de l'orge.....	23
1.4. Description génétique de l'induction florale et l'adaptation à la variation saisonnière ....	29
1.4.1. Floraison .....	29
1.4.2. Gènes de floraison chez la plante modèle <i>A. thaliana</i> .....	30



1.4.2.1. Gènes impliqués dans la perception et la diffusion des facteurs inducteurs de la floraison.....	30
1.4.2.2. Gènes intégrateurs.....	32
1.4.2.3. Gènes d'identité du méristème .....	32
1.4.2.4. Gènes impliqués dans la morphogenèse des organes floraux .....	33
1.4.3. Voies de contrôle de la floraison .....	33
1.4.3.1. Vernalisation .....	33
1.4.3.2. Photopériodisme .....	35
1.4.4. Autres voies de contrôle de la floraison .....	37
1.4.4.1. Voie autonome .....	37
1.4.4.2. Régulation épigénétique .....	37
1.4.4.3. Régulation transcriptionnelle .....	38
1.4.4.4. Régulation hormonale .....	38
1.4.5. Précocité de la floraison .....	39
1.4.6. Contrôle génétique de la floraison chez l'orge.....	39

CHAPITRE II. Polymorphisme phénotypique des quelques génotypes d'orge sélectionnés en la zone semi aride de Sétif .....	4
Introduction .....	41
Matériel et méthodes .....	42
1.Présentation du site expérimental .....	42
2.Matériel végétal et dispositif expérimental .....	44
3.Notations et mesures .....	44
3.1. Caractères physiologiques .....	44
3.2. Caractères biochimiques .....	46
3.3. Précocité à l'épiaison et caractères morphologiques.....	47
4. Analyse des données.....	48
Résultats et discussions .....	49
1. Analyse de la variation des caractères physiologiques.....	49
1.1. Teneur relative en eau, intégrité cellulaire et pression osmotique foliaires .....	49
1.2.Caractères biochimiques .....	56
2. Les caractères morphologiques .....	58
3. Evolution de la biomasse aérienne .....	60
4. Précocité à l'épiaison .....	66
5. Composantes du rendement et rendement .....	66
6. Corrélations entre les caractères étudiés.....	69
7. Analyse en composantes principales .....	70

Conclusion .....	5
CHAPITRE III. Étude du polymorphisme génétique de quelques génotypes d'orge sélectionnés pour la zone semi aride .....	77
Introduction .....	77
Matériel et méthodes .....	79
1. Matériel végétal .....	79
2. Désignation des marqueurs .....	79
3. Protocoles d'extraction de l'ADN génomique .....	82
4. Evaluation de la quantité et la qualité de mesure de l'ADN .....	83
5. Procédures d'amplification de l'ADN par PCR .....	83
5.1. Mise au point de la réaction PCR/STS .....	83
5.1.1. Le mélange réactionnel .....	84
5.1.2. Les conditions de la PCR.....	84
5.2. Mise au point de la PCR/CAPS .....	85
5.2.1. Le mélange réactionnel .....	85
5.2.2. Conditions de la PCR .....	86
5.2.3. Le mélange de la digestion .....	86
5.3. Mise au point de la PCR/ARMS .....	87
5.3.1. Le mélange réactionnel .....	87
5.3.2. Conditions de la PCR/ARMS .....	87
6. Séquençages des marqueurs <i>HvWRKY38</i> et <i>HvCBF4</i> .....	88
6.1. Mélange réactionnel de l'amplification PCR .....	88
6.2. Conditions de la PCR .....	88
6.3. Purification du produit de la PCR.....	89
6.4. Vérification du produit de purification.....	91
6.5. Séquençage de l'ADN amplifié .....	91
6.6. L'analyse des séquences.....	92
Résultats et discussions .....	94
1. Qualité et quantité de l'ADN extrait .....	94
2. Description génétique de la floraison chez les génotypes d'orge .....	94
2.1. Détermination des gènes de vernalisation .....	94
2.2. Description de la précocité à l'épiaison des génotypes d'orge.....	97
2.2. Discussion .....	100
3. Génétique de l'adaptation de l'orge au stress abiotique .....	103
3.1. Détermination de la résistance au froid chez les génotypes d'orge sélectionnés en zone semi aride .....	103
3. 2. Recherche de polymorphisme des gènes candidat de la résistance à la sécheresse .....	105

3. 2.1. Déhydrines .....	105
3.2.2. Gènes <i>Cbfs</i> ou la famille des C-repeat Binding Factor .....	107
3.2.3. Facteurs de transcription .....	110
3.2.3.1. Régulateurs de CBF : ICE1 (Inducer of CBF Expression 1) et FRY1 .....	110
3.2.3.1.1. ICE1 (Inducer of <i>CBF</i> Expression 1) .....	110
3.2.3.1.2. <i>FIERY (FRY1)</i> .....	112
3.2.3.1.3. <i>LOS2</i> (Low expression of osmotically responsive genes 2) .....	113
3.2.3.1.4. <i>HvWRKY38</i> .....	114
Conclusion .....	116

CHAPITRE IV. Approche associatives des caractères physiologiques et biochimiques de la réponse au stress hydrique à quelques gènes candidats de la résistance au stress abiotique.. 118

Introduction .....	118
Matériel et méthodes .....	119
1. Matériel végétal et mise en place de l'essai .....	119
2. Protocole expérimental .....	119
3. Caractères mesurés .....	120
4. Caractères génétiques candidats à la résistance au stress abiotique .....	120
5. Analyse statistique des résultats .....	120
Résultats et discussions .....	121
1.Effet de l'application du stress hydrique sur la surface foliaire .....	121
2. Effet de l'application du stress hydrique sur les caractères physiologiques et biochimiques des génotypes d'orge .....	122
2.1. Teneur relative en eau (RWC) .....	123
2.2. Proline .....	124
2.3. Sucres solubles totaux .....	125
2.4. La pression osmotique .....	126
2.5. Indice de stabilité membranaire I.S.M .....	128
3. Caractères moléculaires .....	129
4. Association des caractères phénotypiques de la réponse au stress aux gènes candidats de la résistance à la sécheresse .....	131
Conclusion .....	135
Conclusion générale .....	136

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Superficie, production et rendement de l'orge en Algérie de 1998 à 2007 .....	8
<b>Tableau 2.</b> Comparaison des marqueurs moléculaires et leur usage. Modifié par Rafalski et Tingey (1993), Kalendar et al. (1999) et Ridout et Donini (1999). .....	19
<b>Tableau 3.</b> Les gènes de floraison clonés à partir d' <i>Arabidopsis thaliana</i> . .....	31
<b>Tableau 4 .</b> Principales voies, loci, gènes de la floraison de l'orge (Cockram et al., 2007)... ..	40
<b>Tableau 5.</b> Caractéristiques physico-chimique du sol de la station expérimentale de l'ITGC de Sétif .....	48
<b>Tableau 6.</b> Moyennes des variables mesurées et seuil de signification des effets principaux et des interactions indiqués par l'analyse de la variance des valeurs mesurées au cours des deux campagnes chez les 6 génotypes pour la teneur relative en eau (TRE), l'indice de la stabilité membranaire (ISM), la pression osmotique (PO) et la concentration chlorophyllienne (Chl). .....	49
<b>Tableau 7.</b> Moyennes des variables mesurées et seuil de signification des effets principaux et des interactions indiqués par l'analyse de la variance des valeurs mesurées au cours des deux campagnes chez les 6 génotypes pour les taux de sucres solubles et de proline .....	56
<b>Tableau 8.</b> Valeurs moyennes et résultats de l'analyse de la variance des caractères morphologiques des génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006. ....	59
<b>Tableau 9.</b> Valeurs moyennes et résultats de l'analyse de la variance de l'évolution de la biomasse aérienne (g/m <sup>2</sup> ) et sa répartition chez les génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006. ....	61
<b>Tableau 10.</b> Variation du cycle végétatif des génotypes d'orge durant les campagnes 2004/2005 et 2005/2006. ....	64
<b>Tableau 11.</b> Valeurs moyennes et résultats de l'analyse de la variance du rendement et de ses composantes des génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006. ....	66
<b>Tableau 12.</b> Présentation des marqueurs utilisés dans la description biomoléculaires des génotypes d'orge cartographiés sur la population de Nure x Tremois. ....	80
<b>Tableau 13.</b> Composition du mélange réactionnel pour PCR/STS pour les marqueurs <i>Hv-zcct-H</i> , <i>Hv-Cbf 3</i> , <i>Hv-Cbf10</i> et <i>Fry1 (TC147474)</i> . ....	84
<b>Tableau 14.</b> Profil d'amplification des marqueurs STS <i>Hv-zcct-H</i> , <i>Hv-Cbf 3</i> , <i>Hv-Cbf10</i> et <i>Fry1 (TC147474)</i> . ....	85
<b>Tableau 15.</b> Profil d'amplification des marqueurs STS déhydrines <i>Dhn3</i> et <i>Dhn7</i> . ....	88
<b>Tableau 16.</b> Profil d'amplification pour le marqueur <i>HvWRKY38</i> .....	86

<b>Tableau 17.</b> Protocole de digestion enzymatique pour les marqueurs du type CAPS. ....	86
<b>Tableau 18.</b> Profil d'amplification pour les marqueurs .....	87
<b>Tableau 19.</b> Composition du mélange réactionnel pour l'amplification de l'ADN à séquencer	88
<b>Tableau 20.</b> Profil d'amplification pour les marqueurs .....	89
<b>Tableau 21.</b> Composition du mélange réactionnel pour l'amplification de l'ADN à séquencer .....	92
<b>Tableau 22.</b> Profil de séquençage .....	92
<b>Tableau 23.</b> Qualité et quantité d'ADN extrait à partir des six accessions algériennes d'orge. ....	94
<b>Tableau 24.</b> Récapitulatif des interactions épistasiques et le type d'orge qui en résulte. ....	96
<b>Tableau 25.</b> Description génétique du type d'orge des génotypes locaux par rapport à Nure et Tremois .....	97
<b>Tableau 26.</b> Les haplotypes générés par le polymorphisme SNP à la suite du séquençage de <i>Hv-FT1 (Vrn-H3)</i> des génotypes étudiés par rapport à Nure et Tremois. ....	97
<b>Tableau 27.</b> Description des gènes <i>Ppd-H1</i> et <i>Vrn-H3</i> des génotypes d'orge sélectionnés en zone semi aride par rapport à Nure et Tremois .....	98
<b>Tableau 28.</b> Description du gène <i>HvBM8</i> des génotypes d'orge sélectionnés en zone semi aride par comparaison à Nure et Tremois.....	100
<b>Tableau 29.</b> Les haplotypes générés par le polymorphisme SNP à la suite du séquençage de <i>Hv-FT1</i> des génotypes d'orge étudiés par comparaison avec Nure et Tremois. ....	101
<b>Tableau 30.</b> Récapitulatif de la description génétique de la résistance au froid des génotypes d'orge locaux par rapport à Nure et à Tremois. ....	104
<b>Tableau 31.</b> Tableau récapitulatif de description génétique des gènes déhydrines <i>Dhn 3</i> et <i>7</i> impliqué dans la résistance à la sécheresse chez génotypes locaux par rapport à Nure et à Tremois. ....	106
<b>Tableau 32.</b> Tableau récapitulatif de la description génétique des gènes <i>Cbfs</i> , gènes candidats de la résistance à la sécheresse, chez les génotypes d'orge locaux par rapport à Nure et à Tremois (NxT). ....	108
<b>Tableau 33.</b> Haplotype et résultats du polymorphisme généré par <i>ICE1</i> pour les génotypes d'orges sélectionnés en zone semi aride par rapport à Nure et Tremois. ....	111
<b>Tableau 34.</b> Résultats du polymorphisme généré par <i>FRY1</i> pour les génotypes d'orges sélectionnés en zone semi aride par rapport à Nure et Tremois .....	112
<b>Tableau 35.</b> Résultats du polymorphisme généré par <i>HvLOS2</i> pour les génotypes d'orges sélectionnés en zone semi aride par rapport à Nure et Tremois. ....	113
<b>Tableau 36.</b> Les haplotypes générés par le polymorphisme SNP à la suite du séquençage de <i>Hv-WRKY38</i> des génotypes d'orge étudiés par comparaison avec Nure et Tremois. ....	114

<b>Tableau 37.</b> Valeurs moyennes (cm <sup>2</sup> ) et les résultats de l'analyse de la variance de la surface foliaire mesurée sous l'effet du stress hydrique .....	121
<b>Tableau 38.</b> Valeurs moyennes des caractères physiologiques et biochimiques mesurés et les résultats de l'analyse de la variance. ....	123
<b>Tableau 40.</b> Variabilité génétique de quelques variétés d'orge sélectionnées dans la zone semi aride algérienne comparé à la population Nure x Tremois. ....	130
<b>Tableau 41.</b> Association des caractères phénotypique de réponse au stress de quelques génotypes d'orge sélectionnés dans la zone semi aride aux gènes candidats de la résistance à la sécheresse. ....	133

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Schéma général d'amélioration génétique de la tolérance à la sécheresse (Monneveux et Depigny-This , 1995) .....	11
<b>Figure 2.</b> Séquence de réaction au stress .....	23
<b>Figure 3.</b> Représentation schématique des mécanismes contrôlant la réponse des plantes aux stress abiotiques chez la plante modèle <i>Arabidopsis thaliana</i> (Shinozaki et al., 2003) .....	25
<b>Figure 4.</b> Les différentes voies connues du contrôle de la transition florale d' <i>Arabidopsis thaliana</i> L. (Ratcliffé et Riechmann, 2002) .....	32
<b>Figure 5.</b> Modèle illustrant les différents rôles de VRN1 dans le contrôle de la transition florale (Levy et al., 2002) .....	34
<b>Figure 6.</b> Modèle de répression du gène <i>FLC</i> par la vernalisation (Prouteau et Colot, 2005). .....	37
<b>Figure 7.</b> Données climatiques de la région de Sétif relatives aux deux années d'expérimentation. PA1:pluviométrie de la campagne 2004/2005, PA2:pluviométrie de la campagne 2005/2006, TA1:moyennes des températures de la campagne 2004/2005, TA2:moyennes des températures de la campagne 2004/2006. ....	43
<b>Figure 8.</b> Courbe étalon du dosage de la proline. ....	46
<b>Figure 9.</b> Courbe étalon du dosage des sucres solubles (Méthode de Dubois et al., 1956 ).....	47
<b>Figure 10.</b> Évolution de la teneur relative en eau des génotypes d'orge durant la campagne 2004/2005 et 2005/2006. (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison) .....	50
<b>Figure 11.</b> Évolution de l'indice de stabilité membranaire des génotypes d'orge durant la campagne 2004/2005 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison) .....	51
<b>Figure 12.</b> Evolution du potentiel osmotique des génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison). ....	52
<b>Figure 13.</b> Évolution du taux de chlorophylle dans les feuilles des génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006. A : chlorophylle totale ; B : chlorophylle A ; C : chlorophylle B ; P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison) .....	55
<b>Figure 14.</b> Évolution du taux de sucres solubles totaux dans les feuilles des génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006. P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison) .....	57
<b>Figure 15.</b> Évolution du taux de proline dans les feuilles des génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006. P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison) .....	58



<b>Figure 16.</b> Evolution de la matière sèche des tiges et feuilles de quelques génotypes d'orge suivie au cours de deux campagnes 2004/205 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison ).	6
<b>Figure 17.</b> Evolution de la matière sèche des épis de quelques génotypes d'orge suivi au cours de deux campagnes 2004/205 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison).	6
<b>Figure 18.</b> Evolution de la matière sèche totale des génotype='orge suivi au cours de deux campagnes 2004/205 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison).	6
<b>Figure 19.</b> Rendement en grains des génotypes d'orge suivi au cours de deux campagnes 2004/205 et 2005/2006.	6
<b>Figure 20.</b> Structure des caractères physiologiques, biochimiques et agronomiques des génotypes d'orge au cours des deux campagnes 2004/2005 et 2005/2006 sur le plan 1-2.	7
<b>Figure 21.</b> Répartition des génotypes sur le plan 1-2.	7
<b>Figure 22.</b> Cartographie génétique de la population d'orge Nure X tremois (Francia et al., 2004 ; Tondelli et al., 2006)	81
<b>Figure 23.</b> Étapes du protocole de purification de l'ADN par le kit <i>wizard sv gel and PCR clean-up system</i> (PROMEGA)	90
<b>Figure 24.</b> Alignement des chromatogrammes des séquences	92
<b>Figure 25.</b> Polymorphisme généré par le marqueur CAPS, <i>HvBM5a (VRN-H1)</i> sur les six génotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et Trémois (V8).	95
<b>Figure 26.</b> Polymorphisme généré par le marqueur STS, <i>HvZCCT-H (VRN-H2)</i> sur les six génotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé aux génotypes Nure(V7) et trémois (V8).	95
<b>Figure 27.</b> Polymorphisme généré par le marqueur CAPS, <i>HVBM8</i> sur les six génotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's' : V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et trémois (V8).	99
<b>Figure 28.</b> Les majeures voies génétiques de la floraison adaptée par Cockram et al. (2007) pour l'orge et le blé.	101
<b>Figure 29.</b> La voie de floraison proposée pour Tichedrett et Elbahia	102
<b>Figure 30.</b> polymorphisme généré par les marqueurs CAPS de <i>CBF4</i> des génotypes locaux par rapport à Nure (A) et Tremois (B). Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et trémois (V8).	103
<b>Figure 31.</b> Polymorphisme généré par marqueur STS, <i>Dhn3</i> et <i>Dhn7</i> sur les six génotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et Trémois (V8).	106
<b>Figure 32.</b> Polymorphisme généré par le marqueur du gène de la famille Cbfs : <i>HvCBF8</i> du type CAPS après digestion par l'enzyme <i>DdeI</i> , <i>HvCBF3A</i> marqueur STS, <i>HvCBF10B</i>	



marqueur STS, *HvCBF12* marqueur ARMS. Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et Trémois (V8).108

**Figure 33.** Polymorphisme généré par le marqueur STS, *FRY1* sur les six génotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et Trémois (V8). ..... 112

**Figure 34.** Polymorphisme généré par le marqueur CAPS, *HvLOS2* sur les six génotypes locaux (Tichedrett :V1, Soufara's' :V2, Rahma :V3, Fouara : V4, Tissa : V5 et Elbahia :V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et Trémois (V8). ..... 113

**Figure 35.** Schéma récapitulatif des parties séquencées et du polymorphisme haplotypique existant pour les gènes CBF4, WRKY et ICE1 pour les génotypes d'orge sélectionnés en zone semi aride algérienne. .... 117

**Figure 36.** Changement en la surface foliaire (SF) de l'orge au stade trois feuilles sous l'effet du stress hydrique. (NS, non stressé ; S stressé). ..... 122

**Figure 37.** Changement en la teneur relative en eau (RWC) des feuilles d'orge au stade trois feuilles sous l'effet du stress hydrique. NS, non stressé ; S stressé. .... 123

**Figure 38.** changement en proline sous l'effet de stress hydrique chez des génotypes d'orge au stade trois feuilles. NS, non stressé ; S stressé ..... 125

**Figure 39.** Effet du stress hydrique sur la teneur en sucres solubles dans les feuilles d'orge au stade trois feuilles. NS, non stressé ; S stressé ..... 126

**Figure 40.** effet du stress hydrique sur la pression osmotique dans les feuilles d'orge au stede trois feuille. NS, non stressé ; S stressé ..... 127

**Figure 41 .** Effet du stress hydrique sur l'index de la stabilité membranaire (ISM) sur les feuilles d'orge au stade trois feuilles..... 129

## Liste des abréviations

**ABA** : Acide abscissique  
**ABF** : ABRE-binding factor  
**ABRE** : ABA responsive element  
**ACP** : Analyse en composantes principales  
**ADN** : acide désoxyribonucléique  
**AFLP** : Polymorphisme de Longueur de Fragments Amplifiés  
**ANOVA** : Analysis de variance  
**ARMS** : Amplification refractory mutation system  
**ATP** : Adénosine triphosphate  
**BET** : bromure d'éthidium  
**CAPS** : cleaved amplified polymorphic sequence  
**CBF/DREB** : C-repeat binding factor / DRE binding protein  
**COR** : Cold-regulated  
**CRT/DRE** : C-repeat / Dehydration responsive element  
**DH** : double haploïde  
**dNTP** : nucleotide tri-phosphate  
**DO** : Densité optique  
**EDTA** : disodium dihydrogénééthylènediamine tétraacétate  
**EST** : expressed sequence tag  
**Hv** : *Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*  
**IRAP** : inter-retrotransposon amplified polymorphism  
**ISSR** : inter-simple sequence repeat amplified polymorphism  
**Kb** : Kilo paire de base  
**LEA** : Late embryogenesis abundant  
**MAS** : sélection assistée par marqueur  
**MF** : matière fraîche  
**MS** : matière sèche  
**pb** : paires de bases  
**PCR** : Réaction de Polymérisation en Chaîne  
**PMG** : poids de mille grains  
**QTL** : quantitative trait locus  
**RAPD** : Polymorphisme de l'ADN Amplifié au Hasard  
**RFLP** : restriction fragment length polymorphism  
**rpm** : rotations par minute  
**RWC** : *relative water content* ou teneur relative en eau  
**SCAR** : sequence characterized amplified region  
**SDS** : Sodium-dodécyl-sulfate  
**SNP** : single/simple nucleotide polymorphism  
**SSR** : Séquences Simples Répétées ou Microsatellites  
**STS** : sequence tagged site  
**Taq** : *Thermus aquaticus*  
**Tigr** : The Institute of Genome Research  
**TF** : facteur de Transcription  
**UV** : ultra violet

# *Introduction*

---

## Introduction générale

L'orge est une céréale qui nourrit un quart de la population mondiale avec le blé, le riz et le maïs. Sa production mondiale a régressé de plus de 4% en 2009 après une nette progression de 13,8% en 2008 (FAO, 2009). La principale cause de cette régression est principalement due aux conditions climatiques défavorables comme la sécheresse qui a fortement affecté les récoltes de certains pays producteurs, surtout l'Argentine. Le manque de pluies mène à un stress hydrique, qui est un phénomène fréquent, provoqué par la rareté des pluies et l'absence d'irrigations (Wang et *al.* 2005). La sélection pour des variétés tolérantes à la sécheresse est une approche qui permet de répondre à ce problème.

La sélection variétale est en faveur de variétés résistantes qui peuvent produire des rendements élevés et réduire les dangers économiques d'une mauvaise récolte, non seulement dans les zones semi-arides, mais aussi dans les zones tempérées où la sécheresse et la chaleur sont temporairement menaçantes. Par ailleurs, la progression en cet aspect a été lente en raison de la complexité des caractères de tolérance et des liaisons génétiques.

Les Traits affectés par les relations de l'eau de la plante, comme la teneur relative en eau des feuilles (RWC) et l'ajustement osmotique indiquent clairement les modèles d'extraction de l'eau. L'adaptation du cycle de croissance à la disponibilité en eau devient une priorité. Développer les cultures bien adaptées pourrait améliorer les rendements dans de telles conditions, comme c'est le cas de l'orge (Gonzalez et *al.*, 2007). Le potentiel hydrique et la capacité d'ajustement osmotique sont les caractéristiques qui peuvent être sélectionnés pour améliorer la tolérance à la sécheresse de cultures différentes (Teulat et *al.*, 1997; Nayyar et *al.*, 2005).

L'augmentation de la biomasse de la culture contribue à l'amélioration du rendement des céréales. L'épiaison est un stade où une partie de la biomasse correspond aux épis. Cette proportion doit être élevée pour obtenir de meilleurs rendements et un indice de récolte plus élevé (Siddique et *al.*, 1989).

Outre les conditions de l'environnement, le rendement en grains de l'orge final est déterminé par le produit de trois composantes: le nombre d'épis par mètre carré, le nombre de grains par épi et le poids du grain (exprimée par le poids de mille grains). La durée de remplissage du grain et le cycle de croissance contribuent aussi grandement à l'élaboration du rendement des cultures (Garcia del Moral et *al.*, 1991).

Chaque composante du rendement pourrait être affectée par des déficits d'eau temporaires, dont l'ampleur dépendra du stade de développement de la plante lorsque ces conditions se produisent. Un stress hydrique tardif raccourcit la période de remplissage du

grain car elle conduit à la dessiccation prématurée de l'endosperme et limite la taille des embryons. La réduction de rendement est donc principalement due à une réduction du poids des grains produits (Gibson et Paulsen, 1999). Le maintien de surface foliaire verte à maturité, appelé *stay green*, est considéré comme un indicateur de la résistance à la sécheresse après l'épiaison, dans les programmes de sélection végétale aux Etats-Unis et l'Australie (Borrell et al., 2000). Cependant, la recherche sur le sorgho a indiqué que *stay green* est associé avec un contenu plus élevé en chlorophylle des feuilles à tous les stades de développement, et les deux étaient associés à l'amélioration du rendement et l'efficacité de transpiration en cas de sécheresse (Borrell et al., 2000).

Les mécanismes d'adaptation changent avec le génotype, l'âge de la plante, l'environnement, le type d'organes et de tissus (Difonzo et al., 2000). C'est dans cette approche qu'il est souhaitable d'étudier différentes conditions auxquelles est soumise la plante afin d'observer le type de réponses que se soit physiologique, biochimique ou morphologique.

Les gènes du développement sont importants dans l'adaptation des cultures à leur environnement agricole. Ces gènes sont connus pour avoir des effets pléiotropiques sur la tolérance aux stress abiotiques (Semikhodskii et al., 1997). L'avènement des outils de génétique moléculaire et de génomique a intensifié le rythme des découvertes dans l'étude des réponses des plantes aux stress environnementaux et mis en lumière une multitude de mécanismes physiologiques. ce qui permet d'accéder à des informations précises : le nombre et l'effet des gènes intervenant dans l'expression d'un caractère, leur localisation sur les chromosomes et leur mode d'action (Prioul et al., 1997).

L'utilisation de marqueurs moléculaires est encore limitée mais plusieurs projets cherchent à développer une méthodologie de sélection assistée par marqueurs (SAM) adaptée aux programmes d'amélioration des plantes. La recherche d'homologies de séquences avec des séquences de gènes connus chez les espèces modèles (*Arabidopsis* et le riz) est une stratégie communément utilisée pour isoler des gènes candidats.

Plus que jamais, l'amélioration variétale est un impératif pour relever un tel challenge. De nouvelles méthodologies, de nouveaux outils et des ressources – telles que la séquence du génome – ont été développés afin de permettre une meilleure efficacité et une plus grande précision du processus de sélection variétale, et d'établir de nouveaux schémas de sélection plus performants et à cycles plus courts.

L'orge est un excellent exemple dans lequel les marqueurs génétiques sont utilisés pour élaborer de nouvelles méthodes de sélection (Powell et al, 1996, Toojinda et al, 1998.). Une fois les marqueurs génétiques ont été développés pour un trait particulier les marqueurs

peuvent être utilisés pour évaluer la variation à la disposition des sélectionneurs. A partir de ces données des décisions plus éclairées peuvent être faites sur des combinaisons parentales.

La sélection de l'orge dans la zone semi aride algérienne s'est basée sur la considération de caractères lui permettant de donner de bons rendements ceci malgré les fluctuations des conditions climatiques du milieu. Toutefois ces caractères peuvent être corrélés dans les différents environnements, tels que la hauteur ou le poids de grains ou la précocité qui sont en relation avec les caractéristiques climatiques des sites de culture. En effet, le climat de cette zone se caractérise par des compagnes arrosées alors que d'autres ne le sont que peu. Il faut noter que les gelées tardives qui coïncident avec le stade épiaison et la sécheresse précoce qui affecte le remplissage du grain ont un effet très marquant sur l'instabilité du rendement.

Selon Bouzerzour (1998), la sélection multicaractère a été largement adoptée en zone semi aride de Sétif et est en faveur du génotype qui possède la capacité de produire une biomasse élevée avant l'épiaison et fait une bonne utilisation de cette biomasse. La sélection de céréales précoces est le moyen le plus utilisé pour lutter contre la sécheresse de fin de cycle. Elle s'exprime par une vitesse de croissance printanière élevée du génotype et par une capacité de croissance aux basses températures et l'insensibilité à la photopériode (Monneveux, 1991).

Plusieurs génotypes ont été sélectionnés en cette zone, mais il semble difficile d'expliquer les fluctuations observées aux cours du développement de la plante. Chaque individu présente une spécificité quant aux mécanismes de résistances à la sécheresse qu'il développe.

Afin d'accompagner la sélection des nouvelles variétés, une meilleure compréhension des bases génétiques, physiologiques et moléculaires, qui sous-tendent les caractères d'intérêt agronomique est impérative. Pour avancer dans cette direction, l'accès à l'information de base, cachée au cœur du génome et des chromosomes de l'orge, est plus que jamais fondamental.

## **Objectif et organisation de la thèse**

L'objectif de ce présent travail est de déterminer les critères de résistance pour l'adaptation aux contrastes de l'environnement survenant en fin de cycle en zone semi aride algérienne, chez quelques génotypes d'orge.

Cette étude porte essentiellement sur l'évaluation de la diversité de ces génotypes par une approche phénotypique se basant sur la connaissance des caractéristiques physiologiques, biochimiques et agronomiques liés au rendement, ou encore l'adaptation au milieu qui explique largement le comportement agronomique des génotypes sélectionnés dans un contexte environnemental.

Une deuxième approche est adoptée et qui se base sur la description génotypique. Elle permet de décrire les caractéristiques au sein d'une même variété. L'accès au(x) gènes responsables d'un caractère permet de soutenir l'amélioration variétale de plusieurs façons, qui peuvent être complémentaires. Elle permet de développer de très nombreux marqueurs moléculaires, qui peuvent être utilisés pour accélérer la sélection dans le cadre de programmes de sélection assistée par marqueurs (SAM). D'autre part, elle permet de rendre beaucoup plus efficace l'identification du ou des gènes responsables de caractères d'intérêt agronomique.

Dans un premier temps nous nous sommes consacrés à décrire la réaction de six génotypes face aux conditions naturelles de la région semi aride, où ils ont été sélectionnés. Durant deux campagnes des caractères physiologiques, biochimiques, morphologiques et agronomiques ont été suivis et traités fin de faire ressortir les liaisons entre les formes d'adaptation.

La deuxième partie de cette thèse est consacrée à la description biomoléculaire par l'utilisation de marqueurs moléculaires relatifs à l'adaptation à savoir la floraison et la résistance au froid et à la sécheresse. La stratégie mise en œuvre est de comparer les six génotypes avec deux génotypes dont les allèles ont été cartographiés. Sur la base de cette comparaison le polymorphisme a été facile à identifier. Dans le cas où les gènes ont été différents de ceux des deux génotypes de référence, le recours au séquençage des gènes a été réalisé.

Dans un troisième temps nous avons essayé de cerner la réponse de la plante au stress hydrique. La décision de prendre en considération ce type de stress par rapport aux autres stress abiotiques vient suite au fait que le manque d'eau est devenu le facteur majeur qui contribue à la chute du rendement dans la zone semi aride. Au cours de cette partie les mécanismes physiologiques et biochimiques de résistance à la sécheresse impliqués par les génotypes testés ont été mis en évidence.

En dernier, une association de la réponse au stress hydrique avec les gènes candidat de la résistance à la sécheresse a été réalisée pour lier le gène à l'effet. La description, ainsi considérée, constituerait un outil de sélection efficace et précis pour mieux cibler les variétés résistantes.



# *Chapitre I : Synthèse Bibliographique*

---

## CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

### 1.1. Présentation de l'orge (*Hordeum vulgare* L.)

#### 1.1 .1. Description de la plante

L'orge est une plante annuelle, autoféconde, elle est très semblable au blé par la morphologie de ses organes végétatifs et floraux. Sa taille varie de 50 à 150 cm, et présente plusieurs talles et de longs épis (7 à 10 cm). L'orge comporte deux épillets par entre nœud, chaque épillet produit une seule fleur fertile (Simon et *al.*, 1989). Les variétés d'orge sont regroupées d'après les caractéristiques de leur épi (Winch, 2006). On peut distinguer :

- Les orges à deux rangs où seuls les épillets médians se développent en grains.
- Les orges à six rangs dont les épillets médians et latéraux sont fertiles et produisent six lignes de grains.
- Un troisième type d'orge existe avec quatre rangs dont les épillets latéraux sont fertiles, ce type d'orge n'est pas trop cultivé.

#### 1.1.2. Taxonomie et origine

L'orge (*Hordeum vulgare* L. ssp *vulgare*) est une monocotylédone de la tribu des *Triticeae* et est placée dans la sous tribu des *Hordinae* du fait de la différence constatée au niveau de la structure de ses épis. Le genre *Hordeum* comprend 32 espèces (Von Bothmer et *al.*, 1991).

L'orge cultivé a évolué à partir de l'espèce *H. vulgare* ssp *Spontaneum* CC.KOCH. qui est une orge spontanée possédant un épi à rachis cassant (facilite la dispersion de la semence) à deux rangs (Von Bothmer, 1985). En effet, Zahory et Hopf (1988) considèrent que les formes spontanées appartiennent à une même espèce *H. vulgare* et ils leurs assignent le nom de sous espèce : ssp *spontaneum* pour les formes spontanées, ssp *hexastichum* pour les formes cultivées à six rangs, ssp *Distichum* pour les formes cultivées possédant deux rangs et ssp *tetrastichum* pour ceux à quatre rangs.

L'orge est originaire du croissant fertile (centre A) du proche orient de la Palestine et de la Jordanie (Harlan, 1976). C'est une espèce très ancienne, sa culture remonte à 7000-6000 ans Avant Jésus-Christ selon les épis découverts par les archéologues. Les orges à six rangs remontent à 6000 ans Avant Jésus-Christ, issues d'une mutation mendélienne simple. Elles sont dérivées d'orge domestiquée possédant un épi à deux rangs.

### 1.1.3. Aspect génétique

L'orge est l'une des espèces les plus utilisées en expérimentation pour des études génétiques (Hockett et Nilan, 1985) en raison de :

- Sa nature diploïde contrairement aux blés cultivés tétraploïdes et hexaploïdes. Ce qui offre la possibilité d'étudier, de classifier et analyser plusieurs caractères héréditaires.
- Son nombre de chromosome réduit soit  $2n=14$ .
- Ses larges chromosomes (6-8  $\mu\text{m}$ ) lui permettent de détecter plusieurs types d'aberrations.
- Son degré élevé d'autogamie.
- Facilité d'hybridation.

Le génome de l'orge est large d'une taille de  $5,35 \times 10^9$  paires de bases (Arumuganathan et Earle, 1991). Les sept chromosomes de l'orge ont en grande partie le même contenu génétique que ceux des autres *Triticeae*. Dans la *Triticeae* système, la désignation de l'orge sur la carte génétique est la suivante :

- Chaque chromosome est désigné par un chiffre de 1 à 7 suivis par la lettre H.
- Les bras du chromosome sont désignés par la lettre S (bras court) et L (bras long).
- Les gènes sont symbolisés par des lettres aussi brèves que possible et écrits en italique, ils sont trois : la dominance est représentée en majuscule et ceux d'un gène récessif en minuscule.

### 1.1.4. Ecologie et méthodes de culture de l'orge

Compte tenu de l'origine de l'orge et de ses caractéristiques de croissance, les conditions écologiques propices à sa culture devraient être relativement similaires à celles du blé. Cependant, cette espèce possède un potentiel d'adaptation élevé.

La culture d'orge se fait autant dans les régions froides délimitées aux latitudes 55 – 65°N que dans les régions tropicales et subtropicales en altitudes qui possèdent une saison sèche prolongée (Winch, 2006). Hormis ses besoins éventuels en vernalisation (Jestin, 1992), l'orge est une plante de jours longs, mais elle semble être adaptée aux variations de longueurs du jour. L'orge peut se développer sous des climats froids comme elle peut tolérer des climats très chauds avant et après l'épiaison (Winch, 2006). Par ailleurs, la température optimale pour la germination et l'émergence est de 15-20°C le minimum étant de 2°C. Le seuil de mortalité varie entre -12 et -16°C (Simon et *al.*, 1989).

L'orge est une espèce résistante à la sécheresse, ses besoins en eau sont estimés à 450 – 500mm par cycle de culture (Simon et *al.*, 1989 et Winch, 2006).

Généralement, l'orge présente un cycle végétatif de 180 jours pour le type d'hiver et de 85 – 120 jours pour le type de printemps (Winch, 2006). D'après Jestin (1992), en zone tempérée, l'orge d'hiver présente des besoins en température de 1900 à 2000 en degrés jours alors que l'orge de printemps se caractérise par des sommes de températures de 1500 à 1700 en degrés jours.

La production d'orge est optimisée sur sols alcalins à légèrement acides à texture moyenne et bien drainés mais produit peu sur des sols sablonneux, pauvres et fortement acidifiés (Winch, 2006 ; Baldrige et al., 1985).

### 1.1.5. Place de l'orge dans la céréaliculture algérienne

D'après Khiati (2008), la production moyenne en céréales a augmenté de 18 millions de quintaux entre 1981 et 1985 à 24 millions de quintaux entre 1991 et 2000, avec une récolte exceptionnelle en 1996 (49 millions de quintaux) due à une excellente pluviométrie. En revanche, elle a chuté à moins de 10 millions de quintaux en 1997, en raison de la sécheresse. Selon le même auteur, depuis plus d'un siècle les rendements moyens n'ont pas dépassé 7q/ha, à titre d'exemple durant la décennie 1880-1889, le rendement moyen était de 5,36 q/ha, entre 1980-1989, il n'a été que de 7,29 q/ha.

Les superficies cultivées en orge sont en progression continue. En effet, elles passent de 815 340 ha en 1982 à 900 000 ha en 2007 (<http://faostat.fao.org/06/12/2010>). Cette augmentation n'est pas, malheureusement, couronnée par une augmentation des rendements qui passent de 5,92 q/ha à environs 15 q/ha et qui est considéré comme un rendement faible (Tableau 1).

**Tableau 1.** Superficie, production et rendement de l'orge en Algérie de 1998 à 2007

	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
<b>superficie (ha)</b>	939210	468960	215630	515690	401400	782380	915440	684648	812280	900000
<b>Rendement (q/ha)</b>	7,4	10,8	7,5	11,1	10,3	15,6	13,2	15,1	15,2	16,1
<b>production (tonne)</b>	700000	510000	163287	574654	416112	1221980	1211600	1032819	1235880	1 450 000

Source: <http://faostat.fao.org/06/12/2010>.

En effet, malgré l'extension des superficies emblavées avec réduction de la jachère, la mobilisation des ressources hydriques par l'irrigation d'appoint et l'apport technologique en matière de maîtrise de l'itinéraire technique les rendements restent peu appréciables. Il faut souligner que durant longtemps la pratique de cette culture occupait en grande partie des espaces sans qu'ils aient adéquation avec leurs vocations naturelles. Cette pratique favorisait beaucoup plus la dégradation des sols, particulièrement ceux des zones fragiles agropastorales et steppiques.

Les fluctuations de la production annuelle peuvent être expliquées par les variations du milieu. En effet, l'orge est cultivée en grande partie sous des climats semi-arides et arides des hauts plateaux de l'Est et de l'Ouest algérien, les précipitations spatio-temporelles qui les caractérisent varient en moyenne entre 200 mm et 800 mm.

#### 1.1.6. Sélection de l'orge

Les méthodes de sélection les plus utilisées se basent sur le choix des parents dont les caractères transmis correspondent aux objectifs tracés par les améliorateurs, par augmentation des fréquences de gènes favorables pour une caractéristique donnée (Zahour, 1992). Les progrès en productivité de l'orge à travers les 50 dernières années ont surtout concerné l'indice de récolte pour un rendement stable et des génotypes adaptés, ainsi qu'une vigueur végétative (Jestin, 1992).

Les programmes de sélection les plus adoptés par l'Algérie se basent sur la création à long terme qui permet le développement de génotypes à potentiel élevé, en d'autres termes l'amélioration de la régularité de la récolte en quantité et en qualité qui est obtenue par la sélection pour la résistance aux variations de l'environnement donc résistances aux stress abiotiques. Les méthodes de sélection sont les méthodes classiques qui font appel à la sélection généalogique faisant intervenir (Jestin, 1992) :

- L'évaluation précoce en 2 ou 3 lieux, dès F3 ou F4 pour des maladies ou la souplesse d'adaptation ;
- L'estimation précoce du potentiel de productivité des descendances, par des essais sur micro parcelles, soit par mélanges de famille ou de pépinière.

L'étude génétique des caractères de tolérance à la sécheresse sont souvent réalisés sur des populations ségréantes F2 et F3. La difficulté est surtout expérimentale du fait que les mesures doivent être conduites sur un grand nombre d'individus hétérozygotes différents, ce qui interdit par ailleurs toutes répétitions des mesures. Donc, l'étude de la transmission ou l'héritabilité des caractères surtout physiologiques en populations ségréantes.

Dans le but de soutenir un gain significatif dans les zones sèches, les sélectionneurs ont souvent recours aux germoplasmes diversifiés. En effet, il est reconnu que les géniteurs sauvages et les variétés locales les plus anciennement cultivées ont accumulé durant leur longue existence un réservoir génétique riche en gènes d'adaptation et de survie aux conditions sévères du milieu (Grando et al., 2001). La diversité génétique existante chez les génotypes locaux est indispensable dans l'amélioration des plantes liée surtout à l'adaptation aux conditions environnementales.

L'avènement de la biologie moléculaire a permis le transfert direct de gènes des génotypes locaux anciennement cultivés vers des génotypes à haut potentiel mais à faibles tolérances relatives aux changements climatiques.

## **1.2. Réponse de la plante à la sécheresse**

La sécheresse est la plus commune des stress abiotiques qui affecte la stabilité de l'orge en région méditerranéenne (Ceccarelli et Grando, 1996). Les risques liés à la sécheresse augmentent chaque année et deviennent une menace de la sécurité alimentaire du monde entier d'où l'intérêt de comprendre les mécanismes d'adaptation des génotypes aux zones arides, ou leur stabilité à donner un rendement acceptable sous stress.

La réponse des plantes aux stress abiotiques peut être de diverses façons. En effet, elles peuvent éviter les effets du stress en accomplissant leur croissance durant les périodes de moindre stress ou bien elles ne peuvent pas le supporter et donc peuvent subir des lésions ou encore des modifications spécifiques de leur métabolisme leur permettant d'éviter ou de tolérer les effets du stress.

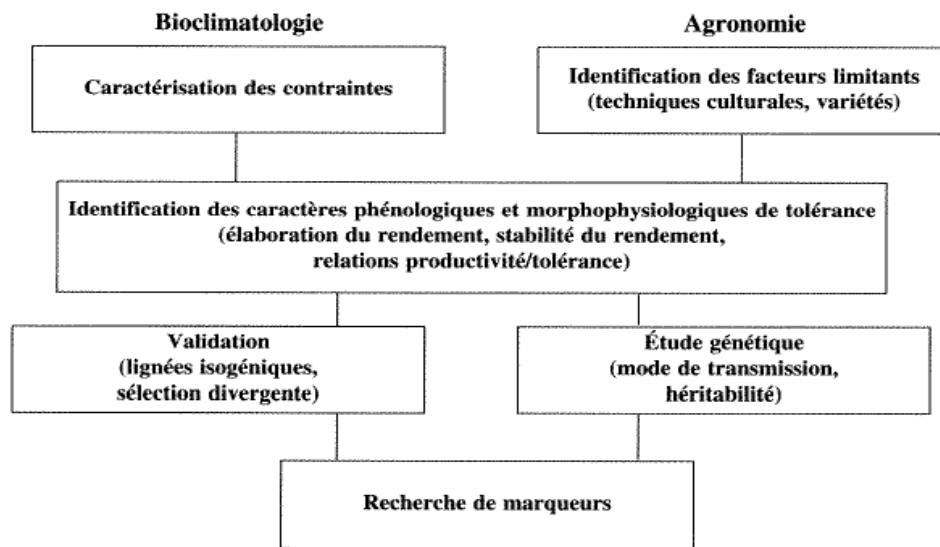
L'évitement est défini par Levitt (1980) comme étant la capacité développée par la plante pour résister à une période de sécheresse par le maintien d'un équilibre hydrique interne favorable. Le plus souvent il se traduit par le développement d'un système racinaire profond, de feuilles charnues, de cuticule épaisse ou par la présence de pubescence (Deraissac, 1992 ; Hopkins, 2003).

La tolérance à la sécheresse implique la survie de l'organisme à la dessiccation qui n'endommage pas son protoplasme et sa reprise de croissance normale lorsque le protoplasme sera réhydraté (Hsiao et Acevedo, 1974). L'action de l'environnement crée ce qu'on qualifie par des plantes adaptées ou encore acclimatées, suite à leur tolérance au stress.

L'adaptation se rapporte à des modifications de structure ou de fonctions héritables, qui augmentent l'adéquation de l'organisme dans un environnement stressant. D'un autre côté, l'acclimatation se rapporte à des modifications physiologiques non héritables qui interviennent au cours de la vie de l'individu. Le processus d'acclimatation à un stress est appelé résistance donnant des plantes résistantes.

La diminution des disponibilités en eau et les changements des conditions du milieu réduisent la croissance et modifient les processus métaboliques (Hsiao, 1973) induisant des tolérances. Par ailleurs et selon Monneveux et Depigny-This (1995), la tolérance à la sécheresse est un phénomène complexe faisant intervenir, face à la pression erratique des contraintes environnementales, de nombreux mécanismes interactifs et à déterminisme génétique complexe. Ils proposent une description du comportement global dans des milieux

donnés, caractérisation physiologique, analyse génétique des caractères et recherche de marqueurs pour ces caractères qui sont considérés comme le maillon d'une chaîne (Figure 1).



**Figure 1.** Schéma général d'amélioration génétique de la tolérance à la sécheresse (Monneveux et Depigny-This , 1995)

### 1.2. 1.Effet de la sécheresse sur la croissance et le développement de la plante

La réaction des plantes à la sécheresse dépend de la vitesse d'évaporation d'eau, de la durée du déficit hydrique et de l'espèce mais aussi de la variété et donc du génotype. Au niveau cellulaire, elle varie en fonction de l'organe considéré, du type de cellules et du stade de développement de la plante.

En conditions méditerranéennes la recherche de la précocité a été le moyen le plus utilisé pour éviter les effets du déficit hydrique sur le poids du grain (Dib *et al.* 1991). En effet, l'amélioration des rendements en conditions sèches est due, en grande partie, à la précocité (Turner, 1979). Celle-ci serait responsable de 40 à 60% de la variabilité du rendement. Dans une étude portant sur 53 cultivars de blé, d'orge et de triticale, Fisher et Maurer (1978) ainsi que Turner (1986) ont montré que chaque jour de précocité supplémentaire conduisait à une augmentation moyenne de rendement de 3 q/ha.

D'après Monneveux (1989) cité par Doussinault *et al.* (1992), cette stratégie a présenté des limites telles que:

- Réduction de la productivité due au raccourcissement du cycle,
- Augmentation des risques de gels d'épis en zones continentales ou d'altitude,
- Réduction de la taille du système racinaire induisant une moins bonne utilisation de l'eau.

La réduction de la surface foliaire transpirante est souvent associée à un évitement de la contrainte hydrique (Keim et Kronstard, 1981). Selon Hopkins (2003), la réduction de la croissance foliaire est bénéfique aux plantes soumises au stress hydrique puisque la surface foliaire est diminuée et la transpiration réduite. En effet, un faible apport d'eau se traduit par une diminution de la turgescence des cellules des zones de croissance.

Les racines sont moins sensibles au stress hydrique que les parties aériennes. La croissance relative des racines peut être augmentée par de faibles potentiels hydriques, de sorte que le rapport racine/partie feuillée est modifié en faveur de la partie racinaire. Une augmentation de ce rapport en carence hydrique est nettement avantageuse puisque il permet au système racinaire d'extraire plus d'eau en explorant des volumes de sol plus importants.

D'après Sahnoune et *al.* (2004), un déficit hydrique faible ou moyen affecte le développement des racines d'orge, alors que l'impact d'un stress sévère est beaucoup plus marqué, en bloquant la croissance. Cet arrêt de croissance serait engendré par la mort des apex racinaires et par la non-initiation de nouvelles racines latérales. La profondeur racinaire peut être un bon critère de sélection dans le choix de lignées dans les programmes de sélection pour la résistance à la sécheresse (Passioura, 1983).

## **1.2. 2.Effets de la sécheresse sur les paramètres physiologiques**

L'étude des paramètres physiologiques en grandes cultures a permis d'accumuler un ensemble de connaissances sur le fonctionnement des plantes ce qui fourni aux agronomes et aux améliorateurs des informations et/ou des outils qui peuvent être utilisés en conjonction avec les méthodes classiques de sélection, une continuation de l'amélioration de la production et une adaptation meilleure et plus rapide aux contraintes de plus en plus changeantes (Ledent et Girardin, 1993).

### **1.2. 2.1. Sècheresse et le potentiel hydrique**

Les forces motrices de l'eau dans la plante sont soumises à un gradient de potentiel de l'eau c'est-à-dire qu'elle migre de la région à potentiel élevé vers les régions à potentiel plus faible. Le  $\Psi_w$  de la plante peut être définie comme étant la somme des potentiels qui le composent (Hopkins, 2003).

$$\Psi_w = \Psi_p + \Psi_s$$

$\Psi_p$  : représente le surplus de pression hydrostatique par rapport à la pression atmosphérique.

$\Psi_s$  : précédée du signe « - » est le potentiel osmotique, il représente la contribution des solutés de la solution.



La différence du potentiel hydrique crée le mouvement de l'eau, elle est appelée variation du potentiel hydrique ( $\Delta\Psi$ ). Sous l'effet de l'évapotranspiration, le sol perd son humidité et présente un potentiel hydrique élevé réduisant la disponibilité de l'eau d'absorption pour la plante ce qui diminue de la pression de turgescence des cellules causant une cessation de la division et de l'élongation des cellules. Pour que la plante continue à absorber de l'eau il faudra que le potentiel hydrique racinaire soit réduit (plus négatif) pour que l'eau du sol puisse pénétrer dans les racines (Richter, 1993; Hopkins, 2003 et Verslues et *al.*, 2006).

Le potentiel hydrique du sol reflète la disponibilité du sol en eau. Selon Richter (1993), il peut être estimé par le point de flétrissement qui est de -0,5 à -0,8 MPa pour les plantes hydrophiles et de -1 à -2 MPa pour les plantes mésophiles et il peut être de -2 à -3 MPa pour les plantes xérophiiles.

#### 1.2.2.2. Sècheresse et l'ajustement osmotique

Dans le cas d'un stress hydrique ou salin, les cellules racinaires doivent réduire leur potentiel hydrique par accumulation de solutés, pour que l'eau ne se perde pas. Cette accumulation peut avoir lieu, aussi, dans les feuilles pour induire la fermeture des stomates et limiter la transpiration. L'accumulation des solutés est appelée osmorégulation ou encore ajustement osmotique.

L'ajustement osmotique peut être défini comme étant une nette augmentation de la concentration des solutés par des processus métaboliques. Cette réaction permet le maintien du mouvement d'eau vers les feuilles et par conséquent la turgescence de leurs cellules. Les solutés qui participent à l'ajustement osmotique comprennent une série d'ions inorganiques, des glucides, des acides aminés et d'autres carbohydrates (Turner et Jones, 1980). La fonction des solutés, appelés aussi osmolytes, réside non seulement en l'ajustement osmotique mais aussi en la stabilisation de la membrane (Levitt, 1980 et Kocheva et *al.*, 2004), stabilisation de la conformation des protéines et les propriétés des antioxydants (Sairam et Saxena, 2000).

Les ions inorganiques sont essentiellement les ions minéraux tels que le potassium, les phosphates, les sulfates et les nitrates. Leurs teneurs sont modifiées en conditions de stress hydrique. D'après Jones et *al.* (1980), l'accumulation des ions potassium contribue largement dans l'ajustement osmotique ce qui est due à l'équilibre des charges négatives d'une part et d'autre part de la membrane cytoplasmique qui résulte des acides aminés contenus dans la cellule. En effet, les ions  $K^+$  tendent à s'accumuler dans les cellules à cause du nombre élevé des charges fixes portées par les protéines et d'autres macromolécules (Hopkins, 2003).

Les solutés organiques azotés dont l'accumulation dans la cellule tend à protéger les protéines contre les déhydratations en créant un potentiel osmotique bas sont la glycine bêtaïne et la proline. La glycine bêtaïne est synthétisée dans les plantes via l'oxydation de la Choline qui est dérivée de la sérine (Breton et *al.*, 2000). Elle intervient à un degré moindre par rapport à la proline dans l'ajustement osmotique. Les Travaux de Grumet et Hanson (1986) montrent que les lignées d'orge accumulant la glycine bêtaïne présentent un potentiel osmotique bas. Ils suggèrent que leur taux dans l'orge est contrôlé par des gènes d'osmorégulation à effet pleiotropique et qui présentent des allèles conférant plusieurs niveaux de pression  $\Psi_s$  en influençant les concentrations en solutés.

La proline est synthétisée à partir du glutamate comme elle peut être synthétisée à partir de l'ornithine (Richter, 1993). Le choix du trajet qui est à l'issue de la proline dépend du taux d'azote dans la plante qui augmente la concentration de l'ornithine et l'arginine (Hare et Cress, 1997). Le déficit hydrique interviendrait d'après Boggess et Stewart (1976), principalement sur la formation du P5C, plus que sur la réduction du semialdéhyde glutamique.

Hua et *al.* (1995) montrent que chez les feuilles d'orge turgescentes, la proline est oxydée en glutamate dans les conditions favorables, alors qu'en manque d'eau elle est très réduite. Mahdid et Kameli (1998) constatent une diminution de la concentration en proline après suspension du stress hydrique appliqué sur l'orge et supposent son éventuelle utilisation dans la croissance ou dans la synthèse des composés azotés. D'après Monneveux (1991), l'accumulation de la proline au niveau des tissus foliaires est un phénomène lié au déficit hydrique, présentant à l'intérieur d'une espèce donnée une assez grande variabilité, donc lié au niveau de tolérance du génotype. Paradoxalement, Eljaafari (1993) et Benlaribi et *al.* (2005), sur des études faites sur blé, mentionnent la possibilité de distinguer les variétés sensibles des variétés tolérantes à la sécheresse sur la base de la proline. Les variétés tolérantes seraient celles accumulant le moins de proline.

Dans la sélection à la sécheresse, l'utilisation de la proline peut être limitée du fait qu'elle soit considérée comme un osmoprotecteur (Yoshida et *al.*, 1997). En effet, l'accumulation de la proline n'est pas spécifique au déficit hydrique (Singh et *al.*, 1972). Elle s'accumule sous l'effet du stress salin (Stewart et Lee, 1974), et sous l'effet des basses températures (Breton et *al.*, 2000).

L'accumulation des sucres solubles contribue largement au maintien de la turgescence des cellules par l'ajustement osmotique. C'est le résultat de la poursuite du processus de photosynthèse (Acevedo et *al.*, 1979). L'accumulation du glucose et du fructose est une conséquence remarquable suite à une application de stress sur l'orge (Mahdid et

Kameli, 1998). En effet, une contrainte hydrique entraîne une accumulation relativement élevée pour le maintien d'une intégrité cellulaire élevée (Benabdallah et Bensalem, 1993).

Cette accumulation résulte d'une modification du métabolisme carboné. Elle est considérée comme un facteur d'osmorégulation qui favorise une meilleure tolérance à la sécheresse (Eljaafari, 1993 ; Nasraoui, 1997). Chez le blé il a été constaté qu'en cas de stress, le malade est synthétisé activement mais les changements les plus importants ont concerné les carbohydrates solubles. La concentration de sucrose, glucose et fructose, suggère leur action en tant qu'osmoticum (Simier et *al.*, 1993).

Le tréhalose se trouve chez les animaux, champignons, levures et bactéries et sauf chez certaines plantes de la résurrection. D'après les travaux de Goddjin et *al.* (1999), Wingler (2002) et Penna (2003), il a un rôle protecteur par la vitrification du cytoplasme, protecteur des protéines (stabilisation de la conformation) et la protection de la membrane.

La variation génotypique de l'osmorégulation et ses composantes a été identifiée chez plusieurs espèces tel que le blé (Johnson et *al.*, 1984 ; Morgan, 1983 ; Morgan et *al.*, 1986) ; l'orge (Blum et *al.*, 1989) et le sorgho (Blum et *al.*, 1989 ; Santamaria et *al.*, 1990). L'héritabilité des caractères morfo-physiologiques sont contrôlés par l'action additive de gènes (Yap et Harvey, 1972). Morgan (1983), chez une population F4, montre que l'ajustement osmotique en milieu contrôlé présente des différences quant au maintien de la turgescence par rapport à leur comportement au champ.

Outre les osmolytes cités, il existe l'accumulation particulière de l'acide abscissique (ABA) par la plante en réponse au stress hydrique (Hsiao, 1973). L'ABA est une phytohormone qui module le développement de la plante, la dormance des graines, la germination, la division cellulaire et la réponse aux stress environnementaux comme la sécheresse, le froid, la salinité, l'attaque de pathogènes ou encore les radiations UV (Rock, 2000). Il est considéré comme un inhibiteur de croissance. L'ABA est ubiquiste, il est souvent présent en fortes concentrations dans les tissus non stressés, d'où la difficulté de déterminer son rôle exact. Il a été rapporté que l'ABA est facilement transporté par le courant transpiratoire des racines vers les feuilles (Zhang et Devies, 1987), ce qui est une assez bonne preuve de l'intervention de l'ABA dans une sorte de système d'alarme qui communique très précocement des informations sur le potentiel hydrique du sol aux feuilles.

### 1.2.2.3. Ajustement stomatique

Il existe une relation directe entre le potentiel hydrique foliaire et la conductance stomatique (Brown et *al.*, 1976). L'ajustement stomatique favorise une conductance élevée en stress hydrique (Gonzalles et *al.*, 1998) qui est en fonction du changement de la turgescence

des cellules de gardes des stomates qui à son tour est liée au potentiel hydrique, au potentiel osmotique, à l'âge et aux conditions de croissance de la plante (Robelin, 1984).

Les stomates peuvent se maintenir fermés jusqu'à 5 jours après levée de stress qu'il soit modéré ou sévère (Hsiao et Acevedo, 1974). Dans les travaux de Medrano et *al.* (2002) il a été proposé d'utiliser la conductance stomatique comme un paramètre de référence chez les plantes en C3 dans leur réponse à une sécheresse progressive.

#### 1.2.2.4. Photosynthèse (*stay green*)

Dans des conditions de sécheresse, la durée de la photosynthèse est fortement limitée par une sénescence prématurée des feuilles. Les génotypes qui maintiennent longtemps leur activité photosynthétique sont appelés *stay green*, qui est une variation dans la durée, plutôt que dans le taux d'activité photosynthétique (Watson, 1952), et ainsi, la sénescence des feuilles est retardée. Gregersen et *al.*, (2008) ont rapporté une corrélation positive entre la sénescence retardées des cultures et le rendement en grain qui peut être dû à une plus longue période de photosynthèse active, des assimilats supplémentaire utilisés pour le remplissage du grain.

*Stay green* est un caractère souhaitable dans l'amélioration de céréales. En effet, les génotypes possédant la capacité *stay green* tout au long du remplissage sont des candidats potentiels pour assurer un rendement dans les régions semi arides (Hoang and Kobata, 2009; Larbi and Mekliche, 2004). Ils peuvent maintenir l'activité photosynthétique au cours du remplissage du grain, surmontant ainsi l'effet de la sécheresse par le maintien des assimilats, de l'activité racinaire et de l'absorption de l'eau (van Oosterom *et al.*, 1996). La progression de l'effet du stress et avec la déshydratation des tissus entraînent une détérioration graduelle du métabolisme incluant une limitation de la photosynthèse (Tezora et *al.*, 1999), de la régénération du rubulose biphosphate (Gunasekera et Berkowitz, 1993) et l'activité de la rubulose carboxylase (Pary et *al.*, 2002).

#### 1.2.2.5. Membrane cytoplasmique et stress hydrique

La membrane cytoplasmique est largement touchée par le stress. Elle est la première ciblée par le stress (Levitt, 1980). D'après Hopkins (2003), le départ de l'eau des membranes rompt la structure normale de la bicouche lipidique et provoque l'apparition de canaux remplis d'eau et bordés par les groupements polaires des têtes phospholipidiques. Autrement dit, les membranes deviennent très poreuses lorsqu'elles sont desséchées.

La stabilité de la membrane est un caractère très lié à la stabilité du rendement (Difonzo et *al.*, 2000). Elle peut être utilisée dans les programmes de sélection pour l'environnement méditerranéen pour le blé et comme critère d'adaptation (Chandrasekar et *al.*, 2000). Chez l'orge, les dommages de la membrane augmentent avec la durée du stress et ils sont largement corrélés au statut hydrique de la plante. En effet, plus la perte en eau est importante plus les dommages de la membrane sont importants (Kocheva et *al.*, 2004).

La baisse de stabilité membranaire reflète l'étendue de l'oxydation des lipides. Il a été noté que l'activité du lipide peroxydase est limitée chez des génotypes de blé tétraploïdes sous conditions défavorables (Dhindsa et *al.*, 1981). L'oxygène agit comme le radical super oxyde, peroxyde d'hydrogène et le radical d'hydroxyde, entraîne une peroxydation des lipides et comme conséquence l'endommagement de la membrane, la dégradation des protéines, l'inactivation d'enzyme, la décoloration de pigments et le début de rupture de l'ADN (Sairam et Saxena, 2000).

#### 1.2.2.6. Aquaporines

Dans les plantes, les aquaporines présentent de multiples isoformes et constituent une famille qui est subdivisée en quatre classes distinctes par leur localisation (Luu et Maurel, 2005). Les aquaporines les plus abondantes dans la membrane vacuolaire appartiennent aux protéines intrinsèques du tonoplaste (TIP) et celles du plasmalemmes dites protéines intrinsèques de la membrane plasmique (PIP).

Les PIP semblent jouer un rôle spécifique important dans le contrôle du transport transcellulaire de l'eau, elles sont abondamment présentes dans les racines et servent d'intermédiaires pour l'eau absorbée du sol (Javot et Maurel, 2002). Au niveau des feuilles, elles contribuent à décharger la sève du xylème dans le mésophile et aide à définir la trajectoire du flux transpiratoire (Morillon et Chrispeels, 2001).

Les travaux de Tyerman et *al.* (2002), signalent la capacité qu'ont les aquaporines à transporter une petite quantité de solutés neutres et/ou gaz avec l'eau, ce qui fait d'une aquaporines un canal membranaire à fonction multiples. En effet, au niveau des tissus foliaires, les PIP contribuent à diffuser le CO<sub>2</sub> (Terashima et Ono, 2002 ; Hanba et *al.*, 2004).

#### 1.2.2.7. Protéines LEA

Les protéines, généralement face à un stress abiotique, enregistrent une chute importante de leur synthèse au profit de d'autres protéines dites protéines de stress. Ce sont une famille des protéines LEA (late embryogenesis abundant) connues sous le nom de déhydrines (Close et *al.*, 1993 ; Close et *al.*, 1989).

D'après Gautiers *et al.* (1993), les LEA sont synthétisées tardivement pendant la phase de dessiccation du grain, juste avant la dessiccation finale de l'embryon où l'ARNm et les protéines LEA sont les plus abondants. Le nombre de déhydrines est variable au sein d'une même espèce du fait même de la variabilité du nombre de polypeptides les constituants qui est de 100 à 600 acides aminés (Close, 1996). Les déhydrines ont été localisé dans le noyau et dans le cytoplasme (Ashgar *et al.*, 1994 ; DanyluK *et al.*, 1998).

Le rôle biochimique fondamental joué par ces protéines semble être mal défini mais les hypothèses avancées jusque là sont :

- Inhibition de coagulation des macromolécules au niveau du cytoplasme, préservant de la sorte l'intégrité structurale (Close, 1996) ;
- Piégeage d'ions (Labhilili *et al.*, 1995) ;
- Protection des membranes plasmiques et nucléiques ainsi que toutes les structures Protéiques (Labhilili *et al.*, 1995) ;
- Renaturation de certaines protéines (Labhilili *et al.*, 1995) ;
- Inhibition de la dénaturation et la coagulation des cristaux (Close *et al.*, 1993) ;
- Action en synergie avec les protéines membranaires pour amplifier l'exclusion de solutés (Close *et al.*, 1993) ;
- Contrôle des divisions mitotique pour la stabilisation de la membrane nucléaire (Close *et al.*, 1993).

### **1.3. Marqueurs moléculaires comme outil d'aide aux programmes de sélection**

#### **1.3.1. Introduction aux différents types de marqueurs moléculaires**

Les marqueurs moléculaires sont très utiles pour l'identification individuelle, variétale, l'établissement de relations phylogénétiques et la sélection assistée par marqueurs. Ils permettent l'élaboration de cartes génétiques où chaque chromosome est représenté sous forme d'un ensemble de marqueurs moléculaires dont l'ordre et l'espacement sont déterminés en comparant les individus de la descendance d'un croisement (Moulet *et al.*, 2008).

Il existe plusieurs types de marqueurs, que l'on peut classer en fonction du polymorphisme qu'ils détectent. Certaines techniques ont l'avantage de révéler de nombreux fragments simultanément, ce sont des techniques de révélation « en masse » de polymorphisme, outre les marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) et RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism, Bodstein *et al.*, 1980). Les plus utilisés sont les marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, Williams *et al.*, 1990). Il existe aussi des stratégies permettant de détecter du polymorphisme de façon individuelle par

l'utilisation de banques de données et nécessitent de connaître la séquence des fragments amplifiés, puisqu'elles permettent de rechercher du polymorphisme de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Les marqueurs INsertions/DELétions (INDELs) ont été également employés pour la détection de polymorphisme, basé sur une insertion ou la suppression de paires de bases qui conduit à modifier la longueur de la séquence analysée.

Ces marqueurs ont souvent été comparés pour leur commodité, reproductibilité, vitesse de dosage, la rentabilité et facilité de l'utilisation, de l'automatisation et les approches de haut débit (Tableau 2).

**Tableau 2.** Comparaison des marqueurs moléculaires et leur usage. Modifié par Rafalski et Tingey (1993), Kalendar et *al.* (1999) et Ridout et Donini (1999).

	RFLP	RADP	DAF	SSRs	AFLP	SNPs
<b>Principe</b>	Endonucléase et de restriction, hybridation Southern blot	Amplification de l'ADN avec des amorces aléatoires	Amplification de l'ADN avec des amorces aléatoires	L'amplification de séquences à simples répétitions en utilisant des amorces spécifiques	Ligature endonucléase de restriction des adaptateurs et amorces sélectives	Analyse de séquences
<b>Type de polymorphisme détecté</b>	Changements d'une seule base, Insertions Déléction	Changements d'une seule base, Insertions Déléction	Changements d'une seule base, Insertions Déléction	Changements du nombre de répétitions et sites	Changements d'une seule base, Insertions Déléction	Changements d'une seule base
<b>Niveau de polymorphisme</b>	élevé	moyen	élevé	Très élevé	Très élevé	Elevé
<b>Hérédité</b>	Codominance	Dominance	Dominance	Codominance	Dominance	Dominance
<b>Nombre de loci détectés</b>	1 à 2	5 à 10	20 à 30 ou plus	1	100 à 150	1 à 10.000
<b>Quantité d'ADN requise</b>	2-15 µg	10-50 ng	10-50 ng	50 ng	0.5-1.0 µg	20 ng
<b>Besoin de connaître la séquence</b>	non	non	non	oui	non	oui
<b>coût</b>	élevé	bas	moyen	Elevé	élevé	Elevé
<b>Difficultés techniques</b>	élevées	facile	moyenne	facile	Difficile au début	facile
<b>Utilisation</b>						
<b>1- empreinte variétale et diversité génétique</b>	++	+	++	+++	+++	+++
<b>2- marquage qualitatif de gènes</b>	++	++	-	+	+++	+
<b>3- cartographie de QTL</b>	++	-/+	-	+	++	+
<b>4- MAS</b>	++	-	-	++	+++	++
<b>5- cartographie comparative</b>	++	+	-	++	++	++



Le choix du meilleur système de marquage dépend du fait qu'il sera utilisé dans l'étude des populations, la cartographie génétique ou l'empreinte génétique. Le niveau de ploïdie et le système reproducteur de l'organisme étudié sont également importants. Andersen et Lübberstedt (2003) ont classé les marqueurs moléculaires non sur la base des propriétés techniques, mais sur le niveau de la caractérisation fonctionnelle du polymorphisme contrôlé; nous pouvons donc distinguer:

- Les marqueurs d'ADN aléatoires (random DNA markers, RDMs): des milliers pour chaque espèce peuvent être générés de ces marqueurs phénotypiquement neutres (par exemple, RAPD, AFLP, SSR...), utile pour l'analyse de linkage ou parce qu'ils représentent bien les génomes pour l'étude de la biodiversité.

- Marqueurs développés sur des gènes (gène targeted markers, GTMs) ils sont issus de polymorphismes dans les gènes, non corrélés cependant à des caractères phénotypiques.

- Les marqueurs fonctionnels (functional markers, FMs), les différentes études de génomique fonctionnelle sur de nombreuses espèces végétales d'intérêt, permettent, aujourd'hui, d'engendrer des marqueurs dérivés de polymorphismes dans les gènes séquencés et caractérisés fonctionnellement, des polymorphismes sont directement impliqués dans la variation des caractères phénotypiques.

Les SNP constituent la majorité du polymorphisme du génome. Grâce à leur grand nombre et leur répartition tout au long du génome, les SNP sont actuellement un marqueur moléculaire de choix (Hespeels, nd): ils constituent une alternative crédible au séquençage systématique. Les SNP s'inscrivent d'une part en génomique structurale par leur utilisation, entre autres dans la création de cartes génétiques. D'autre part ils peuvent jouer un rôle important en génomique fonctionnelle.

### **1.3.2. Application dans la sélection assistée par marqueurs (SAM)**

Les techniques de marquage moléculaire permettent de rendre plus précises et plus rapides les opérations classiques de sélection. Elles interviennent à chaque étape du cycle de sélection. Les outils mis en place sont les marqueurs moléculaires qui permettent l'analyse des individus, la construction de cartes génétiques pour localiser les gènes sur les chromosomes, et la sélection assistée par marqueurs (SAM) pour suivre les gènes au cours des générations.

La SAM est basée sur la possibilité de détecter la présence d'un gène ou d'une caractéristique agronomique intéressante par la recherche du marqueur qui lui est étroitement lié.

La SAM est non destructive, elle nécessite peu de tissu végétal et elle n'est pas influencée par des facteurs environnementaux. Ce type de sélection est particulièrement



avantageux lorsque le caractère étudié est difficile, coûteux à évaluer ou influencé par les conditions climatiques ou pédologiques (résistance au stress hydrique, tolérance à l'aluminium, résistance à la germination sur pied, etc.). Le sélectionneur doit fréquemment anticiper les problèmes, par exemple en améliorant la résistance contre des maladies dans des régions où le pathogène n'existe pas encore. Dans un tel cas, comme la propagation artificielle du pathogène est proscrite, la SAM est incontournable.

L'efficacité de la sélection assistée par marqueurs peut être plus efficace que la sélection traditionnelle dans les circonstances suivantes (Lee, 1995) :

- le caractère ciblé est d'une faible héritabilité,
- une liaison étroite entre le caractère et le marqueur (<5cM),
- dans les générations antérieures de sélection préalable à la fixation des allèles à ou près de loci marqueurs,
- les grandes tailles d'échantillon pour la cartographie et la sélection des *QTL* sont utilisées pour améliorer les estimations des allèles aux *QTL*.

Les marqueurs très étroitement liés aux gènes cibles ou même s'ils sont situés dans le gène peuvent améliorer grandement l'utilisation de la sélection assistée par marqueurs dans les générations avancées, où le déséquilibre de liaison devient plus petit. Les emplacements exacts chromosomiques de *QTL*, ainsi que l'ampleur des effets de *QTL*, devraient être vérifiées avant leur utilisation dans un programme appliqué de reproduction. Dans l'orge, l'effet de quatre *QTL* de rendement a été vérifié en utilisant un ensemble de lignées *BC2DH* différents à partir des lignes utilisées pour la cartographie (Romagosa et al., 1999).

### 1.3.3. Application des marqueurs dans l'étude de la diversité génétique

La connaissance de la diversité génétique et les relations génétiques entre les génotypes est une considération importante pour la rationalisation et l'utilisation efficaces des ressources de matériel génétique. Les informations sur la diversité génétique sont également nécessaires pour la conception optimale des programmes de sélections, en influençant le choix des génotypes à croiser pour la création de nouvelles populations.

L'approche moléculaire a été utilisée pour rassembler les cultivars d'orge dans des groupes morphologiquement distincts ou encore en sous-groupes qui ont un bagage génétique similaire. RFLP (Melchinger et al., 1994, Graner et al., 1994, Casas et al., 1998), RAPD (Dweikat et al., 1993; Tinker et al., 1993), AFLP (Schut et al., 1997; Ellis et al., 1997) et SSR (Dávila et al., 1999; Russell et al., 1997) ont été utilisés pour évaluer les variations dans les collections locales et mondiales de matériel génétique de l'orge.

Les microsatellites ont été considérés comme les marqueurs de choix pour l'évaluation de la diversité génétique parmi les cultivars et les espèces sauvages apparentées (Karp et al., 1998; Doldi et al., 1997). L'utilité de ces marqueurs pour l'estimation de la parenté génétique a été démontrée dans de nombreuses cultures dont le maïs (Taramino et Tingey, 1996), l'orge (Russell et al., 1997), le blé (Plaschke et al., 1995; Donini et al., 1998; Lelley et al., 2000; Stachel et al., 2000; Pestsova et al., 2000; Hammer et al., 2000; Prasad et al., 2000; Stachel et al., 2000; Ben Amer et al., 2001; Fahima et al., 2002; Huang et al., 2002), le riz (Wu et Tanksley, 1993; Ahn et al., 2000), le sorgho (Brown et al., 1996), le tournesol (Paniego et al., 1999) et la pomme de terre (Provan et al., 1999).

#### 1.3.4. Recherche de QTL, gènes candidats

Les marqueurs moléculaires n'ont d'intérêt que s'ils sont liés à des gènes ou *QTL* impliqués dans la variation des caractères sélectionnés. Les *QTL* sont des locus contrôlant la variation de caractères quantitatifs.

Les marqueurs dominants n'apportent pas une information complète sur l'effet du *QTL* en raison de la confusion des individus hétérozygotes avec certains individus homozygotes. Les effets de dominance du *QTL* (écart à l'additivité) ne peuvent pas être abordés (Santoni et al., 2000). L'analyse fonctionnelle du génome, menée essentiellement chez les espèces modèles, donne accès à des séquences codantes de fonction identifiée et intervenant dans divers caractères. Ces séquences constituent des « gènes candidats » qui peuvent rendre compte de l'effet de certains *QTL* et remplacer, après validation, le marqueur lié au *QTL*. Les marqueurs de fonctions connues (RFLP avec cDNA, STS) ont l'avantage de permettre de manipuler ces gènes candidats. La technique semi-aléatoire S-SAP présente le grand intérêt de permettre de révéler de nombreux marqueurs issus de séquences codantes qui peuvent devenir éventuellement des gènes candidats s'ils sont supposés intervenir dans le caractère étudié et s'ils sont co-localisés avec un *QTL*.

Les approches « gènes candidats » peuvent permettre d'identifier des gènes impliqués dans la détermination de caractères d'intérêts. Cette approche peut être validée par la colocalisation du gène candidat et d'un *QTL* pour le caractère d'intérêt sur une carte génétique (Jannink et al., 2002). Trois étapes importantes sont à suivre, à savoir:

- Le choix du gène candidat : ils peuvent être fonctionnels ou positionnels (Pflieger et al., 2001). Ce choix peut être appuyé par la cartographie comparée des autres espèces (Gale et Davos, 1998)

- Analyse des gènes candidats : par la recherche d'un polymorphisme qui permet de localiser les gènes mêmes sur une carte génétique et à étudier les linkages avec le caractère d'intérêt.

- Validation du gène candidat : les corrélations statistiques et les co ségrégations sur les cartes génétiques ne montrent pas la relation entre le polymorphisme dans le gène candidat et la variation du caractère.

L'orge a été parmi les espèces cultivées pour laquelle des *QTL* ont été cartographiés (Heun, 1992, Hayes et *al.*, 1993). La cartographie de *QTL* a fourni un nouvel outil important pour l'étude des caractères quantitatifs de l'orge, les traits pour lesquels l'analyse génétique n'avait été limitée qu'à l'estimation des paramètres de population tel que l'héritabilité alliant la capacité et le nombre effectif de gènes (Hockett et Nilan, 1985). Les positions, les effets et les interactions de *QTL* sont maintenant estimés pour plusieurs caractères de l'orge. De nombreuses et certaines de ces *QTL* ont été validées expérimentalement et / ou fait l'objet de sélection assistée par marqueurs. Des informations sur plus de 750 *QTL* sur l'orge ont été rapportées dans la littérature et résumés par Hayes et *al.* (2000).

### 1.3.3. Le stress hydrique : approche intégrée de la réponse moléculaire, génétique et physiologique de l'orge.

L'acclimatation au stress est habituellement basée sur une réponse cellulaire qui implique un grand nombre de processus physiologiques et moléculaires sous le contrôle de divers mécanismes de régulation qui interagissent les uns avec les autres. Chaque réponse métabolique est déclenchée par un récepteur spécifique qui signale l'évolution des cellules dans des conditions environnementales. La perception d'une situation de stress déclenche un réseau complexe de signaux métaboliques qui sont transmis vers le noyau, donnant lieu à une réponse cellulaire appropriée. La complexité d'événements moléculaires qui mènent au développement de la tolérance au stress est résumée en (figure 2):



**Figure 2.** Séquence de réaction au stress

- La perception du stress de la cellule par des récepteurs membranaires qui détectent les changements de l'environnement externe (Gombos et *al.*, 1994 ; Wang et *al.*, 2001);

- L'information de transduction dans la cellule vers le noyau à travers une cascade d'événements : accumulation transitoire d'ions calcium, l'activation de la protéine kinase, l'accumulation d'acide abscissique, les changements dans la membrane plasmique à la fois en structure et en composition (Hare et Cress, 1997; Geigenberger et *al.*, 1997 ;

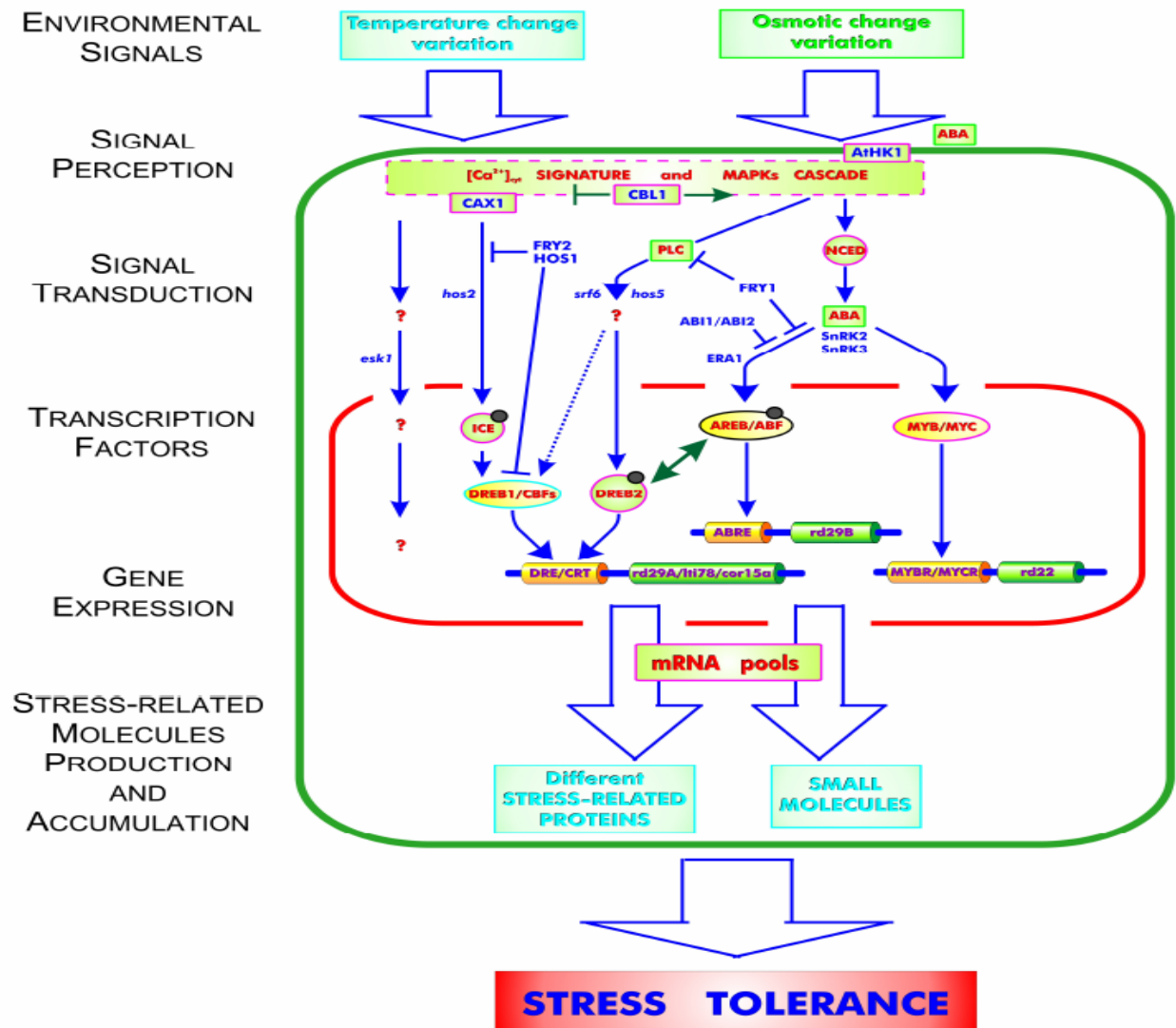
- L'activation dans le noyau des facteurs de transcription capable de conduire de l'expression des gènes en réponse au stress, les changements dans les mécanismes de régulation de la photosynthèse et la protection de la photoinhibition de chloroplaste;

- L'expression de gènes "liés au stress" codant pour des protéines qui permettent de faire face à la situation de stress par la réparation ou le maintien de l'homéostasie cellulaire (Greenway et Munns, 1980 ; Thiery et *al.*, 2004 ; Yamaguchi-Shinozaki et Shinozaki, 2006).

L'identification des gènes impliqués dans les réactions de la plante en conditions de sécheresse a été largement explorée (Skriver et Mundy, 1990; Bray, 1993; Ingram et Bartels, 1996; Cushman et Bohnert, 2000). À ce jour, des centaines de gènes peuvent être facilement répertoriés comme gènes candidats pour la tolérance à la sécheresse.

L'expression des gènes en réponse à un déficit hydrique fait intervenir une cascade de transduction du signal extrêmement complexe (Figure 3). Peu de données sont disponibles concernant la perception du signal, bien que la variation de la turgescence ait été proposée comme un signal physique possible. Au niveau moléculaire, Urao et *al.* (1999) ont identifié chez *A.thaliana*, une protéine membranaire (AtHK1) qui intervient dans la perception du stress hydrique. Elle est homologue du système de capteur *SLNI* osmorégulation chez la levure (Li et *al.*, 2002). Cet osmosenseur est essentiellement présent au niveau des membranes racinaires en condition normale de croissance, et y est fortement accumulé au cours d'un stress hydrique. Il semblerait que cet osmosenseur soit directement relié à une cascade de transduction du signal, faisant intervenir des MAP-kinases.

L'augmentation de la concentration du  $\text{Ca}^{2+}$  cytosolique est un événement précoce de la réponse de la plante au stress environnementaux. Il a été noté que le froid est ressenti par l'intermédiaire de changements dans la fluidité des membranes et la réorganisation du cytosquelette qui affectent les canaux calciques (Knight et Knight, 2001). Le  $\text{Ca}^{2+}$  agit comme un second messager (White et Broadley, 2003). On suppose qu'il est médiateur d'une grande variété de signaux biotiques et abiotiques (Knight et Knight, 2001).



**Figure 3.** Représentation schématique des mécanismes contrôlant la réponse des plantes aux stress abiotiques chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* (Shinozaki et al., 2003). Les Petits cercles indiquent la modification des facteurs de transcription en réponse à des signaux de stress pour leur activation, telles que la phosphorylation. Les facteurs de transcription qui sont impliqués dans des réponses rapides et d'urgence à la sécheresse et au froid - comme ICE, ou DREB2/NCED - figurent en rond, alors que les facteurs de transcription qui sont impliqués dans des processus lents et plus souples dans les réponses au stress - comme AREB / ABFs, MYB / myCS et DREB1/CBFs - sont marquées en ellipses. Deux composants histidine kinase 1 (ATHK1) est sensé fonctionner comme un osmoseur, et la phospholipase C (PLC) est sensé fonctionner en amont du système DREB2. CBL1 est un capteur de calcium qui fonctionne comme un régulateur positif des réponses au sel et à la sécheresse et comme un régulateur négatif de la réponse au froid (Cheong et al., 2003). CAX1 est un antiport vacuolaire de  $Ca^{2+}/H^{+}$  qui est impliqué dans la régulation aux niveaux intracellulaire de  $Ca^{2+}$  au cours de l'acclimatation au froid (Catala et al., 2003). Hds2, hos5, srf6 et esk1 représentent les différentes classes de mutants dont la réponse au stress est modifiée. Les protéines FRY2 (Xiong et al., 2002) et HOS1 (Lee et al., 2001) semblent inhiber l'expression de CBFs/DREB1. FRY1 fonctionne comme un régulateur négatif de la sécheresse, le froid et les réponses à l'ABA (Xiong et al., 2001). SnRK2 et SnRK3-like protein kinases sont impliquées dans la signalisation de l'ABA (Yoshida et al., 2002). ABI1/ABI2 fonctionne comme un régulateur négatif de signalisation de l'ABA. Une flèche en pointillés indique que CBF4/DREB1D sont impliqués dans l'expression des gènes en réponse à la sécheresse (Haarke et al., 2002). La flèche verte à deux têtes suggère diaphonie entre DREB2 et AREB

Pour répondre de manière appropriée à une perturbation spécifique à l'ion  $\text{Ca}^{2+}$  cytosolique, une cellule doit activer une combinaison unique de  $\text{Ca}^{2+}$ -binding proteins. Ces Capteurs  $\text{Ca}^{2+}$  CYT comprennent les calmodulines (CAMS), les protéines CAM-like, la protéine calcineurine B-like (CBL) et la  $\text{Ca}^{2+}$ -protéine kinase dépendante (CDPKs). Beaucoup de ces protéines se lient au  $\text{Ca}^{2+}$  en utilisant une structure bHLH encore appelée la «main EF», qui se lie intimement à une seule molécule de  $\text{Ca}^{2+}$  (White et Broadley, 2003).

Un rôle primordial dans la transduction du signal est joué par la protéine kinase activée. Il a été démontré que les cascades de protéines MAPK (Mitogen Activated phosphate kinase) sont activées par plusieurs stress abiotiques (Ligterink et Hirth, 2001). Chez *Arabidopsis* de nombreux éléments MAPK kinase ont été identifiés et est impliquée dans la réponse à des conditions de stress environnemental.

Une partie du mécanisme conduisant à l'expression des gènes liés au stress ont été clarifiés. Deux voies différentes ont été décrites: la voie ABA-dépendants et la voie ABA-indépendants (Mastrangelo et al., 2004).

L'accumulation d'ABA dans la plante induite par une déshydratation conduit à la fois à une augmentation de sa biosynthèse et à des modifications dans son catabolisme, régulé par le stress de façon plus subtile qu'un simple ralentissement de la dégradation. L'étape la plus importante pour augmenter la biosynthèse de l'ABA semble être le clivage des caroténoïdes. Une petite famille de gènes *NCED* codant pour 9-cis-dioxygénase epoxy-caroténoïde, est impliquée dans la biosynthèse de l'ABA et a été identifiés chez *Arabidopsis*, lors d'une déshydratation. Il est plus fortement induit que les autres *NCED* en réponse à ce stress (Tan et al., 2003). En effet, sa surexpression augmente nettement la biosynthèse de l'ABA et la tolérance à la déshydratation tandis que sa sous-expression a l'effet inverse (Iuchi et al., 2001).

Un grand nombre de gènes induits par l'ABA ont dans leur promoteur une séquence proche de celles des G-box (des éléments de régulation en *cis* impliqués en particulier dans l'induction par les conditions environnementales) appelée ABRE (ABA responsive element). Cette séquence joue un rôle majeur dans l'induction des gènes en réponse à l'ABA (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006).

Les facteurs de transcription sont des séquences cible spécifiques placées dans les promoteurs ou dans l'activateur (enhancer) et simultanément se lient à d'autres composantes de l'appareil de transcription en les activant, du point de vue structurelle (Lewin, 1999).

**La famille des protéines à doigt de zinc (zinc finger)**, certains facteurs de transcriptions comme le facteur général *TFAIII* contiennent une série de doigts de zinc du type *Cys2/His2*, *Cys4*, *Zn2Cys6* où les aminoacides indiqués comprennent l'ion zinc qui permet la formation de structures repliées en forme de doigt qui s'insèrent dans le sillon majeur de l'ADN. Ce type des doigts de zinc est présent même dans la famille de facteurs de transcription *WRKY*, propre aux plantes (Eulgem et al., 2000), importants dans la réponse au stress biotique et abiotique (Singh et al., 2002)

**La famille Hélice-Tour-Hélice**, constitué d'environ 60 aminoacides, elle a été caractérisée pour la première fois comme étant impliqués dans la régulation de développement de la drosophile (Aravind et al., 1999).

**La famille de la boîte à MAD** (MADS box genes) formée de 57 aminoacides. Son nom vient des quatre premiers facteurs dans lesquels on l'a identifié: *MCM1* (protéine), *Agamous*, *Deficiens* et *SRF* (serum response factor). On compte au dessus de cent facteurs contenant des boîtes MADS, particulièrement parmi les facteurs de transcription qui contrôlent la morphogenèse des plantes (Meyerowitz, 1997; Ng et Yanofsky, 2001).

La famille Hélice-Boucle-Hélice ou Helix-Loop-Helix, (HLH), elle contient 40 à 50 aminoacide comportant deux hélices alpha séparées par une région de longueur différente en forme de boucle. La plupart des protéines HLH contiennent une région basique fondamentale pour l'interaction avec les éléments spécifiques du promoteur sur l'ADN. À ce groupe il appartient *MYB*, hautement représenté dans le domaine végétal (Abe et al., 2005).

La famille des facteurs à glissière à leucine ou leucine-zipper (bZIP), elle est constituée d'un domaine riche en leucine (Lamber et al., 2008). Deux hélices de ce type peuvent interagir entre elles de façon à permettre la dimérisation de protéines, particulièrement celle de facteurs de transcription comme les membres de la famille *API*.

**La famille des facteurs *AP2/EREBP***, elle est constituée d'une région de 68 aminoacides. Elle représente une autre famille de facteurs de transcription spécifique aux plantes, activées dans les voies de réponse à l'éthylène ainsi qu'en cas de stress biotique et abiotique (à cette famille appartiennent par exemple les facteurs de transcription CBF).

Des facteurs de transcription bZIP sont capables d'activer la transcription du gène *RD29B* (responsive to drought), majoritairement induit par l'ABA et dont le promoteur contient deux ABRE responsables de sa réponse à la déshydratation. Ces bZIP sont nommés AREB pour ABA



Responsive Element Binding proteins ou ABF pour ABRE Binding Factors (Uno et *al.*, 2000; Choi et *al.*, 2000). Ils fonctionnent d'une manière dépendante de l'ABA puisque leur capacité d'activation est réduite chez les mutants *aba2* et *abi1* et augmentée chez le mutant hypersensible à l'ABA *eral* (Uno et *al.*, 2000). AREB1/ABF2 et AREB2/ABF4 sont induits par l'ABA, la déshydratation et le stress salin, tout comme ABF3, un autre bZIP se liant aux ABRE (Choi et *al.*, 2000). L'implication d'AREB1/ABF2, AREB2/ABF4 et ABF3 dans la signalisation de l'ABA et la réponse à la déshydratation a été confirmée par les phénotypes de plantes qui les surexprimaient : leur sensibilité à l'ABA était altérée. Elles étaient plus résistantes à la déshydratation et montraient une surexpression de certains gènes de réponse aux stress hydriques (Kang et *al.*, 2002 ; Kim et *al.*, 2004).

L'expression de certains gènes induits par l'ABA n'est pas régulée par des ABRE. C'est le cas en particulier de *RD22* dont l'induction par l'ABA est due à la liaison sur deux sites de son promoteur d'un facteur de transcription *MYC* (*rd22BP1* pour *rd22* binding protein) et d'un *MYB* (*AtMYB2*). Ils participent à la régulation d'autres gènes de réponse à l'ABA et leur surexpression provoque une hypersensibilité à l'ABA. Le rôle de ces deux facteurs de transcription est probablement lié à la réponse à long terme à la déshydratation car ils sont synthétisés tardivement à la suite de l'accumulation d'ABA (Abe et *al.*, 1997, 2003).

Une variété de gènes liés au stress sont induites par la déshydratation et les basses températures, mais ne sont pas soumises au contrôle de l'ABA. C'est la voie d'ABA-indépendante. L'analyse de la région du promoteur de ces gènes a conduit à l'identification d'un nouvel ADN *cis* élément agissant nommée *DRE* (déshydratation-responsive element), caractérisés par la séquence consensus TACCGACAT (Shinozaki et Yamaguchi-Shinozaki, 1994). La séquence *cis* acting de base de la *DRE* (CCGAC) est également connu comme *CRT* (C-repeat) (Baker et *al.*, 1994).

Les facteurs de transcription qui lient l'élément *DRE/CRT* suite à exposition de la plante à un stress dû au froid et à la sécheresse ont été identifiés en premiers chez *Arabidopsis* et sont appelés respectivement *c-repeat-BINDING FACTOR (CBF) /DRE-BINDING PROTEIN1 (DREB1)* et *DREB2* (Stockinger et *al.*, 1997 ; Liu et *al.*, 1998). Ces protéines appartiennent à la famille ERF/APETALA2 (AP2) qui sont produit rapidement et de façon transitoire à la perception d'un signal de stress, induisant l'expression de plusieurs gènes impliqués directement dans la tolérance au stress.



En amont de DREB1/CBFs, l'inducteur du *CBF EXPRESSION1 (ICE1)* gène a été identifié sur la base de clonage de l'*ICE1* sur des mutations d'*Arabidopsis* (Gilmour et al., 1998). *ICE1* code pour une MYC-type bHLH facteur de transcription qui régule l'expression de *DREB1A/CBF3* mais pas d'autres gènes *DREB1/CBF* et sa surexpression conduit à la tolérance au gel. L'analyse moléculaire de la *DREB1C/CBF2* promoteur a identifié deux éléments agissant en cis conçus *ICEr1* et *ICEr2* (induction de l'expression CBF région 1 et 2) qui sont impliqués dans l'expression génique froid inductible (Zarka et al., 2003). La protéine de liaison d'ADN a été cloné et elle s'est avéré être un facteur de transcription MYC-type bHLH qui est différent de *ICE1* (Shinozaki et al., 2003).

Les mutants d'*Arabidopsis* ont permis le clonage des gènes qui modifient l'induction de gènes sensibles au stress par la sécheresse, la salinité élevée, le froid et l'ABA (Ishitani et al., 1997), en utilisant le gène rapporteur *LUC* (luciférase de luciole), sous le contrôle du promoteur du gène *RD29A* (induit à la fois par l'ABA, la déshydratation et le froid). En plus de *ICE1* cité plus haut, nous avons:

- *HOS1*, code pour une protéine contenant RING- RING-finger qui contrôle l'expression des gènes *CBF* et *ICE1* au moyen de dégradation de leurs produits géniques, Il est situé dans le cytoplasme mais se déplace vers le noyau après traitement par le froid, (Lee et al., 2001) *HOS1* régule négativement la transcription de *CBF/DREB1*;

- *LOS2*, code pour une enolase qui agit comme répresseur du gène *RD29* (Lee et al., 2002);

- *FRY1*, codifiant pour une inositol polyphosphate phosphatase *FRY1* fonctionne comme un régulateur négatif de la sécheresse, le froid et les réponses ABA (Xiong et al., 2001);

- *FRY2/CPL1*, code pour un répresseur transcriptionnel contenant une région partiellement homologue au domaine catalytique de l'ARN qui pourrait être impliquée dans le processus de maturation de l'ARNm (Xiong et al., 2002).

## 1.4. Description génétique de l'induction florale et l'adaptation à la variation saisonnière

### 1.4.1. Floraison

La floraison est une phase cruciale dans le cycle des plantes puisqu'elle permet la multiplication. Les saisons et les conditions environnementales en perpétuel changement ont une grande influence sur ce stade.

Selon Simpson et *al.* (1999), la floraison se caractérise par plusieurs phases. La phase végétative étant l'étape où le méristème apical commence à former le bourgeon terminal. La phase appelée transition florale correspond au passage de la phase végétative à la phase reproductive qui est marquée par un gonflement de l'apex. Le méristème après avoir donné une tige et des feuilles se transforme en méristème floral pour donner la fleur. La phase de transition est la plus critique de ce cycle car elle permet à la plante d'acquérir les capacités d'induction de la floraison.

La floraison détermine largement l'adaptation de la plante aux différentes régions éco géographiques. La floraison, par sa précocité, aide les cultures à éviter les stress dues aux conditions du milieu. Chez *Arabidopsis thaliana*, un grand nombre de gènes ont été isolés et qui concernent quatre signaux de transduction de la floraison et ils incluent le photopériodisme, la vernalisation, autonomie et la voie des gibbérellines GA (Laurie et *al.*, 1997 ; Li et Gill, 2004).

#### **1.4.2. Gènes de floraison chez la plante modèle *A. thaliana***

Au cours des quinze dernières années, de nombreux gènes impliqués dans le développement floral d'*A. thaliana* ont été identifiés (Tableau 3). Ces gènes peuvent être classés en quatre catégories :

- Les gènes impliqués dans la perception et la diffusion des facteurs inducteurs de floraison
- Les gènes intégrateurs de ces facteurs inducteurs
- Les gènes d'identité du méristème
- Les gènes impliqués dans la morphogenèse florale

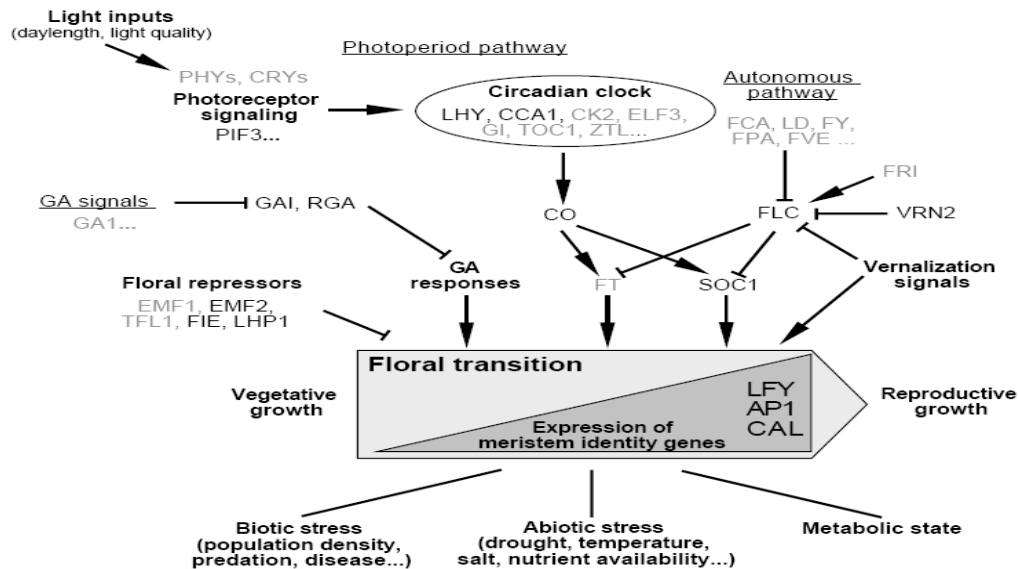
##### **1.4.2.1. Gènes impliqués dans la perception et la diffusion des facteurs inducteurs de la floraison**

La floraison chez *A. thaliana* peut être induite par des facteurs endogènes (gibbérellines) et par des facteurs de l'environnement (photopériode, température, nutriment). Chacun de ces facteurs implique l'activation ou la répression d'un grand nombre de gènes. Par exemple, la perception de la photopériode et de la qualité de la lumière, activent via des phytochromes les gènes de l'horloge interne (Figure 4). Ces gènes activent alors le gène *CONSTANS* (*CO*).

Tableau 3. Les gènes de floraison clonés à partir d'*Arabidopsis thaliana*.

Gène	Symbole	type fonctionnel du produit du gène	Voie/rôle/référence
ANTHOCYANINLESS2	ANL2	Facteur de transcription (famille HB)	Répresseur Floral (Kubo et al., 1999; Weigel et al., 2000)
CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1	CCA1	Facteur de transcription (Myb-related group)	Rythme circadien, répresseur Floral (Wang et al., 1997; Wang and Tobin, 1998)
CKB3	CKB3	sous-unité régulatrice de Ser/Thr protéine kinase	Rythme circadien (Sugano et al., 1998; Sugano et al., 1999)
CONSTANS	CO	Facteur de transcription (Zinc coordinating type)	Promoteur Floral, voie du photopériodisme (Putterill et al., 1995)
CRYPTOCHROME 1 / ELONGATED HYPOCOTYL 4	CRY1 / HY4	Photorécepteur	Perception de la lumière (Ahmad and Cashmore, 1993)
CRYPTOCHROME 2 / FHA	CRY2 / FHA	Photorécepteur	Perception de la lumière, voie de photopériode (Guo et al., 1998)
EARLY FLOWERING 3	ELF3	Nouvel protéine nucléaire	Rythme circadien (Covington et al., 2001; Hicks et al., 2001; Liu et al., 2001b)
EMBRYONIC FLOWER 1	EMF1	nouveau type de facteur de transcription putative	répresseur Floral, multiples voies (Aubert et al., 2001)
EMBRYONIC FLOWER 2	EMF2	Chromatine protéique liée	répresseur Floral, multiples voies (Yoshida et al., 2001)
FCA	FCA	RNA protéine de liaison	promoteur Floral, voie autonome (Macknight et al., 1997)
FERTILIZATION INDEPENDENT ENDOSPERM	FIE	Chromatine protéique liée	Rythme circadien (Nelson et al., 2000)
FLAVIN BINDING, KELCH REPEAT, F BOX	FKF1	protéine PAS	promoteur Floral (Kania et al., 1997)
FLORAL PROMOTING FACTOR 1	FPF1	nouvelle classe de protéines	répresseur Floral, multiples voies (Michaels and Amasino, 1999; Sheldon et al., 1999)
FLOWERING LOCUS C	FLC	Facteur de transcription (MADS family)	répresseur Floral, multiples voies (Kardalisky et al., 1999; Kobayashi et al., 1999)
FLOWERING LOCUS T	FT	Phosphatidylethanolamine protéine de liaison	promoteur, voie autonome (Schomburg et al., 2001)
FPA	FPA	RNA protéine Florale de liaison	répresseur Floral (Johanson et al., 2000)
FRIGIDA	FRI	nouvelle classe de protéines	répresseur Floral (Soppe et al., 2000)
FWA	FWA	Facteur de transcription (HB family)	régulation de GA (Sun and Kamiya, 1994)
GA REQUIRING 1	GAI	Enzyme	régulation de GA (Peng et al., 1997)
GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE	GAI	Facteur de transcription (GRAS family)	promoteur Floral, photoperiod pathway (Fowler et al., 1999; Park et al., 1999)
GIGANTEA	GI	nouvelle protéine nucléaire localisée	relative au rythme circadien, floral repressor (Schaffer et al., 1998)
LATE ELONGATED HYPOCOTYL	LHY	Facteur de transcription (Myb-related group)	répresseur Floral (Gaudin et al., 2001)
LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN 1	LHP1	Chromatine protéique liée	Rythme circadien (Schultz et al., 2001)
LOV KELCH PROTEIN 2	LKP2	protéine PAS	promoteur Floral, voie autonome (Lee et al., 1994)
LUMINIDEPENDENS	LD	nouvelle protéine	répresseur Floral, multiple pathways (Ratcliffe et al., 2001; Scortecci et al., 2001)
MADS AFFECTING FLOWERING 1/ FLOWERING LOCUS M	MAF1 / FLM	Facteur de transcription (MADS family)	perception de la lumière (Sharrock and Quail, 1989)
PHYTOCHROME A / ELONGATED HYPOCOTYL 8	PHYA / HY8	Photorécepteur	perception de la lumière (Sharrock and Quail, 1989)
PHYTOCHROME B / ELONGATED HYPOCOTYL 3	PHYB / HY3	Photorécepteur	Photorécepteur signal transduction (Ni et al., 1998)
PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 3	PIF3	Facteur de transcription (bHLH family)	régulation GA (Silverstone et al., 1998)
REPRESSOR OF GAI-3	RGA	Facteur de transcription (GRAS family)	Floral répresseur (Hartmann et al., 2000)
SHORT INTERNODES	SHI	Facteur de transcription (Zinc coordinating type)	promoteur Floral, multiple voies (Cardon et al., 1997)
SHORT VEGETATIVE PHASE	SVP	Facteur de transcription (MADS family)	promoteur Floral, multiple voies (Borner et al., 2000; Lee et al., 2000; Samach et al., 2000)
SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 3	SPL3	Facteur de transcription (SBP family)	répresseur Floral, voie de vernalisation (Gendall et al., 2001)
SUPPRESSOR OVEREXPRESSION CONSTANS 1/ AGAMOUS-LIKE 20	SOC1 / AGL20	Facteur de transcription (MADS family)	Rythme circadien (Somers et al., 2000)
TERMINAL FLOWER 1	TFL1	Phosphatidylethanolamine protéine de liaison	répresseur Floral, multiple voies (Bradley et al., 1997)
TIMING OF CAB EXPRESSION 1	TOC1	régulateur Putative transcriptionnel	Rythme circadien (Strayer et al., 2000)
VERNALIZATION 2	VRN2	Chromatine protéique liée	promoteur Floral, voie de vernalisation (Gendall et al., 2001)
ZEITLUPE	ZTL	protéine PAS	Rythme circadien (Somers et al., 2000)

La température (température ambiante + vernalisation) active deux autres voies qui convergent vers l'inhibition du *FLOWERING LOCUS C (FLC)*, gène répresseur de la floraison (Henderson et Dean, 2004; Bernier et Perilleux, 2005; Chuck et Hake, 2005).



**Figure 4.** Les différentes voies connues du contrôle de la transition florale d'*Arabidopsis thaliana* L. (Ratcliffe et Riechmann, 2002)

#### 1.4.2.2. Gènes intégrateurs

Les différentes voies d'induction de la floraison (lumière, température, hormones) sont intégrées au niveau de trois gènes « intégrateurs » : *FLOWERING LOCUS T (FT)*, *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO1 (SOC1)* et *LEAFY*. En effet, tous les signaux inducteurs ou répresseurs de la floraison convergent vers ces trois gènes (Figure 4) (Henderson et Dean, 2004; Bernier et Perilleux, 2005; Chuck et Hake, 2005).

#### 1.4.2.3. Gènes d'identité du méristème

L'identité du méristème (végétative ou florale) est contrôlée par deux groupes de gènes : Le premier groupe comprend le gène *TERMINAL FLOWER 1 (TFL1)* qui assure le maintien de l'activité végétative du méristème. Le deuxième groupe comprend les gènes d'identité du méristème floral *LEAFY*, *APETALA1 (AP1)* et *CAULIFLOWER (CAL)*.

Lors de l'induction florale, les trois gènes intégrateurs (*LEAFY*, *FT* et *SOCI*) vont activer les trois gènes d'identité du méristème floral (*LEAFY*, *API*, *CAL*). L'activation de ces gènes va réprimer l'expression de *TFL1* (maintien de l'état végétatif) d'une part, et d'autre part activer les gènes impliqués dans la morphogenèse florale (Alvarez, *et al.*, 1992; Liljegren, *et al.*, 1999; Ratcliffe, *et al.*, 1999; Bernier et Perilleux, 2005; Chuck et Hake, 2005).

#### 1.4.2.4. Gènes impliqués dans la morphogenèse des organes floraux

Les fleurs sont constituées par quatre types d'organes, répartis sur quatre verticilles : de l'extérieur vers l'intérieur, on trouve les sépales, les pétales, les étamines et les carpelles.

La formation de ces organes se fait grâce à l'activation de gènes homéotiques suivant le modèle ABC: Ce modèle prévoit l'activation de trois groupes de gènes homéotiques A, B et C (Coen et Meyerowitz, 1991). Le groupe A comprend les gènes *APETALA1* et *APETALA2*, le groupe B les gènes *APETALA3* et *PISTILLATA*, et le groupe C le gène *AGAMOUS*.

Une autre classe de gènes est nécessaire au fonctionnement de ce modèle : les gènes *SEPALLATA1*, 2 et 3. *SEP1* et 2 sont exprimés dans les quatre verticilles, *SEP3* dans les verticilles 2, 3 et 4 (Pelaz *et al.*, 2000; Jack, 2001).

#### 1.4.3. Voies de contrôle de la floraison

La capacité à promouvoir la floraison peut être acquise en réponse au stress causé par une longue exposition aux basses températures, les plantes induisent un processus nommé vernalisation qui consiste à induire une floraison précoce chez les plantes sensibles. Elle peut être régulée par la sensibilité de chaque plante aux longues ou courtes expositions de lumière, représentée par le photopériodisme. Ces mécanismes d'adaptation favorisent une floraison au moment opportun et assurent une bonne reproduction.

##### 1.4.3.1. Vernalisation

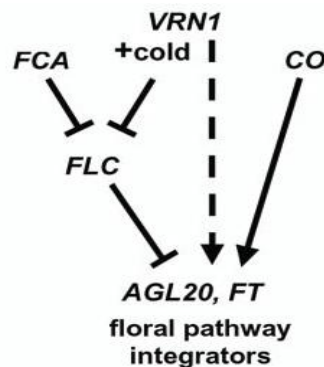
La vernalisation est connue pour être une période d'exposition à de basses températures afin de permettre à la plante de transiter vers la floraison (Ritchie, 1991). Les plantes présentant une réponse positive à la vernalisation ne fleurissent que si elles sont soumises à une période de basses températures typiquement 4 à 8°C. La floraison peut être délaissée pendant plusieurs mois (Laurie, 1997). La vernalisation commence après la germination et se termine quand les

températures basses ont suffisamment duré, généralement, avec l'initiation florale (Weir *et al.*, 1984). L'exposition de plantes, à réponse favorable à la vernalisation, aux températures basses leur permet de réduire leur phase végétative en diminuant le nombre final de feuilles (Wang *et al.*, 1995).

Dubrovsky *et al.* (1998) ont standardisé la nomenclature des locus de vernalisation avec le terme *Vrn*. L'orge présente trois gènes de vernalisation (*Sh1*, *Sh2*, *Sh3*) *Sh1* = *Vrn-H1* (chromosome 5H); *Sh2* = *Vrn-H2* (chromosome 4H); et *Sh3* = *Vrn-H3* (chromosome 1H).

Le traitement par le froid entraîne la répression du gène *FLC* qui code un inhibiteur de floraison (Michaels et Amasino, 1999; Sheldon *et al.*, 2000a). Cette expression réduite du locus C de floraison (*FLC*) est maintenue pendant la suite du développement (après traitement par le froid) par activité du gène de vernalisation (*VRN*). *Vrn1* code pour une protéine qui se lie à l'ADN, une DNA-binding protein (Levy *et al.*, 2002) tandis que *VRN2* code un homologue de l'un des gènes du groupe polycombe qui maintient le « silencing » de certains gènes durant le développement des animaux, une protéine homologue à celles en doigt-de-zinc (Gendall *et al.*, 2001).

Levy *et al.* (2002), illustrent les rôles multiples de la vernalisation dans le contrôle de la transition floral (Figure 5). Dans la réponse à la vernalisation, *VRN1* associé à des facteurs induits par le froid maintient la répression de *FLC*. *VRN1* agit aussi sur la voie qui n'affecte pas le taux d'ARN de *FLC* mais régule positivement *AGL20* (AGAMOUS-LIKE 20, facteur de transcription de la floraison) et *FT*. Ceci est considéré, sur la figure 5, comme une voie indépendante du photopériodisme.



**Figure 5.** Modèle illustrant les différents rôles de *VRN1* dans le contrôle de la transition florale (Levy *et al.*, 2002)

Yan et *al.* (2004), dans leurs travaux sur les *Triticées*, suggèrent un modèle explicatif des interactions d'épistasie du rapport *VRN2/VRN1*. *VRN2*, qui est un facteur de transcription du *Zinc-CCT (ZCCT1)*, est un répresseur dominant de la floraison lié à *APETALA1* ou *API* d'Arabidopsis (*VRN1*) qui est un gène à boîte MAD. La vernalisation réduit l'expression de *Vrn2* permettant l'expression de *Vrn1* chez les variétés d'hiver. Un manque dans les besoins en froid survient chez les génotypes ayant une délétion du gène *ZCCT* (*vrn2* récessive), sans tenir compte de l'allèle *Vrn1*, aussi bien que chez les génotypes qui présentent *Vrn2* mais ils manquent de cible pour le site de liaison pour le répresseur dans le gène à boîte MAD (*Vrn1* dominant). Autrement dit, seuls les génotypes qui ont *vrn1vrn1Vrn2* ont besoin de vernalisation (Yan et *al.*, 2003 ; Trevaskis et *al.* 2003). D'après Von zitzewitz et *al.*, (2005) Les allèles de ces locus interagissent par épistasie, tel que les besoins en vernalisation qui ont lieu chez les plantes dont les allèles *Vrn-H1* et *Vrn-H3* sont homozygotes récessives avec au moins un allèle dominant *Vrn-H2*.

#### 1.4.3.2. Photopériodisme

Chez les céréales tropicales (maïs, riz et sorgho) ainsi que les céréales tempérées de printemps (blé, orge, seigle et avoine), la floraison est en majorité sous le contrôle du photopériodisme. Les céréales tropicales et tempérées diffèrent par la réponse au photopériodisme soit, des plantes de jours courts et des plantes de jours longs (Li et Gill, 2004). Selon Somers (2004), deux gènes de photopériodisme (les gènes *Ppd*), chez le blé et l'orge, sont situés en positions homologues chez deux chromosomes.

Chez l'orge, le gène déterminant la réponse au photopériodisme est *Ppd-H1* qui est localisé sur le bras court du chromosome 2H (Laurie et *al.*, 1994 ; Laurie et *al.*, 1995). L'allèle de *Ppd-H1*, sensible aux jours longs favorise la floraison en réponse à l'augmentation de la longueur des jours. Le deuxième gène est situé sur le long bras du chromosome 1H soit le gène *Ppd-H2*, et contrairement à *Ppd-H1*, il induit la floraison sous l'effet des jours courts mais il présente un effet minimal sous les jours longs.

La croissance et le développement des plantes sont régulés par la famille de gènes photorécepteurs cryptochrome et phytochrome. Chez *A. thaliana* les gènes photorécepteurs phytochrome sont impliqués dans la régulation de la période de floraison (Lin, 2000), une

mutation en ces gènes ou en les gènes photorécepteurs crytochrome affecte le contrôle photopériodique de la floraison (Sullivan et Deng, 2003).

Hunumappa et *al.* (1999) suggèrent que l'orge présente les gènes photorécepteurs *Phy A* et *Phy B* qui sont impliqués dans la régulation de la floraison, c'est-à-dire que les gènes photorécepteurs interviennent dans le contrôle du photopériodisme chez les plantes et sont considérés comme candidats de l'effet du photopériodisme chez l'orge. Peu de travaux ont été réalisés sur les gènes cryptochromes chez l'orge. C'est par rapport aux gènes de *A. thaliana* *Cry 1* et *Cry 2* que la comparaison est réalisée.

La vernalisation et le photopériodisme ne sont pas indépendants, les plantes peuvent présenter une floraison tardive si les besoins en vernalisation ne sont pas satisfait, même s'ils croient en périodes de jours longs (Laurie, 1997). D'après Mahfoozy et *al.* (2001), les variétés sensibles au photopériodisme se développent sous des jours courts non vernalisants ne fleurissent pas et restent à l'état végétative jusqu'à atteindre un nombre maximum de feuilles qui génétiquement correspond à la transformation du méristème en une inflorescence. Au contraire, les jours longs accélèrent la conversion vers un méristème floral et réduit le nombre total de feuilles formées.

Yan et *al.* (2006) ont résumé les interactions génétiques entre les trois gènes de vernalisation des Triticées (figure 6). Selon ce modèle, *Vrn2* est un répresseur de la floraison et dont la régulation est réduite par les jours courts (JC) et qui contrôle négativement *Vrn3* et *Vrn1* (directement ou indirectement). *Vrn3* est promoteur de la floraison et dont le contrôle est favorisé par les jours longs, il contrôle positivement *Vrn1*. Le second effet de l'augmentation du niveau de transcription de *Vrn1* est le résultat de la baisse dans la régulation de *Vrn2*. Les génotypes d'hiver qui n'ont pas vernalisé et qui sont conduits sous de jours long (JL), présentent un haut niveau de transcription de *Vrn2* et un bas niveau de *Vrn1* et *Vrn3*

#### 1.4.4. Autres voies de contrôle de la floraison

L'illustration des voies de régulation de la floraison (Figure 4) montre bien qu'il existe, outre la vernalisation et la photopériode, d'autres mécanismes qui régulent le temps de floraison. Ces voies peuvent agir de façon synergique sur plusieurs parties de la plante (feuilles ou apex du méristème) qui transmettent les signaux qui initient le développement et la reproduction.



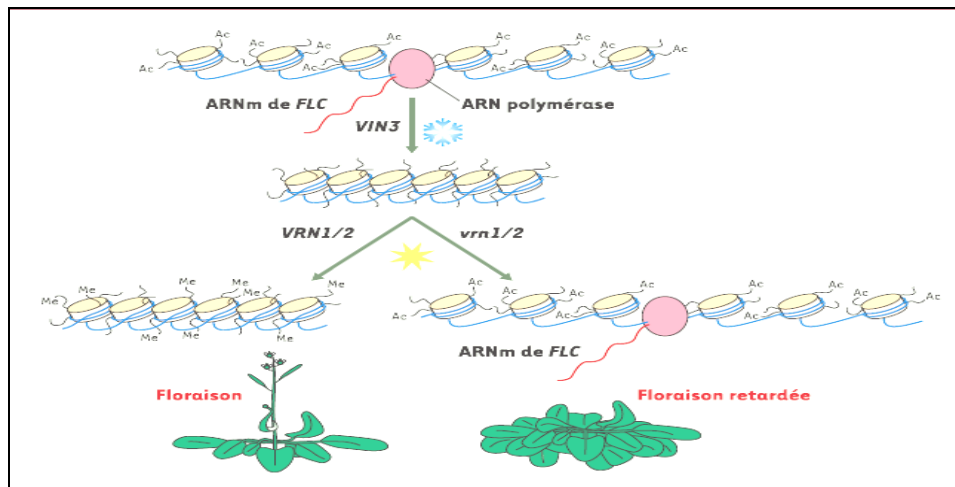
#### 1.4.4.1. Voie autonome

La voie autonome est une voie de régulation interne et indépendante des conditions exogènes (climat, nutriments). Elle est liée au bagage génétique qui porte l'information, pour induire les stades de développementaux et de reproduction lorsque les conditions endogènes (l'âge et la taille de l'appareil végétatif) le permettent.

La caractérisation de cette voie chez *Arabidopsis* a permis l'identification de six gènes qui codent pour des protéines impliquées dans la régulation par défaut de la floraison (Figure 4): *FCA* (Macnight et al., 1997), *FY* (Simpson et al., 2003), *FLD* (He et al., 2003), *FYE* (Ausin et al., 2004), *FPA* (Schomburg et al., 2001) et *LD* (Lee et al., 1994; Aukerman et al., 1999). *FPA* et *LD* possèdent des motifs de facteurs de transcription (Schomburg et al., 2001; Aukerman et al., 1999).

#### 1.4.4.2. Régulation épigénétique

La régulation épigénétique est toutes modifications ou facteurs qui ne sont pas codifiés par la séquence d'ADN, la forme de chromatine change contrairement à la séquence nucléotidique. Elle nécessite l'intervention de multiples enzymes qui causent des modifications post traductionnelles du type méthylation, cétylation, phosphorylation ou ubiquitination. Elle peut être suite à une modification dans les acides aminés qui agissent directement sur la régulation de *FLC* (Figure 6).



**Figure 6.** Modèle de répression du gène *FLC* par la vernalisation (Prouteau et Colot, 2005).

En l'absence de vernalisation, le répresseur floral *FLC* (*FLOWERING LOCUS C*) est dans une configuration chromatiniennne « ouverte » caractérisée par une hyperacétylation des histones H3 et H4 et une forte expression. Lors d'un traitement par le froid, l'expression du gène *VIN3* (*VERNALIZATION INSENSITIVE 3*) est induite et conduit à la désacétylation des histones H3 et H4 au locus *FLC* et à son inactivation. La répression transcriptionnelle de *FLC*, qui n'est que transitoire à ce stade, est maintenue par le complexe *VRN1/2* (*VERNALISATION 1* et *2*) impliqué dans l'ajout de groupements éthyles sur les lysines 9 et 27 de l'histone H3. C'est le maintien de cette inactivation qui permettra une floraison précoce lors de l'allongement des jours et de l'augmentation de la température.

#### 1.4.4.3. Régulation transcriptionnelle

D'autres facteurs de répression de la transcription autres que *FLC* jouent un rôle dans la régulation de la floraison. En effet, les protéines MADS-box jouent le même rôle sinon synergique à *FLC* avec les protéines MADS AFFECTING FLOWERING (*MAF*, Ratcliffe et al., 2003) *FLOWERING LOCUS M* (*FLM*, Scortecci et al., 2001) et *SHORT VEGETATIVE PHASE* (*SVP*, Hartmann et al., 2000) dont les mutants fleurissent de façon précoce comme les mutants *flc*.

En plus de *CO*, *FT* et *API*, facteurs de l'activation de la floraison, d'autres régulateurs au niveau transcriptionnel induisent la transition florale : *GIGANTEA* (*GI*, Park et al., 1999), *LEAFY* (*LFY*, Weigel et al., 1992) ou *AGL20* ou *SOC1* (*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1*). La mutation de ces gènes ralentit ou bloque la transition florale.

#### 1.4.4.4. Régulation hormonale

Les gibbérellines (GAs) stimulent la prolifération des cellules au niveau du méristème et activent, conjointement avec des protéines nucléaires, l'expression des gènes régulant la transition florale (Sun et Gubler, 2004). Les mutants des enzymes de la voie de biosynthèse des GAs montrent un phénotype à floraison précoce ou bien à floraison tardive accompagné d'un nanisme. Chez certaines espèces comme la carotte, la voie des GAs peut substituer celle de la vernalisation.

L'acide abscissique (ABA) est, comme les GAs, produit dans la voie de biosynthèse des terpènes. Par contre, il renverse l'effet des hormones de stimulation de croissance (GAs, cytokinines, auxine, éthylène) dans plusieurs tissus. L'inhibition de la croissance et le maintien de la dormance de bourgeons sont les effets les plus saisissants de l'ABA. Cependant, son rôle dans l'induction de la floraison reste mal connu.

#### 1.4.5. Précocité de la floraison

La précocité de floraison est un caractère d'adaptation majeur chez les plantes annuelles telles que l'orge et le blé. Depuis le début de l'agriculture, ce caractère a été sélectionné artificiellement chez les espèces cultivées afin de permettre leur culture dans un nouvel environnement. L'étude de caractère adaptatif, tel que la précocité de floraison, est par ailleurs intéressante pour appréhender les réponses adaptatives qui seront mises en œuvre face aux changements environnementaux futurs.

Trois voies de régulation de la précocité de floraison ont été identifiées (Worland 1996) : la voie de la vernalisation, la voie de la photopériode et la voie de la précocité intrinsèque. Si des gènes majeurs ont été trouvés comme étant impliqués dans les voies de la vernalisation (gène *VRN-1*) et de la photopériode (gène *PPD-1*), la voie de la précocité intrinsèque, qui détermine la date de floraison indépendamment des stimuli environnementaux, semble impliquer un plus grand nombre de gènes de plus faibles effets. Ils sont nommés les gènes de précocité ou en terme anglo-saxon « *earliness per se* » (*EP*, chez le blé; Worland, 1996) ou encore early anthesis maturity (*Eam*, chez l'orge; Hockett and Nilan, 1985; Gallagher *et al.*, 1991). De nombreux *QTLs* d'*EPS* et de la période de floraison ont été cartographiés chez l'orge (Hackett *et al.*, 1992; Laurie *et al.*, 1995; Kato *et al.*, 2002) et le blé (Scarth and Law, 1983; Hoogendoorn, 1985; Snape *et al.*, 1985; Zemetra *et al.*, 1986; Miura and Worland, 1994; Kato *et al.*, 2002) mais ils restent mal défini jusqu'à maintenant. Cinq loci *Eam* ont été cartographié sur les chromosomes 1H, 2H, 3H, 4H et 6H de l'orge (Franckowiak, 1997).

#### 1.4.6. Contrôle génétique de la floraison chez l'orge

Les facteurs génétiques qui déterminent la période de la floraison chez l'orge peuvent être divisé selon leur réponse au milieu par les gènes de réponse au photopériodisme (*Ppd-H*), les gènes de réponse à la vernalisation (*Vrn-H*) et les gènes de précocité (*Eam*).

Chez l'orge, les allèles de vernalisation et de photopériode sont connus et bien caractérisés aux niveaux physiologique et génétique (Cockram *et al.*, 2007). Au niveau moléculaire, aucun gène de vernalisation ou de photopériode n'a été clairement identifié comme régulateur positif ou négatif de la floraison parce que les allèles qui confèrent ces réponses sont généralement épistatiques, pléiotropiques et récessifs (Tableau 4).

Chez l'orge, *Ppd-H1* est localisé sur le bras court du chromosome 2H (Laurie *et al.*, 1994), il est co-localisé le plus souvent à *Ea* (*Eam1*) locus responsable de la précocité de *earliness per se*.

Des études ont démontré qu'une des cibles directes de *CO* était le gène *FLOWERING LOCUS T* (*FT*, Tadaka et Goto, 2003; Wigge *et al.*, 2005; Yoo *et al.*, 2005). Dans la feuille et dans la tige, l'ARN<sub>m</sub> de *FT* est induit sous l'effet de la lumière (via *CO*). Au niveau du méristème, *FT* est négativement régulé par la température (via *FLC*) (Searle *et al.*, 2006). Le gène *FT* code pour une protéine homologue des inhibiteurs de kinases RAF (Kardailsky *et al.*, 1999; Kobayashi *et al.*, 1999) présente dans le noyau et dans le cytoplasme (Abe *et al.*, 2005) d'où possiblement il coordonnerait l'expression de gènes inducteurs de la floraison. Pour ces raisons, *FT* est pressenti comme un bon candidat pour être le signal de floraison (Teper-Bamnlker et Samach, 2005). Sa caractérisation chez d'autres espèces permettra d'élucider sa fonction exacte.

**Tableau 4 .** Principales voies, loci, gènes de la floraison de l'orge (Cockram *et al.*, 2007)

Synonyme du locus	gène	protéine	voie	fonction
<i>VRN-H1</i> ( <i>Sh2</i> , <i>Sgh2</i> )	<i>BM5A</i>	MADS-box,API-like	Vernalisation	allèles récessive promoteur de la floraison après vernalisation
<i>VRN-H2</i> ( <i>Sh</i> , <i>Sgh</i> )	<i>ZCCT-Ha/-Hb/-Hc</i>	B-box, CCT-domain	Vernalisation/Photopériode	allèles dominant promoteur de la floraison après vernalisation
<i>VRN-H3</i> ( <i>Sh3</i> , <i>Sgh3</i> )	<i>HvFT</i>	Inhibiteur de la kinase Putative	Vernalisation/photopériode	allèles récessive promoteur de la floraison après vernalisation, et est sur-réglé en jours courts
<i>Ppd-H1</i> ( <i>Eam1</i> )	<i>PRR</i>	Pseudo - récepteur et CCT-domain	Photopériode	allèle de Photopériode sensibilité à la lumière promoteur de la floraison sous des jours longs
<i>Ppd-H2</i>	Non cloné	Non cloné	Photopériode	allèle de Photopériode sensibilité à la lumière retard de la floraison en jours courts

*Chapitre II. Polymorphisme phénotypique  
de quelques génotypes d'orge sélectionnés  
en zone semi aride à Sétif*

---

## CHAPITRE II. Polymorphisme phénotypique de quelques génotypes d'orge sélectionnés en zone semi aride à Sétif

### Introduction

La céréaliculture algérienne est située en grande partie dans la zone semi aride où peu de pluviométrie est disponible avec une répartition inégale et irrégulière durant la saison de croissance des cultures. Le manque d'humidité adéquate menant à un stress hydrique est un phénomène fréquent dans les zones pluviales, provoquées par des pluies peu fréquentes et une mauvaise irrigation (Wang et *al.*, 2005). Ce qui impose la sécheresse qui affecte le rendement des cultures de façon drastique. La sécheresse est un terme qui décrit un état dans lequel l'humidité du sol disponible est réduite au point où la plante ne peut l'absorber assez rapidement pour compenser la transpiration. Ce n'est pas un phénomène uniforme et la réaction dépendra du stade de développement de la plante au cours de laquelle survient la sécheresse. En effet, le rendement est considérablement réduit si la sécheresse se produit à différentes étapes critiques, par exemple au tallage, à l'épiaison, à la formation et au remplissage des grains.

Développer des cultures bien adaptées pourrait améliorer les rendements dans de telles conditions, comme c'est le cas de l'orge (Gonzalez et *al.*, 2007). L'étude du comportement physiologique des cultures peut aider la sélection des céréales par l'amélioration et la compréhension des facteurs qui déterminent le rendement des cultures et l'adaptation.

Les caractères affectés par les relations hydriques de la plante, comme la teneur relative en eau des feuilles (RWC) et l'ajustement osmotique indiquent clairement le modèle d'extraction de l'eau. Le choix du cycle de croissance vis-à-vis de la disponibilité de l'eau devient donc prioritaire. Le potentiel hydrique et la capacité d'ajustement osmotique sont les caractéristiques qui peuvent être sélectionnées pour améliorer la tolérance à la sécheresse des cultures différentes (Teulat et *al.*, 1997; Nayyar et *al.*, 2005). L'ajustement osmotique est de plus en plus reconnu comme un mécanisme efficace de tolérance à la sécheresse chez les plantes cultivées (Teulat et *al.*, 1997 ; Hamidou et *al.*, 2007), et directement ou indirectement, elle a un effet positif sur la productivité en période de sécheresse (Ludlow et Muchow, 1990). L'ajustement osmotique se réfère à la réduction du potentiel hydrique due à l'accumulation nette de solutés, comme une réponse au déficit hydrique (Nayyar et Walia, 2004). Cela permet au potentiel de turgescence d'être maintenu à un niveau supérieur et permet

de limiter les effets du stress hydrique sur l'ouverture des stomates, la photosynthèse et la croissance. L'augmentation de la biomasse des cultures contribue à l'amélioration du rendement des céréales. Il est clair que les conditions du milieu durant l'épiaison affectent principalement le nombre de grains et le rendement final en raison du nombre de grains produits par épi (Christen et *al.*, 1995). Le stress hydrique en fin de cycle raccourcit la période de remplissage du grain, par la dessiccation prématurée de l'endosperme et limite la taille des embryons. En effet, la réduction du rendement est principalement due à une réduction du poids des grains produits (Gibson et Paulsen, 1999).

Les mécanismes d'adaptation changent avec le génotype, l'âge de la plante, l'environnement, le type d'organe et de tissus. Une meilleure compréhension des mécanismes d'adaptation au déficit hydrique et du maintien de la croissance, le développement et la productivité au cours des périodes de stress aident dans l'amélioration à la tolérance à la sécheresse (Turner, 1997). C'est dans cette approche qu'il est souhaitable d'étudier différentes conditions auxquelles est soumise la plante afin d'observer le type de réponse que se soit agronomique, physiologique, biochimique ou morphologique.

Cette étude permet de comparer les génotypes qui ont été sélectionnés dans la zone semi aride algérienne afin de faire ressortir les caractères qui sembleraient être impliqués dans l'adaptation aux variabilités du milieu.

On rappelle que cette étude a été suivie au cours de deux campagnes agricoles dans la station de l'ITGC de Sétif (A1 : campagne 2004/2005 et A2 : campagne 2005/2006).

## **Matériel et méthodes**

### **1. Présentation du site expérimental**

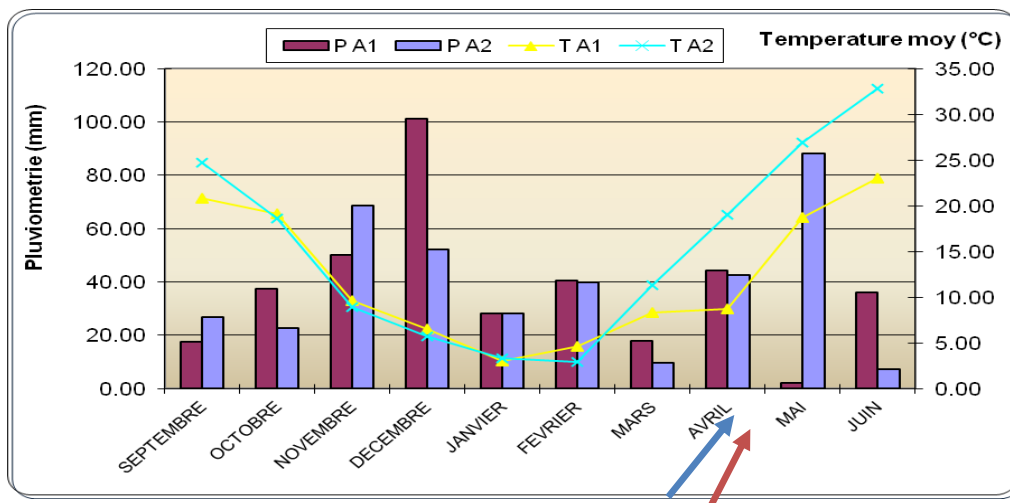
L'expérimentation a été réalisée sur le site expérimental relevant de la Station de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC), de Sétif (1080 m, 36° 9 'N., 5° 21' E), au cours des deux campagnes agricoles 2004/05 et 2005/06. Le site est représentatif de la zone centrale des hautes plaines, il se caractérise par des terres plates, peu fertiles et un fort risque de gel tardif et de la sécheresse en fin de cycle (Chennafi et *al.*, 2006). Le sol est argilo-limoneux avec des pourcentages élevés de calcaire et de matière organique (Tableau 5). La capacité au champ est de 25%, le point de flétrissement est de 12% et la densité apparente est de 1.35 g/cm<sup>3</sup> (Chennafi et *al.*, 2006). Le cumul pluviométrique a été de 375.0 et 386.0 mm pour les deux campagnes

consécutives (Figure 7). La différence marquante entre les deux campagnes est la pluviométrie et la température moyenne du mois de mai : frais et sec en 2005 et humide et chaud en 2006 (Figure 7).

**Tableau 5.** Caractéristiques physico-chimiques du sol de la station expérimentale de l'ITGC de Sétif

Caractéristiques du sol.	Résultat analytique
PH eau	8.26
PH Kcl	7.20
Calcaire total (%)	31.58
Matière organique (%)	3.29
CE (mmohs/cm)	0.175
Azote total (%)	0.099
Phosphore	17.17
Potassium	7.85
Sodium	42.72
Magnésium+calciums	182.51
Argile	42.25
Limon fin	29.75
Limon grossier	14.22
Sable fin	8.15
Sable grossier	5.63
C/N	33.23

Source: ITGC (2006)



**Figure 7.** Données climatiques de la région de Sétif relatives aux deux années d'expérimentation. PA1:pluviométrie de la campagne 2004/2005, PA2:pluviométrie de la campagne 2005/2006, TA1:moyennes des températures de la campagne 2004/2005, TA2:moyennes des températures de la campagne 2004/2006, flèche bleue : prélèvement des échantillons le 24/04/2006, flèche rouge : prélèvement des échantillons le 01/05/2005.



## 2. Matériel végétal et dispositif expérimental

Le comportement de six génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.), sélectionnés pour la zone semi- aride par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Sétif est étudié (Benmahammed *et al.*, 2001). Ces génotypes sont Tichedrett, Soufara, Rahma, El Bahia, Fouara, et Tissa.

Tichedrett est une variété à 6 rangs, issue de la sélection à l'intérieur des populations locales. C'est une variété de type tardif, rustique, s'adaptant plus aux conditions environnementales des hauts plateaux de l'Est du pays. Soufara, Tissa et Rahma sont des variétés à 2 rangs, sélectionnées à partir du matériel provenant de l'Icarda. El Bahia et Fouara sont des lignées à 6 rangs, sélectionnées par la station ITGC de Sétif à partir des croisements Rebelle/Lignée 686, pour la première et Deir alla<sub>106</sub>/Strain<sub>205</sub>//Gerbel. ICB85. 1376. 0AP. 1AP. 2AP, pour la seconde (Bemmahammed *et al.*, 2001; Bensemmane *et al.*, 2011).

Ces variétés sont évaluées dans un dispositif expérimental en blocs aléatoires complets avec trois répétitions. La parcelle élémentaire est constituée de 6 rangs de 5 m de long, espacés de 20 cm, soit une surface de 6 m<sup>2</sup>. L'essai est installé sur un précédent jachère travaillée. Le semis est réalisé au mois de novembre, pour les deux campagnes (annexe 2). La fertilisation phosphatée est appliquée avant le semis à raison de 100 kg/ha de super phosphate à 46%. L'engrais azoté, de l'urée 35%, est appliqué à une dose de 100 kg/ha, au mois de mars, juste après le désherbage qui est réalisé avec du Granstar [*Methyle tribunéron*] et du Zoom [4.1% Triasulfuron + 65.9% Dicamba, 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acide].

## 3. Notations et mesures

L'évolution des caractères physiologiques et biochimiques ainsi que le suivi de l'évolution de la matière sèche ont fait l'objet de trois mesures à partir de l'épiaison, soit: **P1**: à l'épiaison E; **P2**: épiaison +10 jours après l'épiaison ; **P3**: épiaison +20 jours après l'épiaison. Les mesures du rendement et ses composantes ont été réalisées au stade maturité.

### 3.1. Caractères physiologiques

La teneur relative en eau (TRE) est mesurée sur 10 feuilles excisées qui sont pesées immédiatement pour avoir le poids frais (PF). Les échantillons foliaires sont, ensuite, placés dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée, mis à l'obscurité, pour atteindre la turgescence, pendant une durée de 24 heures. Après quoi le poids turgide (PT) est mesuré. Les échantillons

foliaires sont ensuite mis à sécher dans une étuve dont la température est portée à 65°C pendant 24h. Par la suite, ils sont pesés pour avoir le poids sec (PS). La teneur relative en eau est calculée par la formule suivante:

$$TRE = \left( \frac{PF - PS}{PT - PS} \right) \times 100$$

L'indice de la stabilité membranaire (ISM) est mesuré selon la méthode décrite par Saadalla *et al.*, (1990). Elle consiste à peser 0,1 g de la partie médiane de la feuille coupée en petits carrés de 0,5 cm. Les échantillons sont lavés à l'eau de robinet puis dans l'eau bi distillée. Par la suite ils sont mis dans des tubes à essais contenant 10ml d'eau bi distillée. Les tubes sont ensuite couverts avec du parafilm et mis au bain marie à 40° C, pendant 30 minutes. La conductivité électrique (C<sub>1</sub>) des solutions est mesurée, après une durée de refroidissement de 2 heures, puis les tubes sont remis au bain marie à 100°C pendant 10 minutes, et une deuxième lecture de la conductivité électrique est faite (C<sub>2</sub>). L'indice de stabilité membranaire (ISM) est calculé par la formule suivante :

$$ISM = \left( 1 - \frac{C1}{C2} \right) \times 100$$

Le potentiel osmotique est déterminé sur l'avant dernière feuille du maitre brin. L'échantillon foliaire est coupé en morceaux puis placé dans un tube Eppendorf qui est immergé dans de l'azote liquide. Après décongélation les tubes sont centrifugés à raison de 6000 tours/minute pendant 10 minutes. Pour la mesure du potentiel osmotique, 10µl de chaque extrait ainsi obtenu sont déposés sur du papier filtre qui est incéré dans la loge de la chambre de mesure de l'osmomètre type Wescor 5500 VPO, pour lecture. L'osmomètre est préalablement étalonné. La mesure est exprimée en MPa.

L'extraction de la chlorophylle à été faite selon la méthode décrite par Ferus et Arkosioka, (2001). Elle consiste à broyer 0.2 g de matière fraîche de l'avant dernière feuille. Le broyage est réalisé avec 0.1 g de sable et 0.1 g de carbonate de calcium, en présence d'acétone jusqu'à ce que le résidu soit blanc. Après filtration on ajuste à un volume de 10 ml avec de l'acétone. Le dosage de la chlorophylle est effectué par spectrophotométrie aux valeurs d'absorptions spécifiques 663 nm et 645 nm. Les quantités en mg de chlorophylle a (chl<sub>a</sub>) et de chlorophylle b (chl<sub>b</sub>) sont déterminées comme suite:

- **Chl a = 12.7 DO<sub>663</sub> - 2.69 DO<sub>645</sub> ,**
- **Chl b = 22.9 DO<sub>645</sub> - 4.68 DO<sub>663</sub>.**

La chlorophylle totale est estimée par :

$$\bullet \text{ Chl (a+b)} = 8.02 \text{ DO}_{663} - 20.2 \text{ DO}_{645}.$$

### 3.2. Caractères biochimiques

La proline est dosée selon la méthode de Monneveux et Nemmar (1986). Des échantillons de 100 mg, prélevés du tiers médian de l'avant dernière feuille sont pesés puis placés dans des tubes à essai. Un volume de 2 ml de méthanol à 40% est ajouté à chaque tube à essai, le tout est chauffé pendant 1h dans un bain-marie à 85°C. Après refroidissement, 1 ml de la solution d'extraction est ajouté à 1 ml d'acide acétique, 25 mg de ninhydrine et 1 ml du mélange eau distillée - acide acétique - acide ortho phosphorique de densité 1,7 (120, 300, 80: v / v / v).

L'ensemble est porté à ébullition pendant 30 minutes au bain-marie, on constate l'apparition de la couleur rouge. On refroidi et on ajoute 5 ml de toluène. Après agitation, on note la séparation de la solution en deux phases, une phase inférieure et une phase supérieure organique. Cette dernière est pipetée et mise dans un tube contenant une pincée de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La densité optique est déterminée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 528 nm. Les valeurs obtenues sont reconverties en proline en utilisant la droite d'étalonnage (Figure 8). La droite de régression de la courbe étalon étant Y, la concentration en proline est calculée par la formule suivante :

$$\text{Proline}(\mu\text{M/gMF}) = \frac{Y \times 2 \times 1000}{115.13 \times \text{MF}}$$

Y = densité optique, MF = masse de matière fraîche et la masse molaire de la proline étant égale à 115,13 g.

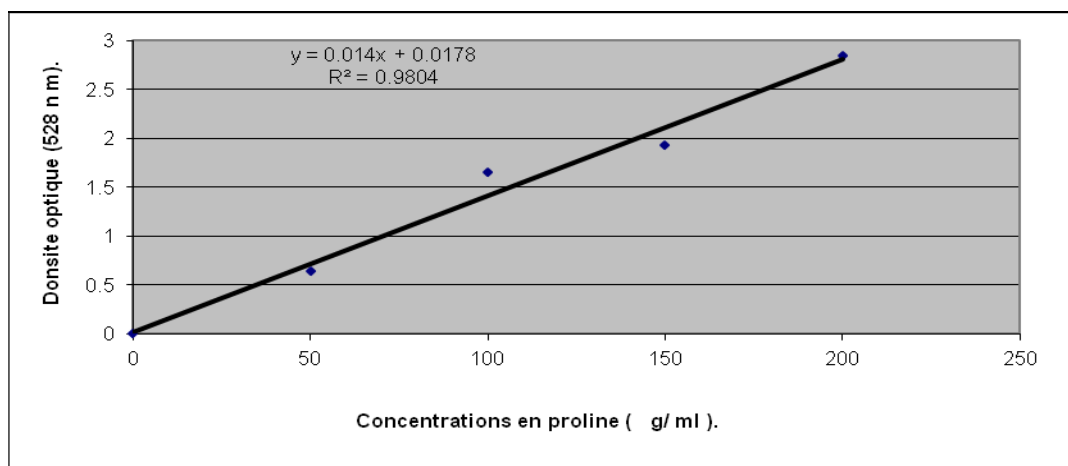


Figure 8. Courbe étalon du dosage de la proline.

Les sucres totaux sont mesurés selon la méthode de Dubois *et al.*, (1956). Le principe de cette méthode repose sur l'hydrolyse des polysaccharides qui sont déshydratés en un dérivé furfural, réagissant avec un réactif coloré. Cette méthode est hautement spécifique aux hydrates de carbone et colore les différents sucres d'une intensité égale (Lazarova et Manem, 1995). La méthode est dite des « équivalents glucose » car la courbe standard est mesurée à partir de solutions.

Dans un tube à essai, on met 1 ml de l'extrait de feuilles d'orge auquel on ajoute 1 ml de solution de phénol à 5 % et 5 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), après agitation, on laisse pendant 20 mn à l'obscurité. Les mesures au spectrophotomètre sont effectuées à 470 nm. Les valeurs obtenues sont reportées sur une gamme étalon réalisée avec des solutions de concentrations connues de glucose puis transformées en concentration molaire.

La droite de régression de la courbe étalon étant Y (figure 9), la concentration en sucres solubles totaux (mM de glucose équivalent/l) est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Sucres totaux}(\mu\text{M glucose équivalent/l}) = \frac{Y \times 1 \times 1000}{180}$$

Avec Y : densité optique et la masse molaire du glucose étant de 180 g.

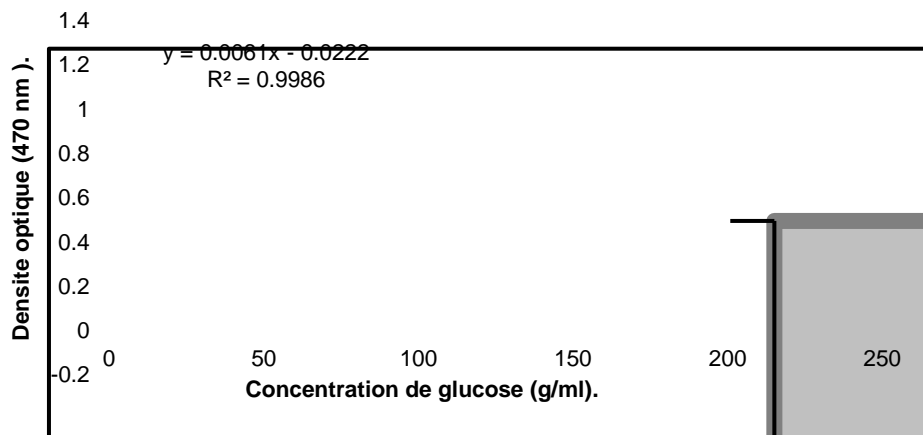


Figure 9. Courbe étalon du dosage des sucres solubles (Méthode de Dubois *et al.*, 1956 )

### 3.3. Précocité à l'épiaison et caractères morphologiques

La précocité à l'épiaison a été considérée pour les deux campagnes à partir de la levée jusqu'à émergence des épis de la gaine de la dernière feuille, elle est estimée en jours.

La hauteur de la plante est mesurée en cm, ainsi que la longueur de l'épi et des barbes, au stade maturité. Le suivi de l'accumulation de la biomasse aérienne et sa répartition entre feuilles

et tiges est réalisé sur des échantillons provenant de la fauche de segments de rang de 50 cm de long. Le poids de la matière sèche est déterminé après passage des échantillons à l'étuve à 80°C, pendant 24 heures. Les échantillons récoltés au stade maturité sont utilisés pour la détermination d'un nombre d'épis par m<sup>2</sup> (NE), le poids de 1000 grains et le rendement grain (RDT). Le nombre de grains par épi (NGE) et le nombre de grains par m<sup>2</sup> sont déduits par calcul (Benkharbache *et al.*, 2002). Le rendement grain est déterminé aussi après la récolte mécanique de l'expérimentation.

#### **4. Analyse des données**

L'étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel *stat box pro version 6*, elle a porté sur une analyse de la variance et une analyse en composantes principales ACP et une matrice de corrélation. Deux types d'analyse de variance ont été réalisés. Une ANOVA à trois critères de classification (génotype, prélèvement et année) pour les données relatives à l'évolution des paramètres physiologiques, biochimiques et de la biomasse aérienne. Comme les mesures sont destructives, c'est à dire les paramètres d'évaluation ne sont pas réalisés sur les mêmes plants pour les différentes mesures, nous pouvons considérer que ces dernières sont indépendantes les unes des autres. Une analyse de variance à deux critères de classification est réalisée pour tous les caractères mesurés relatifs aux caractères morphologiques, composantes du rendement et le rendement, soit le facteur génotype et le facteur Année. Une matrice de corrélation a été réalisée suivie par une analyse en composantes principales (ACP) pour faire ressortir le maximum de liaisons.

## Résultats et discussions

### 1. Analyse de la variation des caractères physiologiques

#### 1.1. Teneur relative en eau, intégrité cellulaire et pression osmotique foliaires

L'analyse de la variance de la teneur relative en eau foliaire montre des effets principaux année et date d'échantillonnage hautement significatifs, et un effet génotype non significatif (Tableau 6). Les valeurs moyennes par année sont de 54.4 et 88.5% et de 80.7, 74.1 et 59.5% pour les trois dates d'échantillonnage, stades épiaison ( E ), épiaison + 10 jours (E+10) et épiaison + 20 jours (E+20). Les interactions entre deux facteurs sont significatives alors que l'interaction entre trois facteurs est non significative (Tableau 6). Les différences entre campagnes s'expliquent largement par la sécheresse qui a marqué la campagne 2004/05 au cours du mois de mai comparativement à la campagne 2005/06 pour la même période (Figure 7). En effet la pluie enregistrée au cours du mois de mai, période de post- épiaison des orges sur les hautes plaines orientales, est de 2,2 contre 88 mm pour les deux campagnes citées. Ces résultats indiquent la variabilité climatique à laquelle est soumise la culture de l'orge sous les conditions de production des hautes plaines.

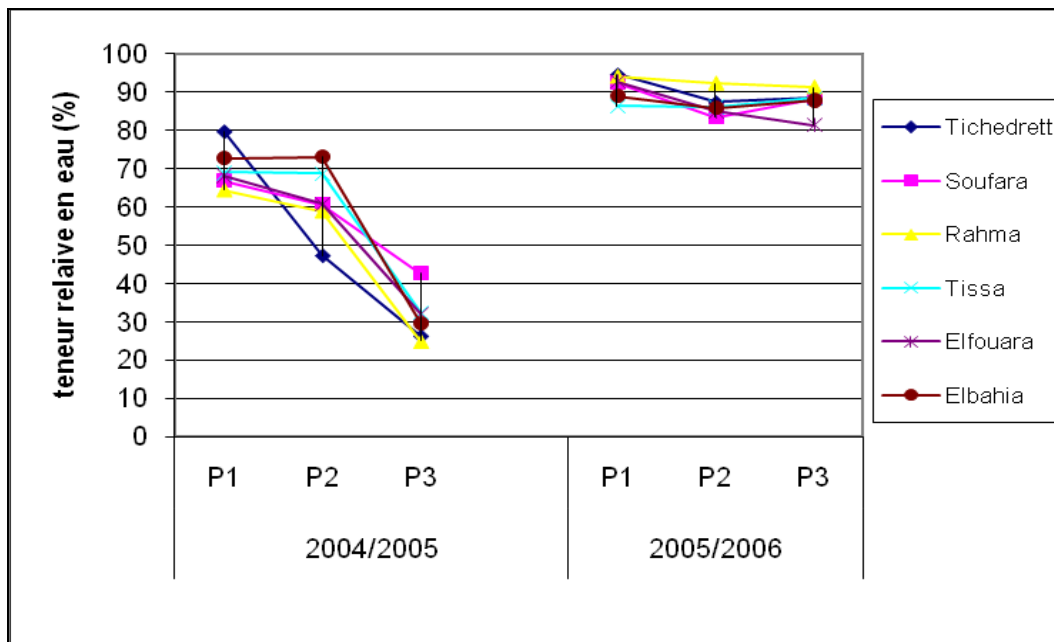
**Tableau 6.** Moyennes des variables mesurées et seuil de signification des effets principaux et des interactions indiqués par l'analyse de la variance des valeurs mesurées au cours des deux campagnes chez les 6 génotypes pour la teneur relative en eau (TRE), l'indice de la stabilité membranaire (ISM), la pression osmotique (PO) et la concentration chlorophyllienne (Chl).

Caractère	RWC		ISM		PO		Chla		Chlb		Chlt	
	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>
<b>Tichedrett</b>	51,1	90,0	64,6	55,5	-3,14	-1,00	0,59	0,98	0,46	0,43	1,04	1,41
<b>Soufara</b>	56,7	88,0	63,1	51,6	-3,73	-1,07	0,54	1,17	0,55	0,59	1,09	1,60
<b>Rahma</b>	49,4	92,4	61,4	57,1	-3,33	-1,02	0,53	1,10	0,60	0,51	1,19	1,55
<b>Tissa</b>	56,6	86,9	69,0	58,8	-3,33	-1,10	0,59	1,15	0,52	0,58	1,11	1,70
<b>Fouara</b>	53,6	86,2	67,7	61,0	-3,20	-1,04	0,51	0,92	0,42	0,41	0,93	1,35
<b>Bahia</b>	58,4	87,3	68,6	63,0	-3	-1,13	0,58	1,33	0,36	1,98	0,94	1,42
<b>effet variété (V)</b>	<b>ns</b>		<b>***</b>		<b>*</b>		<b>ns</b>		<b>***</b>		<b>***</b>	
<b>Annee1</b>	54,3		65,7		-3,29		0,56		0,49		1,05	
<b>Annee2</b>	88,5		57,8		-1,06		1,11		0,75		1,50	
<b>Effet année (A)</b>	<b>***</b>		<b>***</b>		<b>***</b>		<b>ns</b>		<b>***</b>		<b>ns</b>	
<b>P1</b>	80,7		59,6		-2,24		0,85		0,92		1,47	
<b>P2</b>	74,0		69,6		-2,04		0,97		0,60		1,42	
<b>P3</b>	59,4		56,1		-2,24		0,68		0,33		0,93	
<b>effet prélèvement (P)</b>	<b>***</b>		<b>***</b>		<b>*</b>		<b>***</b>		<b>***</b>		<b>***</b>	
<b>Ecart type</b>	7,77		7,41		0,39		0,23		0,17		0,16	
<b>Moyenne Générale</b>	71,4		61,4		-2,17		0,832		0,618		1,276	
<b>interactions V x A</b>	<b>*</b>		<b>***</b>		<b>*</b>		<b>***</b>		<b>***</b>		<b>***</b>	
<b>interactions V x P</b>	<b>*</b>		<b>ns</b>		<b>**</b>		<b>***</b>		<b>***</b>		<b>***</b>	
<b>interactions P x A</b>	<b>*</b>		<b>***</b>		<b>***</b>		<b>***</b>		<b>***</b>		<b>***</b>	
<b>interactions V x P x A</b>	<b>ns</b>		<b>**</b>		<b>*</b>		<b>***</b>		<b>***</b>		<b>***</b>	

TRE = teneur relative en eau (%) ; ISM=, indice de stabilité membranaire (%) ; PO = pression osmotique (Mpa). ns, \*, \*\* = effet non significatif et significatif au seuil de 5 et 1% respectivement.

Les résultats de l'analyse de la variance montrent aussi un effet période significatif. Ceci suggère que la période post épiaison est soumise à une demande climatique élevée en matière d'eau. Ceci est indiqué par la régression des valeurs moyennes de la teneur relative en eau foliaire qui passent de 80.7% au stade épiaison, moyenne des 6 génotypes évalués, à 59.4%, 20 jours plus tard (Tableau 6). Ces résultats suggèrent que la période post-épiaison se caractérise par de la sécheresse et l'élévation de la température de l'air ambiant, qui exagèrent la transpiration et le dessèchement du feuillage. Ces résultats corroborent ceux rapportés par Abbassenne *et al.* (1998) et Chennafi *et al.*, (2006).

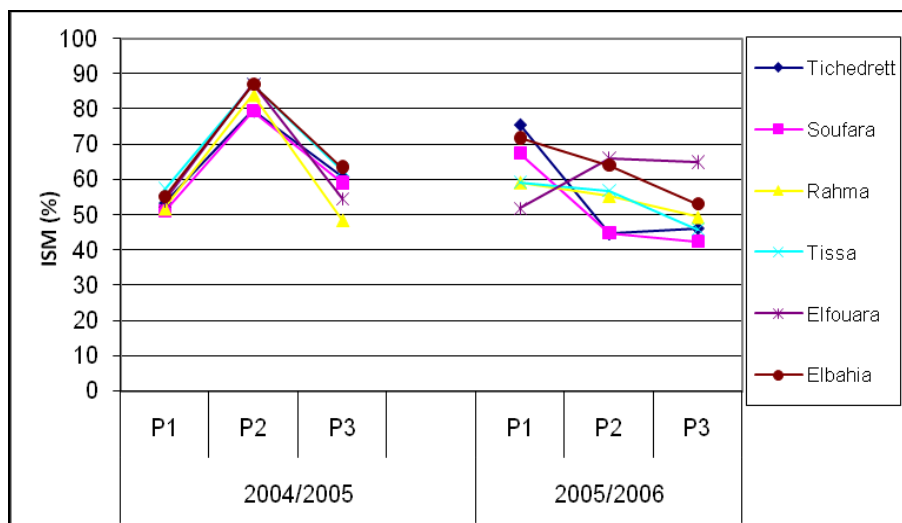
L'interaction période d'échantillonnage par variétés est la plus importante pour le sélectionneur qui espère sélectionner des génotypes de type *stay-green* qui maintiennent l'activité photosynthétique le plus longtemps et donc garde un statut hydrique élevé en période de post épiaison. Si peu de différences apparaissent entre les génotypes étudiés au cours de la seconde campagne, les résultats de la première campagne indiquent le comportement particulier du génotype Soufara qui se démarque par un statut hydrique foliaire relativement élevé au cours de la période allant 10 à 20 jours après l'épiaison (Figure 10).



**Figure 10.** Évolution de la teneur relative en eau des génotypes d'orge durant la campagne 2004/2005 et 2005/2006. (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison)

L'interaction des variétés par année montre une très forte divergence pour le statut hydrique. Cette différence dénote une sensibilité accrue au déficit hydrique en post épisaison, la persistance de la sécheresse a stimulé une réduction grave de la RWC chez les variétés Tichedrett, Rahma et Fouara contrairement à celles qui semblent être tolérantes à la sécheresse comme c'est le cas de Soufara. De telles réponses ont été signalées dans le cas du blé (*Triticum aestivum* L.) par Chandrasekar et al. (2001) et le millet commun (*Panicum miliaceum* L.) par Seghatoleslami et al., (2008).

L'indice de stabilité membranaire (ISM) présente des différences significatives entre les campagnes et les périodes d'échantillonnage, ainsi qu'une interaction campagne x périodes significative (Tableau 6). Ces différences reflètent la sensibilité des variétés aux conditions environnementales. Durant la première campagne 2004/2005, à l'épisaison, l'ISM a été très basse pour tous les génotypes. La membrane devient poreuse et perd beaucoup de solutés, mais on note qu'elle réussit à s'améliorer avec les pluies survenues au milieu de cette période. Pour la campagne 2005/2006, la membrane semble perdre son intégrité au fur et à mesure que l'on se rapproche de la maturité en cinétique avec le manque d'eau progressive et la sénescence des plantes (Figure 11). Par ailleurs, elle est variable d'un individu à l'autre.

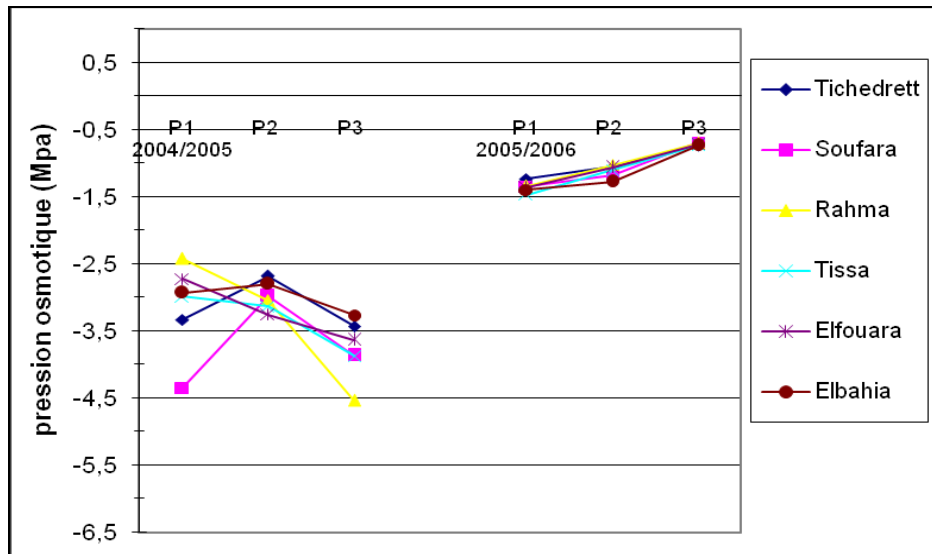


**Figure 11.** Évolution de l'indice de stabilité membranaire des génotypes d'orge durant la campagne 2004/2005 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épisaison, 10 jours après l'épisaison et 20 jours après l'épisaison)

Le potentiel osmotique a présenté une variabilité due surtout aux conditions du milieu et à son interaction avec la période de prélèvement qui a duré 20 jours (Figure 12). Durant



2004/2005, chaque individu c'est distingué par rapport aux autres avec une pression osmotique basse notée pour Soufara suivie par Tichedrett alors que la plus élevée est notée pour Rahma. Au bout de 10 jours après l'épiaison le potentiel osmotique augmente légèrement pour tous les individus. Au terme du troisième prélèvement, cette valeur diminue avec une pression plus basse pour Tichedrett suivie par Tissa et Fouara. Bahia a présenté la valeur la plus élevée.



**Figure 12.** Evolution du potentiel osmotique des géotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison).

Au cours de la campagne suivante, le potentiel osmotique a été moyennement plus élevé pour tous les individus qui ont présenté à chaque moment de prélèvement une même PO, la différence est noté pour Tissa dont la valeur à été la plus basse à l'épiaison. La PO a augmenté linéairement au fur et à mesure en raison des chutes de pluie.

Il est sure que l'ajustement osmotique joue un rôle déterminant dans le maintien de la turgescence aux faibles potentiels hydriques foliaires. Le maintien de la RWC et du potentiel hydrique élevé contribuent à l'augmentation et à la stabilité du rendement en conditions de sécheresse chez les céréales (Clarke et McCiag, 1982). Selon Morgan (1983), la valeur de la RWC enregistrée à une pression osmotique foliaire de -3 MPa peut indiquer une capacité d'ajustement osmotique, les valeurs que nous avons observé reflètent une variabilité à l'ajustement osmotique que ce soit entre les variétés ou entre les années. Au cours de la

campagne sèche, la pression osmotique a été relativement plus élevée et dépasse largement - 3MPa et permet des RWC allant de 79 à 47% pour une pression de - 2 à -3 MPa, au de là de ces valeurs un dessèchement des feuilles est noté avec des RWC nettement inférieur à 40%. Ceci suggère que les variétés qui réussissent à maintenir une turgescence en manque d'eau, permettent aux cellules de maintenir leur métabolisme à des niveaux bas d'hydratations. Les géotypes révélant un tel caractère sont désigné par les mieux tolérants à la sécheresse, comme il a été noté chez le blé par Sanchez et *al.* (1998) et pour le pois chiche par Hamidou et *al.* (2007).

La chlorophylle totale n'a pas été variable au cours des deux années étudiées. Par ailleurs, ces différences sont significatives entre géotypes (Tableau 6). Ces différences sont clairement illustrées sur la figure 13-A. En effet, Rahma, Tissa et Soufara se sont caractérisées par des taux élevés durant 2004/2005 cette teneur semble se maintenir durant les 10 jours qui suivent l'épiaison ensuite on constate une nette chute de cette concentration pour tous les individus, signe de sénescence un peu précoce.

Durant 2005/2006, les géotypes ont présenté un taux de chlorophylle totale plus élevé que la campagne précédente avec un maintien de cette concentration plus longtemps retardant, ainsi, la sénescence des feuilles. La chl<sub>a</sub> a été identique pour tous les individus et pour les deux années avec une analyse de variance qui ne présente pas de différences significatives. La différence réside en la période de prélèvement où l'on constate qu'elle diminue ou augmente selon la réaction de la plante aux conditions du milieu. En campagne à pluviométrie insuffisante pour un bon épanouissement de la plante, la chl<sub>a</sub> a présenté des teneurs presque identiques pour tous les individus avec une légère baisse à l'épiaison qui s'améliore légèrement dix jours après et fini par diminuer plus on se rapproche de la maturité. En 2005/2006, cette teneur a présenté des variabilités dans tous les individus avec une concentration élevées notée chez Bahia, 10 jours après l'épiaison (Figure 13-B). La chl<sub>b</sub> a présenté une concentration plus faible au niveau des feuilles. L'analyse de la variance a présenté des différences très hautement significatives pour tous les facteurs étudiés ainsi que leurs interactions. La figure 13-C illustre une évolution dégressive à partir de l'épiaison jusqu'à atteindre des taux très faibles, 2004/2005. Par contre, en année plus favorable, elle reste assez stable avec maintien de cette concentration tout au long des périodes de prélèvement.

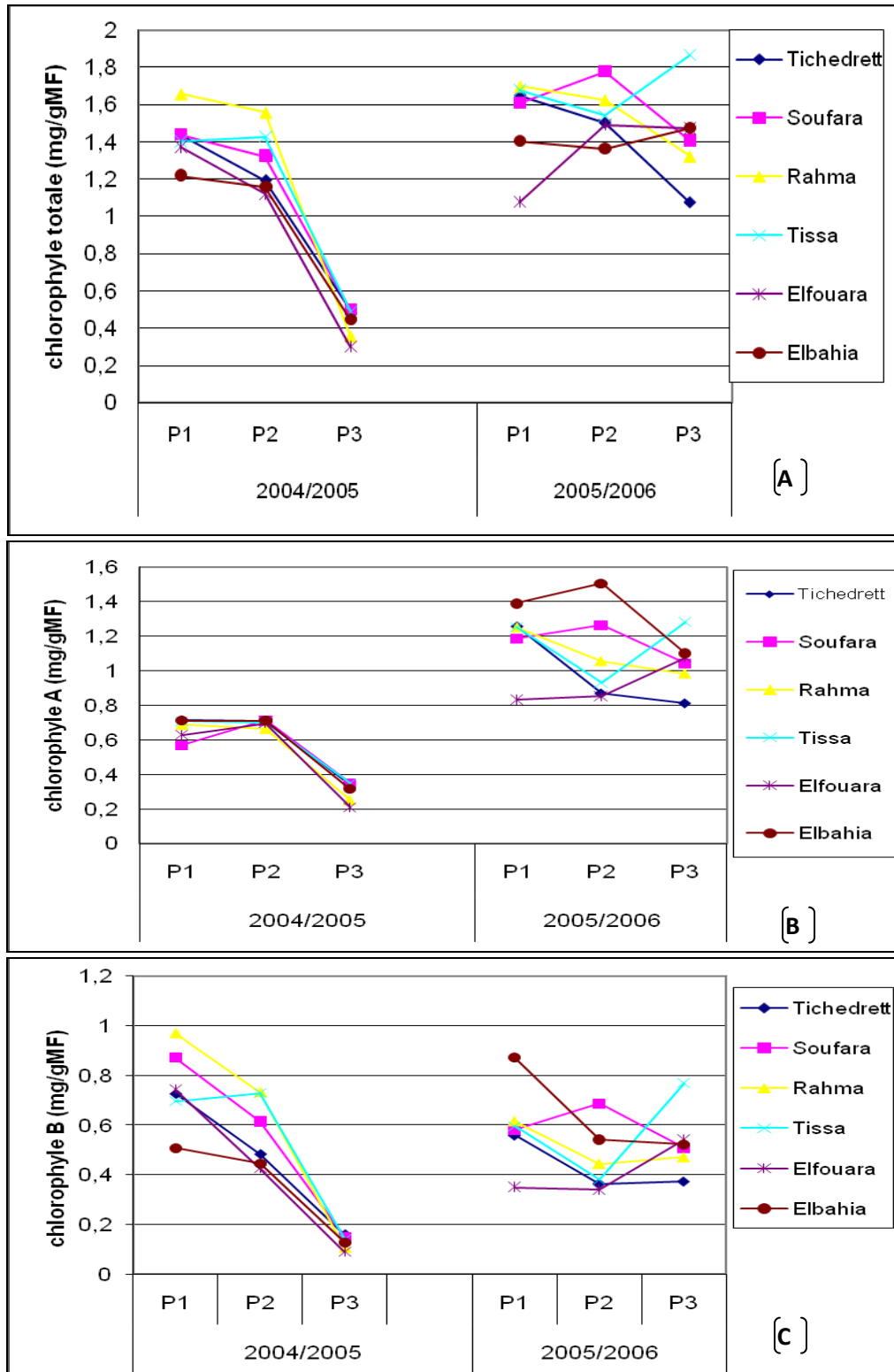
Le maintien de la turgescence lors d'un déficit hydrique permet de retarder la fermeture des stomates (Passioura, 1996), de maintenir le volume chloroplastique et de réduire le

flétrissement foliaire (Blum et Ebercon, 1981 ; Medrano *et al.*, 2003). Cette aptitude confère à la plante une meilleure tolérance au déficit hydrique interne.

Chez l'orge, l'activité de la fluorescence est considérée comme un important caractère physiologique intervenant dans sa productivité et peut être considéré comme critère de sélection (Sarrafî *et al.*, 1987 ; Marcial et Sarrafî, 1996). Le maintien d'une surface foliaire verte (stay green), est considéré comme un indicateur de la résistance à la sécheresse après l'épiaison (Borrell *et al.*, 2000). Ce trait peut indiquer la présence de mécanismes d'évitement de la sécheresse, mais il ne peut pas contribuer à l'augmentation du rendement s'il n'y a pas d'eau dans le sol à la fin du cycle pour soutenir les échanges gazeux foliaires. Cependant, chez le sorgho le maintien d'une surface foliaire verte est associé à la plus forte teneur en chlorophylle des feuilles à tous les stades du développement, et les deux sont associés à une amélioration du rendement et l'efficacité de transpiration en cas de sécheresse (Borrell *et al.*, 2000). Gunasekera *et al.* (1994) ont constaté que les génotypes qui ont maintenu une photosynthèse élevée en potentiel hydrique foliaire faible sont les mieux acclimatés lorsqu'ils sont exposés à des déficits en eau et subissent un ajustement osmotique élevé sous stress.

Stay-green est considéré comme un comportement important dans le maintien de rendement moyennement élevé en conditions de sécheresses survenant durant le remplissage du grain (Sanchez *et al.*, 2002). Si on compare le taux de chlorophylle enregistré au cours des deux campagnes, on remarque que la sécheresse réduit considérablement les chances de la plante de garder une activité photosynthétique longue et peut être raccourcie drastiquement (figure 13-A). La concentration en chlorophylle totale à l'épiaison au cours de 2004/2005 est en dessous de celle noté pour la seconde campagne même après dix jours de l'épiaison.

Les génotypes diffèrent en stay-green: ainsi, Rahma, Tissa et Soufara ont maintenu une concentration élevée en chlorophylle dix jours après l'épiaison mais au bout de vingt jours ils rejoignent les autres variétés pour atteindre la sénescence des feuilles, dans des conditions de sécheresse. En condition bien arrosée, Tichedrett accélère sa sénescence par une diminution du taux de chlorophylle totale par rapport aux autres variétés. Les génotypes du type stay-green retiennent longtemps leurs photosynthétats dans les feuilles (Borrell et Hammer, 2000) et dans les tiges, alors qu'une sénescence des feuilles rapide sous stress, indique une remobilisation des réserves dans les grains (Yang *et al.*, 2001).



**Figure 13.** Évolution du taux de chlorophylle dans les feuilles des géotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006. A : chlorophyle totale ; B : chlorophylle A ; C : chlorophylle B ; P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison)

## 1.2. Caractères biochimiques

Les sucres solubles ont présenté des taux très différents d'un génotype à l'autre et varient selon les conditions du milieu (Tableau 7). L'analyse de la variance a présenté des différences très hautement significatives pour tous les facteurs génotype et année ainsi que les interactions. L'effet de la période de prélèvement n'a pas été significatif.

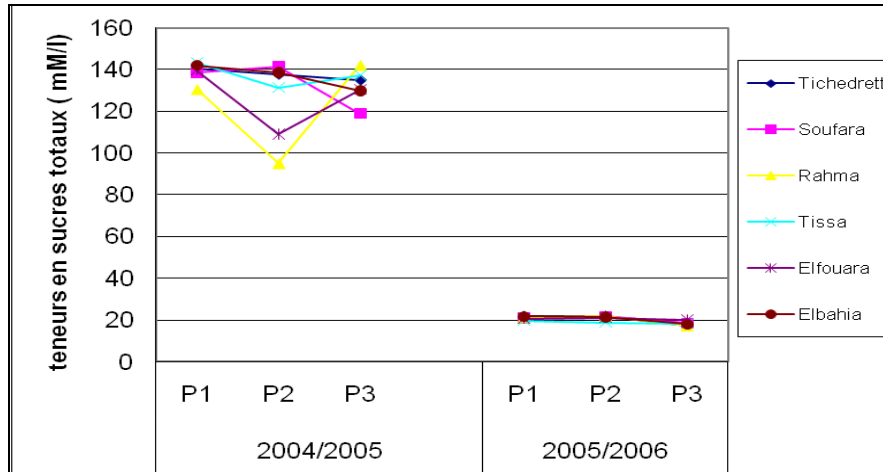
**Tableau 7.** Moyennes des variables mesurées et seuil de signification des effets principaux et des interactions indiqués par l'analyse de la variance des valeurs mesurées au cours des deux campagnes chez les 6 génotypes pour les taux de sucres solubles et de proline

	SUCRES SOLUBLES TOTAUX (mM)		PROLINE (mg/g MF)	
	A1	A2	A1	A2
<b>Tichedrett</b>	137,74	20,26	7,668	3,316
<b>Soufara's'</b>	132,90	20,29	7,344	3,333
<b>Rahma</b>	122,54	19,91	7,252	3,18
<b>Tissa</b>	137,14	18,96	7,552	3,788
<b>Elfouara</b>	126,34	20,56	8,128	3,228
<b>Elbahia</b>	136,90	20,38	7,06	3,512
<b>Effet variété (V)</b>	***		***	
<b>Annee1</b>	132,26		7,501	
<b>Annee2</b>	20,06		3,393	
<b>Effet année (A)</b>	***		***	
<b>P1</b>	79,99		5,057	
<b>P2</b>	73,29		5,652	
<b>P3</b>	75,21		5,632	
<b>Effet prélèvement (P)</b>	NS		***	
<b>Ecart type</b>	9,86		0,38	
<b>Moyenne Générale</b>	76,16		5,44	
<b>interactions V x A</b>	***		***	
<b>interactions V x P</b>	***		***	
<b>interactions P x A</b>	***		***	
<b>interactions V x P x A</b>	***		***	

P1, P2, P3, prélèvement à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison ; \*, \*\*, \*\*\*: significatif à  $P < 0.05$ , hautement significatif à  $P < 0.01$  et très hautement significatif à  $P < 0.001$ , respectivement; NS, non significatif.

Les teneurs les plus élevées sont notées durant 2004/2005 avec Tichedrett, Tissa, Bahia et Soufara avec maintien de cette concentration. Alors que Fouara et Rahma ont présenté des teneurs plus faibles et variables à partir de l'épiaison, où l'on constate, après 10 jours, qu'elle diminue de 139.5 mM/l à 108.9 mM/l ensuite elle remonte vers 130.51 mM pour Fouara et 142.0 mM pour Rahma (Figure 14). Cette variabilité suggère une très forte réactivité au déficit

hydrique par une production accrue des carbohydrates qui leur confère une résistance au stress qui selon Taji et *al.* (2002), permet une protection de la membrane cytoplasmique et réduit la transpiration foliaire.

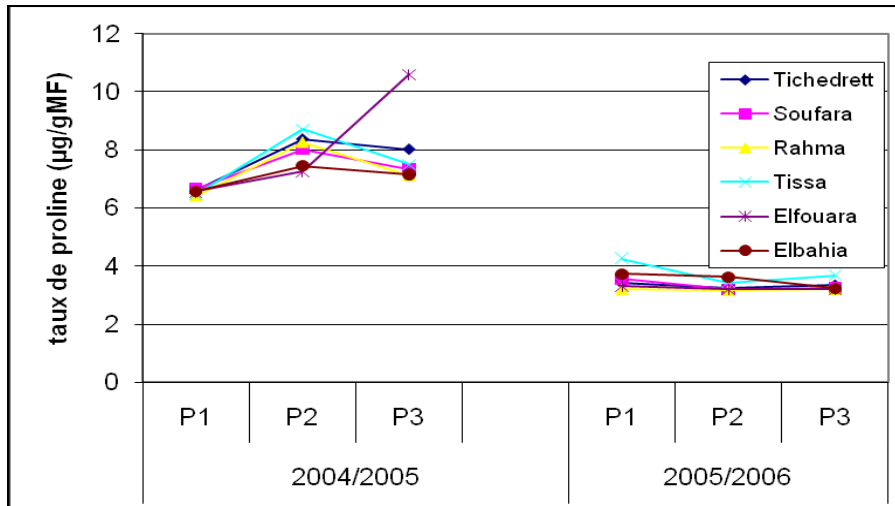


**Figure 14.** Évolution du taux de sucres solubles totaux dans les feuilles des génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006. P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison)

Le stress hydrique s'accompagne d'une modification de la répartition du carbone assimilé et réduit entre l'amidon et le saccharose : l'amidon est généralement dégradé et fournit l'énergie nécessaire aux adaptations métaboliques, de plus les sucres solubles générés participent à l'ajustement osmotique (Geigenberger et *al.*, 1997). Durant la campagne 2005/2006 une faible teneur en sucres solubles est accumulée au niveau des feuilles. Elle semble se maintenir tout au long du remplissage du grain et n'a pas changé par rapport aux variétés. La variabilité de la concentration des sucres solubles serait une forme d'adaptation en réponse aux variations du milieu (Priestley, 1977 ; Zhang et Willison, 1992a ; Repo et *al.*, 1994). En effet l'interaction génotype x année étant très hautement significative confirme la participation des sucres dans la résistance à la sécheresse.

L'accumulation de la proline dans les feuilles révèle des différences très hautement significatives pour tous les traitements (Tableau 7). Durant la campagne 2004/2005 le taux de proline a été très élevé pour tous les génotypes, elle a augmenté progressivement les dix premiers jours post épiaison pour ensuite commencer à baisser à nouveau à l'exception de Fouara qui s'est distinguée par l'augmentation de sa synthèse de proline vers la fin du cycle (Figure 15).

L'augmentation est sûrement due à la diminution de l'humidité du sol alors que la diminution à la deuxième décade est due à la remobilisation des assimilats pour une maturité précoce. Durant 2005/2006, la synthèse de proline a été réduite de moitié par rapport à la campagne précédente pour tous les individus avec une stabilité tout au long de la période contrôlée.



**Figure 15.** Évolution du taux de proline dans les feuilles des génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006. P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison)

La proline a suscité beaucoup de questions quant à la valeur adaptative réelle de sa production. L'accumulation de la proline dans des conditions de stress a plusieurs rôles physiologiques dans la protection des végétaux, par exemple, la stabilisation des protéines et des organites en agissant comme un osmoprotecteur et fournisseur d'énergie (Al-Khayri et *al.*, 2004). La proline accumulée sous stress fournit de l'énergie pour la croissance et la survie et contribue ainsi à aider la plante de tolérer le stress (Chandrashekar et Sandhyarani, 1996). Elle pourra être considérée comme un composé de stockage azotée (Barnett et Naylor, 1966) et / ou un produit métabolique lié à l'adaptation (Singh et *al.*, 1973). Son accumulation n'est pas toujours corrélée au niveau de tolérance spécifique, elle est liée à la survie plutôt qu'au maintien de la croissance (Greenway et Munns, 1980). La libre proline pourrait être impliqué dans la stabilisation des membranes pendant le stress hydrique (Kocheva et Giorgiev, 2003).

## 2. Les caractères morphologiques

La hauteur de la plante est un caractère morphologique qui semble différer d'un génotype à l'autre et est très liée aux conditions du milieu. En effet, l'analyse de la variance montre que

l'effet géotype est hautement significatif avec une hauteur élevée notée chez Bahia et son parent Tichedrett ceci durant la campagne 2004/2005. Durant 2005/2006, Bahia a maintenu sa hauteur élevée par rapport à tous les autres individus, soit 77.3 cm par rapport à la moyenne de toutes les variétés qui est de 65.57 cm (Tableau 8). En zone semi aride, la hauteur est considérée comme critère de sélection dans les programmes d'amélioration. En période de sécheresse la plante développe une hauteur élevée qui est signe de tolérance (Alhakim, 1995).

**Tableau 8.** Valeurs moyennes et résultats de l'analyse de la variance des caractères morphologiques des géotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006.

	Hauteur (cm)		LB (cm)		LE (cm)	
	A1	A2	A1	A2	A1	A2
<b>Tichedrett</b>	85,00	56,52	15,24	13,25	4,81	3,73
<b>Soufara's'</b>	64,33	55,14	11,18	8,12	7,09	5,30
<b>Rahma</b>	64,67	56,90	10,67	8,98	6,91	6,58
<b>Tissa</b>	66,67	54,20	10,97	11,43	6,33	6,10
<b>Elfouara</b>	61,67	56,10	16,43	15,15	5,63	5,00
<b>Elbahia</b>	88,33	77,33	13,06	12,63	6,32	5,32
<b>effet variété</b>		***		***		***
<b>effet année</b>		***		***		***
<b>Année1</b>		71,78		12,93		6,18
<b>Année2</b>		59,37		11,60		5,34
<b>Interaction V x A</b>		*		NS		NS
<b>Ecart Type</b>		5,68		1,19		0,62
<b>Moyenne Générale</b>		65,57		12,26		5,76

LB, longueur des barbes ; LE longueur des épis ; \*\*, \*\*\*: significatif à  $P < 0.05$ , hautement significatif à  $P < 0.01$  et très hautement significatif à  $P < 0.001$ , respectivement; NS, non significatif ; A1, campagne 2004/2005 ; A2, campagne 2005/2006. MG, moyenne générale ; CV, coefficient de variation.

La longueur des épis (LE) est très variable entre géotypes, elle a été la plus élevée chez Rahma avec 6.7 cm et les plus faible chez Fouara et Tichedrett par respectivement 5.3 et 4.2 cm. L'interaction géotype x année suggère que sous l'effet du milieu, cette longueur est différente. En 2004/2005, les épis ont été longs pour Soufara's' avec 7.0 cm, contrairement à Tichedrett dont les épis les plus courts soit 4.8 cm. par ailleurs, en 2005/2006, le géotype ayant présenté l'épi le plus long étant Rahma 6.5 cm, Tichedrett reste la plus basse avec, cette fois-ci, 3.7cm. Selon Ried (1985), la longueur de l'épi est variable entre les différents géotypes et peut être



différente au sein de la même plante comme elle est sujette à la grande influence de l'environnement. La longueur des barbes est souvent considérée comme critère de sélection pour la résistance à la sécheresse chez les céréales (Grignac, 1981). L'effet génotype et l'effet année sont très hautement significatifs avec Fouara et Tichedrett qui ont présenté les barbes les plus longs quelque soit l'année. Rahma a présenté les barbes les plus courtes durant 2004/2005 et Soufara pour l'année qui suit. Le développement de longues barbes permet le maintien de l'activité photosynthétique après la sénescence de la dernière feuille et reflète une tolérance à la sécheresse (Febrero et *al.*, 1991).

Nous avons constaté que les caractères morphologiques augmentent de taille sous l'effet d'environnement stressant et qui peut être due à l'augmentation dans le stockage des carbohydrates et de la proline qui est une forme d'azote de réserve. L'efficacité en hauteur est notée particulièrement pour Elbahia et Tichedrett et à un niveau moindre Tissa et. En longueur d'épis c'est Soufara, Tichedrett et Elbahia alors qu'en longueur de barbe c'est Tichedrett, Fouara et Elbahia qui se sont développés plus. Tichedrett et Elbahia présentent une adaptation marquante vis-à-vis du déficit hydrique en fin de cycle et semblent être les plus performantes en maintenant une morphologie supérieure.

### **3. Evolution de la biomasse aérienne**

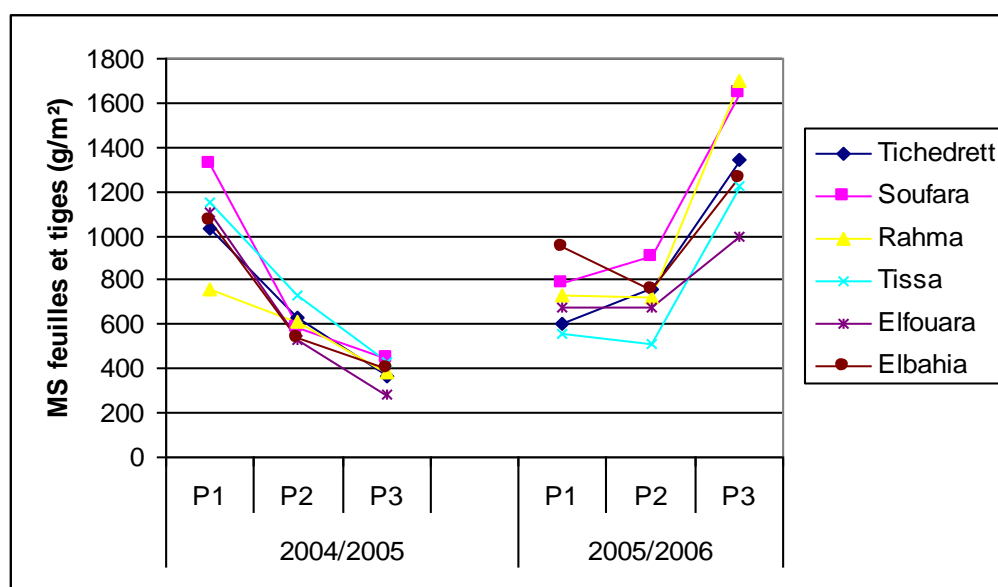
La biomasse des tiges et des feuilles est très hautement significative entre années avec une supériorité de la production au cours de la campagne 2005/2006 (Tableau 9).

L'évolution de l'accumulation de la matière sèche dans les tiges et les feuilles sont illustrées dans la figure 16. On note une diminution linéaire à partir de l'épiaison pour tous les individus durant la campagne 2004/2005 ce qui peut être expliqué par la migration précoce des assimilats vers les grains en raison de la sécheresse qui a sévié durant cette campagne contrairement qu'en 2005/2006 où on constate que la plante continue à accumuler de la matière sèche par l'augmentation de celle-ci même 20 jours après l'épiaison.

**Tableau 9.** Valeurs moyennes et résultats de l'analyse de la variance de l'évolution de la biomasse aérienne (g/m<sup>2</sup>) et sa répartition chez les génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006.

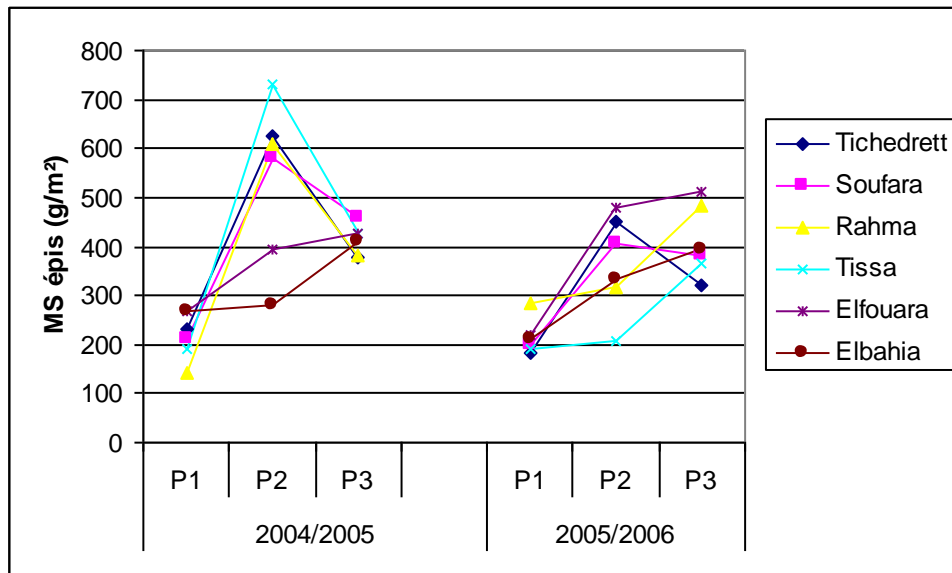
	Ms épis		MS tiges et feuilles		MS totale	
	A1	A2	A1	A2	A1	A2
Tichedrett	411,11	316,30	674,45	902,04	1085,56	1218,33
Soufara's'	417,22	328,52	786,30	1111,11	1203,52	1439,63
Rahma	376,85	362,22	582,22	1051,85	959,07	1414,07
Tissa	448,52	254,44	771,30	764,63	1219,82	1019,07
Elfouara	361,48	402,96	641,30	783,52	1002,78	1186,48
Elbahia	318,52	312,96	669,63	992,96	988,15	1305,93
effet variété (V)	NS		NS		NS	
Annee1	388,951		687,531		1076,482	
Annee2	329,568		934,352		1263,92	
Effet année (A)	*		***		*	
P1	216,111		895,602		1111,713	
P2	450,972		662,778		1113,75	
P3	410,695		874,445		1285,139	
Effet prélèvement (P)	*		**		NS	
Ecart type	152,66		327,82		432,52	
Moyenne Générale	359,259		810,941		1170,20	
interactions V x A	NS		NS		NS	
interactions V x P	NS		NS		NS	
interactions P x A	*		***		***	
interaction Vx P x A	NS		NS		NS	

P1, P2, P3, prélèvement à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison. \*, \*\*, \*\*\*: significatif à P < 0.05, hautement significatif à P < 0.01 et très hautement significatif à P < 0.001, respectivement; NS, non significatif.



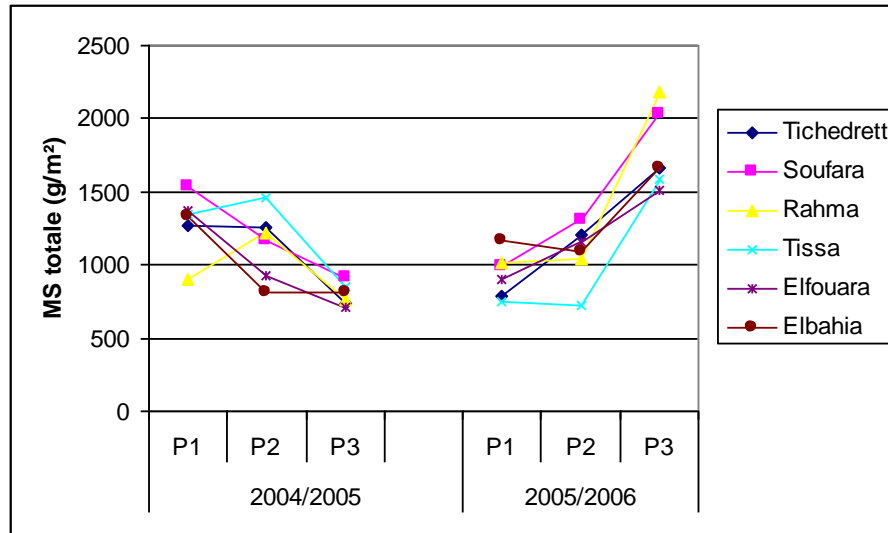
**Figure 16.** Evolution de la matière sèche des tiges et feuilles de quelques génotypes d'orge suivie au cours de deux campagnes 2004/2005 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison).

La matière sèche des épis reflète l'évolution du remplissage du grain (Figure 17). Durant 2004/2005, les épis ont démarré avec un poids similaire qui ensuite semblent se départager 10 jours après l'épiaison avec la supériorité de Tissa et la faiblesse de Bahia, mais ils ont fini par atteindre le même poids au bout de 20 jours. Le remplissage du grain semble se réaliser en un temps très court soit les 10 jours qui suivent l'épiaison pour ensuite commencer le dessèchement qui marquera la maturité physiologique des grains. Pour la campagne 2005/2006, on note que la période de remplissage se prolonge jusqu'à 20 jours après l'épiaison et même plus en raison de la disponibilité en eau et de la clémence des températures



**Figure 17.** Evolution de la matière sèche des épis de quelques géotypes d'orge suivi au cours de deux campagnes 2004/2005 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison).

Globalement, on estime que la matière sèche totale diminue quand les conditions climatiques sont défavorables (figure 18).



**Figure 18.** Evolution de la matière sèche totale des génotype=orge suivi au cours de deux campagnes 2004/205 et 2005/2006 (P1, P2, P3, prélèvement effectué à l'épiaison, 10 jours après l'épiaison et 20 jours après l'épiaison).

La différence de production de biomasse est de 187.44g/m<sup>2</sup> pour une différence de pluviométrie de 10.8 mm entre les deux campagnes. La différence réside dans la répartition des pluies, où on constate que le mois de mai à lui seul s'est caractérisé par 88 mm de précipitations en 2005/2006, avec une continuité de production de biomasse par la plante, contre seulement 2.2 mm pour 2004/2005 avec une réduction progressive de la biomasse totale. La durée de remplissage du grain et le cycle de croissance contribuent considérablement à l'augmentation du rendement des cultures (Garcia del Moral *et al.*, 1991).

#### 4. Précocité à l'épiaison

L'épiaison détermine la durée des phases de développement, lesquelles jouent un rôle important dans l'élaboration des composantes du rendement et dans l'évitement des effets climatiques défavorables. Au cours des deux campagnes suivies, une homogénéité entre les génotypes étudiés a été notée pour la durée du cycle levée-épiation. Une différence de 2 à 3 jours a été observée (Tableau 10). Par contre, une variabilité est notée par rapport à l'environnement. Au cours de la première campagne, l'épiaison a été retardée de 12 jours en moyenne comparativement à la campagne 2005/2006. Le génotype Soufara a accusé un retard à chaque campagne, par rapport aux autres variétés et qui a varié de 3 à 4 jours.

**Tableau 10.** Variation du cycle végétatif des génotypes d'orge durant les campagnes 2004/2005 et 2005/2006.

Variétés	Campagne 2004-2005	Campagne 2005-2006
<b>Soufara</b>	136	126
<b>Tichedrett</b>	136	123
<b>El Fouara</b>	136	123
<b>El Bahia</b>	136	122
<b>Rahma</b>	133	122
<b>Tissa</b>	133	122

L'orge, comme beaucoup d'autres espèces, perçoit une série de signaux environnementaux et développe des signaux internes pour contrôler la floraison, ce qui explique la différence observée entre les deux campagnes. Le retard à l'épiaison est expliqué par l'exigence en vernalisation et en photopériode. De ce fait, elles sont moins aptes à éviter le déficit hydrique et les hautes températures de fin de cycle. La première campagne s'est distinguée par des températures moyennes basses au cours des mois de mars et avril. Ces mêmes mois ont été marqués par une élévation au cours de la deuxième campagne soit 3°C de plus pour le mois de mars et 10°C de plus pour le mois d'avril. Ces températures sont suffisantes pour accroître la croissance de la plante et déclencher une épiaison précoce. On peut déduire que la durée d'épiaison courte reflète une campagne à hiver doux et à chaleur précoce. Par contre, la tardivité est favorisée par les années à printemps gélif.

Beaucoup d'auteurs s'accordent pour dire qu'en jouant avec la précocité il est possible d'éviter la coïncidence des phases critiques du cycle avec les dates d'occurrence maximales de certains accidents climatiques (hautes températures, déficit hydrique). Ils renvoient au concept d'évitement, ou d'esquive, ou de tolérance définie par Levitt (1972). La précocité constitue donc un important mécanisme d'évitement. Elle peut être réalisée soit par les techniques culturales ou par la voie la voie génétique. La précocité à l'épiaison est utilisée comme critère de sélection pour améliorer les productions dans les zones sèches par plusieurs programmes de sélections

### **5. Composantes du rendement et rendement**

Les écarts entre les moyennes du nombre d'épis au mètre carré, du nombre de grain/m<sup>2</sup>, le poids de 1000 grains, le rendement en grains, de la biomasse à maturité et du rendement en paille sont en faveur de la campagne 2005/2006 (Tableau 11). Le rendement en grain au cours de cette campagne a été favorisé par la densité des épis et le poids de mille grains. La faiblesse d'expression de ce dernier caractère au cours de la campagne 2004/2005 explique le rendement bas obtenu. En effet, la première campagne s'est caractérisée par une période de remplissage du grain sèche et courte ce qui a accéléré la maturation du grain ce qui s'est traduit par la réduction de son poids. Par ailleurs, les conditions favorables survenant en fin de cycle de la campagne 2005/2006 ont contribué à prolonger la période de remplissage et permettre ainsi au grain d'avoir un poids élevé, soit un gain de 24.59 g presque le double du PMG réalisé au cours de la campagne 2004/2005 ce qui équivaut à un gain de rendement en grains de 234.08 g/m<sup>2</sup>. L'indice de récolte a été relativement identique pour les deux campagnes en raison de l'amélioration de la production de la biomasse au cours de la seconde année. La biomasse totale à maturité et le rendement en pailles sont conditionnés par l'effet du milieu (Bouzerzour et *al.*, 1998).

**Tableau 11.** Valeurs moyennes et résultats de l'analyse de la variance du rendement et de ses composantes des génotypes d'orge au cours des deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006.

	NE		NGE		PMG (g)		RDT (g/m <sup>2</sup> )		MSTM (g/m <sup>2</sup> )		MSP (g/m <sup>2</sup> )		IR	
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
Tichedrett	413,33	400,00	35,93	35,23	33,00	57,79	338,00	590,77	798,00	1533,33	396,00	726,67	0,43	0,39
Soufara's'	523,33	776,67	20,27	18,37	26,03	46,83	193,67	467,03	624,33	1600,00	234,33	900,00	0,31	0,30
Rahma	710,00	866,67	19,67	20,93	28,81	48,34	285,00	548,07	758,33	1570,00	354,67	763,33	0,39	0,35
Tissa	653,33	623,33	24,73	22,03	27,55	52,45	202,00	455,70	867,67	1473,33	365,33	790,00	0,27	0,34
Elfouara	443,33	503,33	44,87	37,60	25,55	53,93	358,33	408,03	977,00	1223,33	457,00	526,67	0,37	0,34
Elbahia	423,33	403,33	39,40	34,90	30,26	59,41	301,67	613,53	857,33	2230,00	440,00	1216,67	0,36	0,30
effet variété (V)	**		***		***		NS		NS		NS		NS	
Annee1	527,78		30,81		28,53		279,78		813,78		374,56		0,35	
Annee2	595,56		28,18		53,12		513,86		1605,00		820,56		0,34	
effet année (A)	NS		NS		***		***		***		***		NS	
Interaction V x A	NS		NS		NS		NS		NS		NS		NS	
ET	164,17		5,22		2,92		92,53		448,28		310,88		0,07	
MG	561,67		29,49		40,83		396,82		1209,39		597,56		0,35	

NE, nombre d'épis ; NGE, nombre de grains par épi ; PMG, poids de mille grains ; RDT, rendement ; MSTM, matière sèche totale à maturité ; MSP, matière sèche de la paille ; IR, indice de rendement ; \* , \*\* , \*\*\* : significatif à P < 0.05, hautement significatif à P < 0.01 et très hautement significatif à P < 0.001, respectivement; NS, non significatif ; MG moyenne générale.

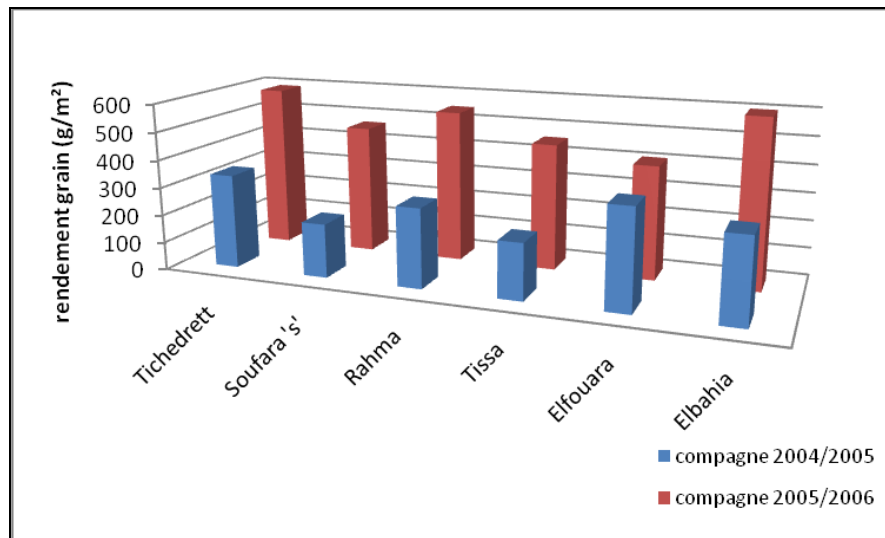
La densité épis présente des différences hautement significatives entre géotypes et ne semble pas être affecté par l'effet du milieu ni de son interaction avec le géotype. Rahma s'est caractérisé par son nombre élevé d'épis soit 788.33 épis/m<sup>2</sup> contrairement à Elfouara, Elbahia et Tichedrett dont le taux le plus bas soit respectivement 473.33, 413.33 et 406.66 épis/m<sup>2</sup>. Les autres individus Soufara's' et Tissa ont présenté des valeurs intermédiaires respectivement 650 et 638.33 épis/m<sup>2</sup>.

La fertilité, exprimée par le nombre de grains par épis, est un paramètre qui semble être conditionné par le géotype. En effet, il en ressort deux groupes de géotypes, Elfouara, Elbahia et Tichedrett avec une fertilité élevée et le groupe de Tissa, Rahma et Soufara's' peu fertiles. Le poids de mille grains est largement dépendant du géotype et du milieu. Durant la campagne 204/2005, le PMG le plus élevé est noté pour Tichedrett suivie par Elbahia. Elfouara, quant à elle, elle a réalisé le PMG le plus bas. Au cours de la seconde campagne, Elbahia et Tichedrett restent supérieurs aux autres individus alors que le PMG le plus bas est réalisé par Soufara's'.

Le rendement s'est caractérisé par l'absence de différence entre individus ce qui est sûrement dû au fait que ses variétés ont été sélectionnées pour leur aptitude à être plus performant que le géotype local c'est-à-dire pouvoir donner un rendement plus élevé que peut offrir Tichedrett en conditions favorables et un rendement qui doit être supérieur ou égal à ce témoin quand le milieu est moins clément.

On note pour la première campagne la performance de Fouara avec 35,8 q/ha, elle dépasse Tichedrett et Elbahia d'environ 2q/ha et de 5q/ha respectivement. Les autres variétés ont été affectées par les conditions du milieu et n'ont pas pu atteindre le rendement du témoin local Tichedrett. Au cours de la deuxième campagne, Elbahia, Tichedrett et Rahma ont largement dépassé les autres géotypes (Figure 19).





**Figure 19.** Rendement en grains des génotypes d'orge suivi au cours de deux campagnes 2004/205 et 2005/2006.

Les composants du rendement sont déterminés successivement au cours du développement de la céréale, exerçant des effets compensatoires entre elles. L'élaboration du rendement implique l'enchaînement de multiples mécanismes liés à la croissance et au développement des peuplements végétaux en relation avec les facteurs et conditions du milieu (Combe et Picard, 1994). Chaque composante du rendement pourrait être affectée par des déficits d'eau temporaires, dont l'ampleur dépendra de l'étape de développement de la plante lorsque ces conditions se produisent. Une réduction de l'humidité du sol se traduit par une diminution du rendement, le développement du système reproducteur de céréales est vulnérable au manque d'eau. Une sécheresse imposée en fin de cycle, cas de la campagne 2004/2005, a réduit le rendement et le PMG de plus de 50%. La fertilité n'a pas été affectée par le stress, sûrement due au fait que la pollinisation s'est déroulée en conditions adéquates que ce soit en termes de températures ou d'humidité du sol. La précocité a permis l'évitement de la sécheresse précoce typique au mois de Mai. En effet, le système reproducteur est vulnérable aux conditions du milieu au moment de l'épiaison et affectent principalement le nombre de grains et le rendement final en raison du nombre de grains produits par épi (Cooper et *al.*, 1994). Par ailleurs, si la fertilité a échappé à la sécheresse, le PMG n'a pas été épargné au cours de la première campagne d'étude. Le stress hydrique tardif a raccourci la période de remplissage du grain, car il conduit à la dessiccation prématurée de l'endosperme et limite la taille des caryopses. La réduction de

rendement est donc principalement due à une réduction du poids du grain produit (Gibson et Paulsen, 1999).

## **6. Corrélations entre les caractères étudiés**

Une matrice de corrélation totale pour les six génotypes a été effectuée pour les deux campagnes pour faire ressortir les relations qui existent entre les caractères physiologiques, biochimiques, morphologiques et le rendement vis-à-vis des variations du milieu. Au cours de la première campagne, les génotypes qui ont développés une densité épis élevée sont ceux dont le taux de chlorophylle A est élevé ( $r=0.863^*$ ). Alors que ceux qui ont une fertilité élevée ont produit beaucoup de paille ( $r=0.844^*$ ) et moins de chl a et b (respectivement  $r = -0.909^*$  et  $-0.924^*$ ). Le poids de mille grain est positivement corrélé à la hauteur de la tige ( $r=0.853^*$ ). Le rendement élevé augmente l'indice de récolte ( $r=0.825^*$ ) et plus on a une forte biomasse plus nous avons de la paille produite à maturité ( $r= 0.912^*$ ). Par ailleurs, les génotypes dont la production de paille est élevée ont présenté une pression osmotique élevée ( $r=0.919^*$ ). Les génotypes qui ont de longues barbes ont de petits épis ( $r=0.837^*$ ), ils ont une bonne fertilité, soit un nombre de grains par épi élevée ( $r=0.906^*$ ) ce qui leur permet de donner un rendement élevé ( $r=0.843^*$ ). Un taux de chl A élevé a caractérisé les génotypes ayant un taux de sucres soluble élevé ( $r=0,878^*$ ). La chlorophylle totale augmente avec la chl B ( $r=0,952^{**}$ ). La production de la biomasse totale est favorisée par une production de biomasse épi ( $r=0.842^*$ ) et la biomasse des tiges et des feuilles ( $r=948^{**}$ ).

Au cours de la campagne suivante, les génotypes ayant une forte densité des épis ont moins de grains par épis ( $r=-0.887^*$ ), un poids de mille grains réduits ( $r=-0.953^{**}$ ) et de courtes barbes ( $r=-0.844^*$ ). La fertilité est élevée chez les individus dont le poids de mille grains et la longueur des barbes sont élevés (respectivement  $r=0.853^*$  et  $r=0.928^*$ ) la matière sèche totale à maturité a été favorisée par la production de paille ( $r=0.970^{**}$ ), la hauteur de la tige ( $r=0.909^*$ ) et la bonne teneur en chlorophylle A et B (respectivement  $r=0.874^*$  et  $r=0.938^*$ ). Alors que la paille est corrélée à la longueur de la tige ( $r=0.819^*$ ) et seulement la chlorophylle A élevée ( $r=950^{**}$ ). La teneur élevée de la chlorophylle B favorise la longueur des tiges ( $r=0.977^{**}$ ). La pression osmotique augmente avec l'augmentation de la concentration en sucre soluble ( $r=0.894^*$ ) ce qui favorise la production de la biomasse des épis, alors qu'elle diminue avec l'augmentation du taux

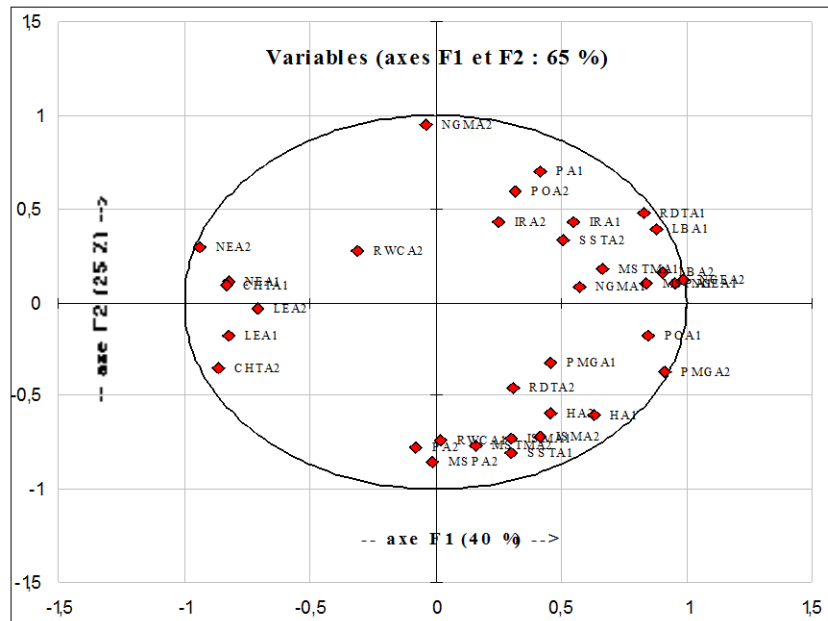
de proline dans les feuilles ( $r=-0.974^{**}$ ). Ce dernier semble diminuer avec l'augmentation de la biomasse des épis ( $r=0.882^*$ ).

Nos résultats s'accordent avec ceux de Subhani et Chowdhry (2000) ont signalé que dans des conditions de sécheresse, le rendement en grains est significatif et positivement corrélée avec la surface foliaire, la hauteur de la plante et le poids de 1000 grains. Gupta et *al.*, (2001) et Muzammil (2003) ont également observé un déclin substantiel de la hauteur des plantes quand le manque d'eau survient au stade épiaison, par contre les génotypes tolérants atteignent des hauteurs plus élevées, qui est le cas de Fouara, Tichedrett et Elbahia vs Soufara's' Rahma et Tissa. Le nombre de grains par épi est déterminé très tôt, au stade tallage (Varlet Granchet et Pluchard, 1986), les conditions défavorables lors de cette phase affectent principalement le nombre de grains par épillet. Selon Ceccarelli (1987), le déficit hydrique durant la phase précoce de développement de la plante induit une diminution de primordiums épillets, tandis que le déficit d'eau à la fin de développement augmente la mort de la fleur et l'épillet entier. Le nombre de grains par épi (fertilité) dépend de la disponibilité de l'eau au cours de la première phase végétative et pendant la phase tallage. Si le déficit d'eau se produit après la floraison, il induit une diminution du poids du grain et donc le rendement. Les rendements réduits sont principalement attribuable à un faible poids du grain et très peu au nombre de grain peu élevé (Sofield et *al.*, 1977; Tashiro et Wardlaw, 1990). On peut dire que le poids du grain au cours de la phase de maturité est affecté par le stress hydrique. L'effet est aussi important que le niveau d'eau critique (niveau de stress) est élevé et long, ce qui confirme le rendement de la première campagne.

## **7. Analyse en composantes principales**

Outre la matrice de corrélation des génotypes étudiés avec leurs variables, une analyse en composantes principales a été réalisée, afin de déterminer les variables qui contribuent à l'expression du rendement des différents individus (figure 20). Les quatre premiers axes de cette analyse expliquent 92% de la variation disponible. Au premier axe, qui explique 40% de la variation totale, sont positivement corrélées les variables suivantes: Les variables de la campagne 2004/2005 dont la fertilité, le rendement, la matière sèche totale et celle de la paille, l'indice de récolte, la hauteur, la longueur des barbes et épis et la biomasse des épis. Les paramètres physiologiques qui leurs sont associés sont un potentiel osmotique élevé et une forte teneur en

sucres solubles. Les variables de la campagne 2005/2006 avec la fertilité, le poids de mille grains, la longueur des barbes et des épis et la teneur en sucres solubles. Les variables qui sont corrélées négativement à l'axe1 sont la densité épis, la longueur des épis des deux années, la biomasse des épis, le taux de chlorophylle totale des deux campagnes.



**Figure 20.** Structure des caractères physiologiques, biochimiques et agronomiques des génotypes d'orge au cours des deux campagnes 2004/2005 et 2005/2006 sur le plan 1-2. (A1, 2004/2005 ; A2, 2005/2006 ; RDTA1-RDTA2 rendement A1 et A2, MSTMA1-MSTMA2 biomasse totale à maturité A1 et A2, MSPA1-MSPA2 biomasse de la paille en A1 et A2, IRA1-IRA2 indice de rendement en A1 et A2, HA1-HA2 hauteur en A1 et A2, NEA1-NEA2 nombre d'épis en A1 et A2, NGEA1-NGEA2 nombre de grains par épi en A1 et A2, PMGA1-PMGA2 poids de mille grains en A1 et A2, LBA1-LBA2 longueur des barbes en A1 et A2, LEA1-LEA2 longueur épis en A1 et A2, RWCA1-RWCA2 teneur relative en eau en A1 et A2, SSTA1-SSTA2 sucres solubles en A1 et A2, PA1-PA2 proline en A1 et A2, POA1-POA2 proline en A1 et A2, ISMA1-ISMA2 indice de stabilité membranaire en A1 et A2, CHTA1-CHTA2 chlorophylle totale en A1 et A2, CHAA1-CHAA2 chlorophylle A en A1 et A2, CHBA1-CHBA2 chlorophylle B en A1 et A2).

L'axe 2, qui explique 25% de la variation totale, définit, du côté positif, la biomasse des épis à l'épiaison et la pression osmotique de la seconde année. Du côté négatif de cet axe, nous avons: la matière sèche totale à maturité, celle de la paille, celle des épis, des tiges et feuille et la hauteur de la campagne 2005/2006. Pour les paramètres physiologiques et biochimiques nous avons la teneur relative en eau, les sucres, la proline, l'indice de stabilité membranaire et la

chlorophylle A de la campagne 2004/2005. Pour la campagne 2005/2006 la proline, la pression osmotique, l'indice de stabilité membranaire et la chlorophylle A et B.

L'axe 3 dont 17% de variation définit positivement la teneur relative en eau, la biomasse totale à maturité et celle des tiges et feuilles et le rendement grain pour la campagne 2005/2006. Négativement à cet axe nous avons, seulement, la biomasse totale de la première campagne. L'axe 4 dont 10% de la variation totale est représenté positivement par le PMG de la première campagne et l'indice de rendement de la seconde.

La projection des points moyens de nos génotypes sur nos axes 1 et 2 montre, suivant l'axe 1, l'accord entre les deux génotypes Soufara et Rahma qui se caractérisent par leur tallage épi, la longueur de leurs épis et leurs biomasse ainsi que la forte teneur en chlorophylle totale par ailleurs, elles sont peu fertiles, produisent moins de biomasse en conditions défavorables et des tiges et des épis et barbes peu longs. Ce sont les individus qui ont offert le rendement le plus bas sous l'effet de manque de pluies. En effet elles ont semblé manquer de paramètres leurs permettant de résister à de telles condition, en plus des paramètres morphologiques nous avons les paramètres physiologique dont le potentiel osmotique élevé (figure 21).

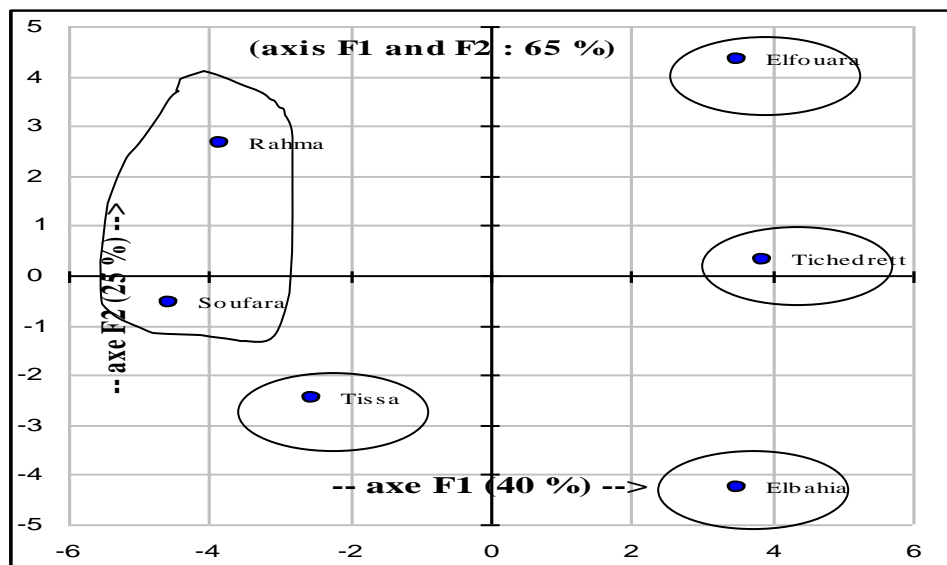


Figure 21. Répartition des génotypes sur le plan 1-2.

Suivant l'axe 2 nous avons deux génotypes qui s'opposent. Sur le coté positif, nous avons Fouara qui en donne une forte biomasse des épis en condition favorable avec un potentiel osmotique élevé alors qu'en conditions moins bonnes, elle semble accumuler plus de proline que

les autres génotypes. Sur le coté négatif de l'axe 2, Bahia s'est caractérisé par son développement de la biomasse et de la hauteur au cours de la seconde campagne ceci en développant une pression osmotique élevé avec une forte accumulation de proline, une membrane à intégrité élevé et une teneur élevée en chlorophylle A et B. En conditions stressante, elle réussi à produire beaucoup plus de tiges et de feuille avec une teneur relative en eau élevé, et une forte accumulation de sucre et de proline tout en gardant une stabilité membranaire élevée. A l'axe 3, seule Tissa lui est corrélée et positivement. Elle s'est caractérisé par sa production en biomasse totale élevée en condition de stress, contrairement, quand le milieu est plus favorable son potentiel est plus bas du fait qu'elle produit peu de biomasse et présente le rendement bas sans toute fois oublier de mentionner sa faible teneur relative en eau. Sur l'axe 4, seul le génotype local Tichedrett est corrélé et qui s'est caractérisé par son poids de mille grains élevé en condition défavorables et son indice de récolte élevé quand le milieu est plus favorable.

Les changements physiologiques et biochimiques sont une conséquence de la capacité de la plante de survivre à des déficits hydriques sévères, ce qui est du à sa capacité de limiter les pertes d'eau à travers l'épiderme des feuilles après que les stomates aient atteint une ouverture minimale (Eljaafari, 2000). La variété Fouara est désignée par son adaptation spécifique aux environnements favorables. Elle est adaptée spécifiquement aux zones dont le potentiel de production est relativement plus élevé (Menad et *al.*, 2011). Dans notre étude, Fouara a été performante en environnement défavorables, par le développement d'un nombre de grains par épis élevé, et en réponse aux conditions stressantes par une accumulation de la proline ce qui lui a permis de surpasser en rendement. Bahia est spécifiquement adaptée aux zones caractérisées par de fortes contraintes abiotiques (Menad et *al.*, 2011). En effet, elle s'est distinguée, en année défavorable, par une RWC, un ISM, et un taux de sucres solubles élevés par conséquent une adaptation qui se traduit par un rendement moyennement bon.

D'après Menad et *al.* (2011), Rahma est considérée comme étant une variété à large adaptation et à stabilité moyenne dues à sa grande sensibilité aux variations environnementales et est le plus souvent associée aux environnements à haut rendement (Kadi et *al.*, 2010). En effet, on a noté sa très faible fertilité par rapport aux autres génotypes quelque soit l'année mais elle arrive à se rattraper par son tallage et son PMG pour maintenir un rendement moyen en conditions défavorables. Physiologiquement, elle s'est distinguée par sa teneur en chlorophylle élevée. Le génotype Soufara's est considéré comme étant adapté aux environnements favorables

permettant des rendements élevés alors qu'une forte instabilité est attribuée à Tissa (Kadi et *al.*, 2010). En effet, ces deux génotypes ont eu les rendements en grains les plus bas en environnement défavorable malgré le développement de mécanismes adaptatifs au stress abiotique que se soit par le biais de la RWC, l'ISM ou encore la teneur en chlorophylles élevés. Par ailleurs, le tallage épis élevé ne leur a pas permis d'éviter à un bas rendement suite à leur faible fertilité. Les génotypes à deux rangs, Soufara, Rahma et Tissa, se sont caractérisées par leur faible fertilité quelque soit l'environnement mais l'instabilité du PMG permet l'amélioration du rendement en années favorable surtout pour Rahma. Selon Blum (1985), les orges à deux et six rangs ont un taux de carbone échangeable différent qu'il associe à la densité épis et à la longueur des barbes. En effet, on peut expliquer cette différence en carbone est due surtout à leur capacité photosynthétique exprimée par le taux de chlorophylle (totale, a et b) élevé même sous environnement défavorables.

La variété Tichedrett a une adaptation générale vis-à-vis d'une majorité d'environnement, particulièrement à ceux qui sont défavorables permettant des rendements bas (Kadi et *al.*, 2010 ; Menad et *al.*, 2011). Elle présente un rendement au dessous de la moyenne. En effet, au cours de notre étude nous avons noté qu'elle venait en seconde position pour le rendement en grains quelque soit l'année, avec une fertilité et un PMG stables et élevés. Les génotypes à rendement élevé sont relativement peu stables en effet, sous stress, il faut sélectionner des génotypes moins performants. Les génotypes très productifs souffrent une plus grande réduction du rendement sous stress hydrique comparativement aux génotypes au rendement modéré (Ceccarelli et *al.*, 1998). Clarke et *al.* (1992) ont qualifié de l'absence de réponse aux conditions optimales pour le manque d'adaptation du génotype aux conditions favorables, tandis que Ceccarelli et Grando (1991) ont déclaré que les génotypes à faible potentiel de rendement ont été ceux à rendement supérieures en conditions de stress. En fait, les gènes contrôlant le rendement dans les deux conditions sont différentes (Rosielle et Hamblin, 1981).

D'après Lahmar (1993), les variétés sélectionnées en zone semi aride algérienne présentent une grande élasticité des rendements mais aussi un risque important, souvent inévitable dans cette région dû au froid et à la sécheresse. Ce qui expliquerait la préférence des agriculteurs pour les variétés locales plutôt stables et à six rang. En effet, les variétés telle que Tichedrett semblent être programmées pour investir plus dans les talles, qui est un caractère se tolérance au stress s'il est associé à un bon rendement grains.

## Conclusion

Les paramètres de rendement sont les traits les plus importants dans la sélection agronomique des génotypes tolérants aux conditions de la région semi aride. L'effet différentiel peut s'expliquer par les différences dans les composantes du rendement entre les variétés. Les caractères morphologiques diffèrent entre individus et sont fortement corrélés aux conditions du milieu. Cette variabilité morphologique confère aux génotypes une élasticité qui assure à la plante une adaptation et survie aux conditions extrêmes auxquelles elles sont soumises. Les changements physiologiques et biochimiques sont une conséquence de la capacité de la plante de survivre à des milieux sévères, comme sa capacité de limiter les pertes d'eau.

Les génotypes performants sont ceux dont le rendement a été le plus élevé en année à forte sécheresse terminale et sont Fouara, Tichedrett et Elbahia. Ces dernières se sont distinguées par de longues barbes, une hauteur de tiges et un PMG élevés. Ces variétés se sont pu maintenir une bonne teneur en eau mais le déficit hydrique reste un facteur déterminant de ce caractère, une membrane stable, un potentiel osmotique et une teneur en sucres élevés. Nous pouvons conclure que ce sont ces caractères qu'il faut considérer dans la tolérance à la sécheresse en fin de cycle pour la région semi aride.

Les variétés Soufara, Rahma et Tissa se retrouvent pénalisées par des rendements plus faibles à cause de leur faible fertilité qui est sous le contrôle des conditions du milieu avant l'épiaison. Par ailleurs, elles maintiennent une production en dessous de la moyenne générale du rendement de la campagne de seulement 1 à 7q/ha. Ces variétés sont du type *Stay-green*, ce qui leur a permis de garder un rendement moyennement élevé malgré la sécheresse.

Les résultats obtenus à partir de deux années d'étude indiquent que le paramètre le plus important pour la réussite de tout programme de sélection végétale est la bonne performance des génotypes en environnement de stress et un rendement maximal dans des conditions optimales. Par conséquent, deux génotypes à haut rendement et tolérants à la sécheresse de fin de cycle (les génotypes Fouara et Tichedrett) ont été identifiés comme les génotypes adaptés à la fois pour des conditions optimales et pour des périodes à déficit hydrique sévère. Les autres variétés ont une capacité de production acceptable, elles pourraient être introduites pour les régions soumises à un stress hydrique terminal.

La connaissance des gènes contribuant à l'adaptation aux conditions du milieu est une priorité pour cibler l'amélioration et la création de nouvelles variétés plus adaptées et



productives en condition difficiles. Une description génétique de la diversité de ces géotypes expliquerait les phénomènes mis en jeu dans les processus d'adaptation et de résistance au stress abiotique et pourrait même décrire plusieurs allèles rares, que l'on pourrait utiliser pour élargir la diversité ou pour créer de nouveaux cultivars.

La description génétique permet d'identifier le polymorphisme des fonctions mise en jeu pour l'adaptation aux variations environnementales et qui doit être inexorablement appuyé par un profil d'expression. Ces connaissances sont la base de la sélection assistée par marqueurs qui devient une priorité si l'on veut améliorer le processus de sélection classique. L'utilisation de marqueurs moléculaires aide considérablement la sélection par le fait que ces marqueurs ne sont pas régulés par l'environnement ou encore les conditions de mise en place et sont décelables à n'importe quel stade de la plante. Jusqu'à nos jours, aucune information n'est disponible sur la caractérisation moléculaire de ces géotypes.

*Chapitre III. Étude du polymorphisme  
génétique de quelques génotypes d'orge  
sélectionnés pour la zone semi aride*

---

## CHAPITRE III. Étude du polymorphisme génétique de quelques génotypes d'orge sélectionnés pour la zone semi aride

### Introduction

La description phénotypique a été longtemps la base de l'amélioration et de la sélection des plantes, essentiellement les caractères agronomiques liés au rendement. En conséquence, les caractères phénotypiques sont souvent biaisés par les facteurs environnementaux.

Avec la disponibilité d'une gamme de marqueurs moléculaires et cartes génétiques, la sélection assistée par marqueurs est devenu possible pour les caractères régis par des gènes majeurs, ainsi que pour les *QTL* (Francia et al. 2005 et Collard et al. 2008). Francia et al. (2004) ont élaboré une carte de marqueurs moléculaires pour le croisement d'orge Nure x Tremois, qui a ensuite été utilisé pour détecter et cartographier les gènes et *QTLs* à la fois pour les caractères liés à l'exigence en vernalisation et la tolérance au froid (Francia et al., 2004), la floraison et la résistance à la sécheresse (Tondelli et al., 2006).

Une bonne connaissance des mécanismes qui régulent les différentes voies de floraison peut être utile dans un effort de maximiser le potentiel de rendement des cultivars de céréales. La floraison est déterminée par quatre voies majeures à savoir la photopériode, la gibbérelline, la voie autonome et la vernalisation. *PPD-H1* est le gène de réponse au photopériodisme, il joue un rôle majeur dans la régulation de la période de floraison chez l'orge et est considéré comme le principal déterminant de la réponse aux jours longs. C'est un gène de la famille pseudo régulateur de réponse (*PRR*, *pseudo response regulator*) qui a un rôle dans le réglage du rythme circadien des plantes supérieures (Turner et al., 2005).

Le gène *VRN-H3* a été cartographié comme étant le gène de la période de floraison, *FLOWERING LOCUS T* de *H. vulgare* (*HvFT1*), un homologue du gène de floraison *T* d'*Arabidopsis* (*FT*) (Kobayashi et al., 1999 ; Kardailsky et al., 1999 ; Yan et al., 2006 ; Faure et al., 2007). La protéine *FT* est produite dans les feuilles quand les plants d'*Arabidopsis* sont exposés à des jours longs et est transportée à l'apex où elle favorise le développement floral (Corbesier et al., 2007). De même, l'expression de *HvFT1* dans l'orge est induite par des jours longs et peut servir d'intermédiaire pour la réponse de la floraison aux jours longs (Turner et al., 2005). Ceci exige une version active du gène, *PHOTOPERIOD1* (*PPD-H1* ; Turner et al., 2005).

Les Gènes de la famille MAD-box jouent un rôle très important dans la différenciation et le développement des organes floraux (Ng and Yanofsky, 2001; Riechmann and Meyerowitz, 1997; Theissen, 2001). Les gènes de l'orge *HvBM5* et *HvBM8* du sous groupe *SQUAMOSA* sont abondamment exprimés dans les fleurs et les tissus vasculaires (Schmitz et al. 2000).

La description des allèles *Vrn-H1* et *Vrn-H2* est suffisante pour expliquer les besoins en vernalisations de l'orge (Vonzitzewitz et al., 2005). *HvBM5a* est un gène impliqué dans l'édification du méristème floral, il est considéré comme déterminant de *VRN-H1* (Danyluk et al., 2003; Trevaskis et al., 2003; Vonzitzewitz et al. 2005; yan et al., 2003). Chez certaines variétés qui ont besoin de vernalisation, ce gène est activé par l'exposition prolongé aux températures basses (Danyluk et al., 2003; Trevaskis et al., 2003; Yan et al., 2003). Le gène *VRN1* est associé à la résistance au froid comme il est déterminant du type d'habitat avec *VRN2* (Von Zitzewitz et al. 2005).

Tondelli et al. (2006) ont cartographié plusieurs gènes candidats régulateurs impliqués dans les réponses au stress dû au froid et à la sécheresse et signalent une très forte interférence entre eux. Deux QTLs sur le bras long du chromosome de 5H ont été trouvés pour déterminer la tolérance au froid dans la population Nure x Trémois, *Fr-H2* et *Fr-H1* (distale), avec des effets additifs similaires (Francia et al.2004). Il a été démontré que *HvCBF4* était le pic d'expression du QTL *Fr-H2* (Francia et al. 2004). Les gènes *CBF* jouent un rôle important dans la tolérance à la sécheresse et sont capable de transmettre cette tolérance chez le blé (Liu et al., 1998). Haake et al. (2002) ont démontré que *CBF4* est induit en réponse à un stress osmotique. Les gènes *FRY1* et *ICE1* sont régulateurs des gènes *CBF* (Xiong et al. 2001; Chinnusamy et al. 2003). *HvMYB4* (Wissenbach et al. 1993) est cartographié sur le bras long du chromosome de 2H dans une région avec de multiples *QTL* liées à la sécheresse tel que ceux liés à l'ajustement osmotique, la RWC et des sucres solubles (Teulat et al., 2002 et Diab et al., 2004). Les gènes dehydrines sont largement impliqués dans la sécheresse, ils contrôlent la RWC et l'ajustement osmotique ( Teulat et al., 2003).

L'objectif de la présente étude est de valider l'existence de polymorphisme des gènes de la floraison et de la tolérance aux stress abiotiques, entre les variétés d'orge sélectionnée en zone semi aride algérienne. Ceci, pour aider à mieux connaître leurs réponses adaptatives en ce milieu.

## **Matériel et méthodes**

### **1. Matériel végétal**

En plus des six géotypes d'orge utilisés dans l'expérimentation du chapitre II, deux autres géotypes ont été ajoutés qui sont Nure et Tremois. Nure est une orge à 2 rangs, elle est du type hiver destiné pour l'alimentation animale. C'est une variété très productive, résistante au froid et à la sécheresse. Elle a été sélectionnée en Italie. La variété Tremois est une orge à deux rangs, d'origine française destinée à la brasserie. Elle est sensible au froid et à la sécheresse.

L'intérêt de ces deux variétés réside au fait qu'une cartographie génétique construite sur la base de la population double haploïde du croisement Nure x Tremois a permis de séparer des caractères d'intérêts agronomiques telles que la tolérance à la sécheresse et le froid, la demande en vernalisation, l'adaptation saisonnière de la croissance ainsi que la qualité brassicole.

### **2. Désignation des marqueurs**

Sur la base des gènes cartographiés par TONDELLI et *al.* (2006), FRANZIA et *al.* (2004) et Von zitzewitz et *al.* (2005) ont été choisis les marqueurs qui décrivent le type d'adaptation saisonnière, la précocité à l'épiaison, la tolérance au froid et les gènes candidats pour la tolérance à la sécheresse (Tableau 12 ; annexe 4 ; figure 22).

**Tableau 12.** Présentation des marqueurs utilisés dans la description biomoléculaires des géotypes d'orge cartographiés sur la population Nure x Tremois.

Marqueur	chromosome	Type de marqueur	description
<i>HvBM5a (VRN-H1)</i>	5H	CAPS	Facteur de transcription MADS-box, semblables à des gènes de la famille SSQUAMOSA (SQUA)
<i>HvZCCT-H (VRN-H2)</i>	4H	STS	Facteur de transcription en doigt de zinc, de répresseur de la <i>HvBM5a (VRN-H1)</i>
<i>HvFT (Vrn-H3)</i>	2H	ARMS-PCR	gène de la période de floraison, <i>FLOWERING LOCUS T</i> de <i>H. vulgare</i>
<i>PRR (PPDH1)</i>	1H	STS	pseudo régulateur de réponse ( <i>PRR, pseudo response regulator</i> ). régulation du rythme circadien de l'orge
<i>HvBM8</i>	2H	CAPS	Facteur de transcription MADS-box, semblables à des gènes de la famille SQUAMOSA (SQUA)
<i>TC138581 (LOS2)</i>	5H	CAPS	Enolase Putative impliqués dans la résistance des plantes au gel.
<i>HvCBF8</i>	5H	CAPS	Facteur de transcription de CBF/DREB
<i>HvCBF3</i>	5H	STS	Facteur de transcription de CBF/DREB
<i>HvCBF4</i>	5H	ARMS-PCR	Facteur de transcription de CBF/DREB
<i>HvCBF10B</i>	5H	STS	Facteur de transcription de CBF/DREB
<i>HvCBF12</i>	5H	ARMS-PCR	Facteur de transcription de CBF/DREB
<i>HvWRKY38</i>	6H	CAPS	facteur de transcription impliquée dans la tolérance au froid et la sécheresse
<i>TC147474 (FRY1)</i>	7H	STS	Inositol polyphosphate 1-phosphatase impliqués dans la voie de transduction du signal dépendant de l'ABA
<i>TC143232 (ICE1)</i>	7H	CAPS	Facteur de transcription régulateur de l'expression des gènes CBF
<i>Dhn3</i>	6H	STS	associés à la tolérance ou en réponse à l'apparition des basses températures ou à la déshydratation
<i>Dhn7</i>	6H	STS	

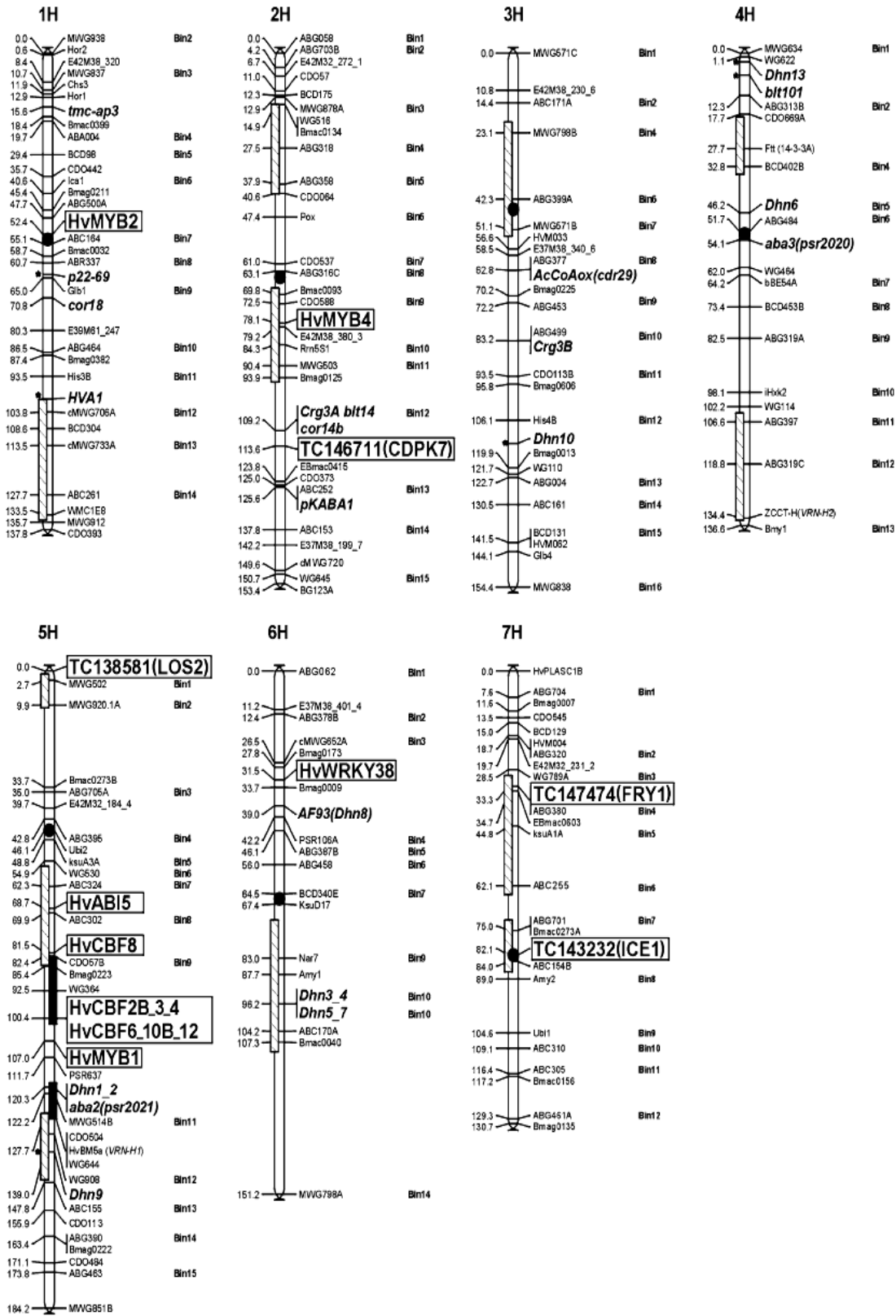


Figure 22. Cartographie génétique de la population d'orge Nure X treois (Francia et al., 2004 ; Tondelli et al., 2006)

### 3. Protocoles d'extraction de l'ADN génomique

L'extraction de l'ADN a été faite sur des feuilles vertes obtenues après semis en phytotron de graines d'orge (variétés algériennes). Les variétés à partir desquelles s'est réalisée la comparaison à savoir Nure et Tremois leur ADN est conservé au niveau du Centre de Recherche Génomiques de Fuorenziola d'arda d'Italie.

La technique d'extraction utilisée est celle du kit *promega wizzard magnetic 96 DNA plant system*. Le protocole consiste à mettre 8 mm de feuilles fraîches coupées et mises dans des tubes. On ajoute à ces feuilles les billes métalliques et 350 µl du Lysis buffer A. après fermeture des tubes on procède à la mise en marche du Mixer Mill *MM300* qui permet l'agitation des tubes pendant 1' à une vitesse de 20 Hz, 1'30'' à 20 Hz et 1' à 20 Hz. Une fois terminé, on procède à la centrifugation des tubes à 2000 tours par minute pendant 10'.

On prépare un mélange à base de MAGNESIL et de Lysis Buffer B à raison, respectivement, de 800µl et 5120µl (pour 96 échantillons et si on dispose d'un nombre moindre on doit faire la conversion) dans notre cas on a six échantillons, pour cela nous avons eu besoin de 200,1 µl et de 1281 µl.

On prend 60 µl de ce mélange que l'on met dans une palette ELISA (U), on lui ajoute 150µl du surnageant ensuite on agite 10 fois et on laisse incuber à température ambiante pendant 5'. On dépose notre palette, par la suite, sur le MAGNATBOT 96 MAGNETIC SEPARATION DEVICE. Le magnesil et l'ADN vont migrer vers les pôles magnétiques, le liquide restant est constitué d'impuretés non disponibles que l'on doit pipeter et éliminer.

On retire la palette du MAGNATBOT 96 et on ajoute 150µl de la solution de lavage. On ajoute cette solution doucement tout en remuant le contenu de la palette afin de créer un mélange homogène (mélanger en pipetant 10 fois).

Remettre la palette sur le magnatbot 96 pendant 30'', éliminer le liquide. On ajoute la wash solution pour laver notre ADN à raison de 100 µl. après mélange complet et parfait on laisse incuber le mélange à température ambiante pendant 5' à 10'. On remet la palette sur le magnatbot 96 pour faire migrer l'ADN vers les pôles magnétiques.

A la fin de cette opération on aura de l'ADN purifié maintenu sur le magnesil et du liquide contenant les impuretés qu'on élimine.



La dernière étape de cette extraction consiste en l'addition de 100 µl d'eau désionisée et stérile et on les laisse incuber pendant 5' à température ambiante. La présence de l'eau va séparer l'ADN du magnésil.

On met la palette sur le magnatbot 96 pendant 1', dans ce cas ci on a la migration du magnésil vers les pôles magnétiques, l'ADN extrait reste en suspension dans l'eau.

On procède au prélèvement de l'ADN que l'on met dans des tubes Ependorf.

#### **4. Evaluation de la quantité et la qualité de mesure de l'ADN**

La qualité de l'ADN extraite a été d'abord vérifiée sur gel d'agarose à 0,8% puis par la mesure de la densité optique (DO) à 260nm. En effet, 2µl d'ADN plus 2µl de tampon de charge déposé dans les puits du gel, se font migrés dans le tampon TBE (Tampon Tris Borate) pendant 30 minutes à 50mV. Le gel, après sa coloration dans un bain de Bromure d'éthidium (0.1%) a été visualisé sous UV. Ce test a été réalisé deux fois en présence d'une quantité connue de l'ADN de phase  $\lambda$  non digéré.

Par ailleurs, la quantité d'ADN extraite a été évaluée par la mesure de la DO à 260nm. Elle est déterminée selon la formule suivante: quantité d'ADN (ng/µl) = valeur d'absorbance à 260nm x 50 x facteur de dilution. Une autre mesure de la DO prise à 280nm a permis d'évaluer également la quantité de protéine contenue dans la suspension d'ADN. Ainsi, le rapport entre ces deux mesures: DO<sub>260</sub>/DO<sub>280</sub> constitue un moyen évaluatif numérique permettant d'apprécier la qualité ou la pureté de notre extrait d'ADN. En effet, plus ce rapport tend vers 2 plus l'extrait d'ADN est qualifié de meilleur ou pure et peut être utilisé dans plusieurs techniques d'amplification.

#### **5. Procédures d'amplification de l'ADN par PCR**

Le mélange réactionnel ainsi que la réaction PCR doivent être en fonction de chaque technique moléculaire, adaptés à l'espèce végétale.

##### **5.1. Mise au point de la réaction PCR/STS**

La technique STS (Sequence Tagged Sites) basée sur la réaction PCR, utilise des amorces spécifiques d'une séquence cartographiée. Les amorces sont codominants, c'est à dire qu'ils

peuvent distinguer des homozygotes des hétérozygotes. Ils tendent aussi à être plus reproductibles, à cause des séquences d'amorces plus longues

### 5.1.1. Le mélange réactionnel

Selon le marqueur nous avons composé un mélange réactionnel (Tableau 13). Le volume final nécessaire pour la réaction PCR est fixé à 25µl.

**Tableau 13.** Composition du mélange réactionnel pour PCR/STS pour les marqueurs *Hv-zcct-H*, *Hv-Cbf 3*, *Hv-Cbf10* et *Fry1* (TC147474).

Réactifs	<i>Hv-zcct-H</i> , <i>Hv-Cbf 3</i> , <i>Hv-Cbf10</i> et <i>Fry1</i> (TC147474)		<i>Dhn3</i> et <i>Dhn7</i> .	
	Concentration initiale	Volume de prise	Concentration finale	Volume de prise
<b>PCR Buffer,</b>	10X	1 µl	1X	1,5 µl
<b>DMSO</b>	-	0.50µl	-	1.50µl
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	50 mM	0.35µl	1.75 mM	0.9µl
<b>dNTP</b>	10 mM	0.25 µl	0.25 mM	0.3 µl
<b>Primer Forward</b>	10 µM	0.50 µl	0.48 µM	0.50 µl
<b>Primer Reverse</b>	10 µM	0.50 µl	0.48 µM	0.50 µl
<b>Taq DNA-Polymérase</b>	5 U/µl	0.10 µl	0.5 U/réaction	0.15 µl
<b>ADN génomique</b>	20 ng/µl	2.0 µl	40 ng/réaction	2.5 µl
<b>H<sub>2</sub>O</b>	-	4.8 µl	-	7.65 µl

L'ADN génomique a été amplifié en utilisant des amorces conçues comme décrit ci-dessus, en utilisant un protocole de PCR développé spécifiquement pour l'amplification de marqueurs STS.

### 5.1.2. Les conditions de la PCR

Ce protocole d'amplification utilise une polymérase d'ADN recombinant à haute fidélité QIAGEN, qui facilite l'amplification des modèles difficiles (GC-régions riches présents dans tous les sites internes des gènes ou des régions à structure secondaire extensive), qui modifie le comportement de dénaturation. Pour cette raison, il est nécessaire d'optimiser la réaction de PCR pour chaque amorce-système de modèles.

Le profil d'amplification optimisé pour les marqueurs *Hv-zcct-H*, *Hv-Cbf 3*, *Hv-Cbf10* et *Fry1* (TC147474) est présenté sur le Tableau 14.

**Tableau 14.** Profil d'amplification des marqueurs STS *Hv-zcct-H*, *Hv-Cbf 3*, *Hv-Cbf10* et *Fry1* (TC147474).

2 minutes	à	94°C	
30 secondes	à	94°C	
30 secondes	à	55°C	<b>40 CYCLES</b>
1 minute	à	72°C	
7 minutes	à	72°C	

Les déhydrines ont été traités sous des conditions différentes et elles sont présentées sur le Tableau 15.

**Tableau 15.** Profil d'amplification des marqueurs STS déhydrines *Dhn3* et *Dhn7*.

2 minutes	à	94°C	
1 minute	à	94°C	
1 minute	à	61°C	<b>40 CYCLES</b>
1 minute	à	70°C	
7 minutes	à	72°C	

Les résultats d'amplification ont été mis en évidence sur un gel d'agarose à 1,5%, après séparation par électrophorèse des échantillons et la coloration de l'ADN au bromure d'éthidium, le gel est ensuite observé avec la caméra GelDoc1000 instrument et numérisées avec le logiciel Molecular Analyst ® Bio-Rad .

## 5.2. Mise au point de la PCR/CAPS

Les marqueurs CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence; Konieczny et Ausubel, 1993) sont des co-marqueurs dominants, facilement obtenus à partir de marqueurs SNP dans des gènes séquencés. Cette technique consiste à digérer le fragment amplifié avec une ou plusieurs enzymes de restriction à site de reconnaissance tétranucléotidique et à révéler le polymorphisme des sites de restriction par électrophorèse classique sur gel d'agarose ou d'acrylamide non dénaturant.

### 5.2.1. Le mélange réactionnel

La méthode commence par une PCR de la séquence cible et la vérification des résultats sur un gel d'agarose à 1,5%. Un très bon rendement de cette première étape est nécessaire pour donner assez de substrat pour la digestion par les enzymes spécifiques. Le mélange réactionnel amplifié est le même que celui utilisé pour les STS. Le test de la bonne marche de l'amplification s'est limité à la première et la dernière variété en guise d'échantillon représentatif de tous les variétés.

### 5.2.2. Conditions de la PCR

Les conditions de la PCR sont les conditions QIAGEN (Cf tableau 13) pour tous les marqueurs à l'exception du marqueur *HvWRKY38* (tableau 16)

**Tableau 16.** Profil d'amplification pour le marqueur *HvWRKY38*

2 minutes	à	94°C	
30 secondes	à	94°C	
30 secondes	à	61°C	<b>40 CYCLES</b>
2 minutes et 30"	à	72°C	
7 minutes	à	72°C	

### 5.2.3. Le mélange de la digestion

Cette technique nécessite un mélange réactionnel spécifique qui fait intervenir une enzyme approprié à chaque marqueur pour un volume final de 15 µl (Tableau 17).

**Tableau 17.** Protocole de digestion enzymatique pour les marqueurs du type CAPS.

Réactifs	<i>HvBM8</i>	<i>TC138581 (LOS2)</i>	<i>HvCBF8</i>	<i>HvBM5a (VRN-H1)</i>	<i>HvWRKY38</i>
<b>Produit de la PCR</b>	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl
<b>Tampon</b>	1.5 µl	1.5 µl	1.5 µl	1.5 µl	1.5 µl
<b>BSA (Bovine Serum Albumine)</b>	1.5 µl	-	1.5 µl	-	-
<b>H<sub>2</sub>O</b>	1.5 µl	3.3 µl	1.8 µl	3.1 µl	3.3 µl
<b>Enzyme</b>	NaeI 0.5µl	Alu26(GP)0.2 µl	DdeI(GP) 0.2 µl	NleIII 0.4 µl	Xap I 0.2 µl

Le mélange est incubé -pour que la digestion enzymatique se réalise- pendant deux heures à 37°C. Une fois l'incubation arrêtée on ajout 3 µl de Bleu de Bromophénol.

Les produits de digestion ont été chargés sur gel d'agarose à 1.5% avec 6µl de Bromure d'éthidium. L'électrophorèse est lancée à 130 mV pendant une heure. Le gel est ensuite observé avec la caméra GelDoc1000 instrument et numérisées avec le logiciel Molecular Analyst ® Bio-Rad.

### 5.3. Mise au point de la PCR/ARMS

Dans le cas ou les SNP ne sont pas situés dans les sites de reconnaissance des enzymes de restriction, une alternative simple pour le génotypage peut être appliquée, une PCR tetra-primer ARMS (amplification refractory mutation System; Ye et *al.*, 2001), également connu sous le nom Bi-Pasa (Bidirectional PCR amplification of specific alleles). Il s'agit d'un multiplex de PCR utilisant deux couples d'amorces: l'amorce extérieure originale et deux nouvelles amorces intérieures spécifiques d'allèles, avec laquelle les deux allèles alternatifs sont amplifiés en même temps et en directions opposées.

#### 5.3.1. Le mélange réactionnel

La technique PCR/ARMS a été réalisée en utilisant le protocole PCR développé pour la PCR/STS, seules les amorces différents. En effet, le mélange réactionnel pour un seul marqueur contient les amorces spécifiques à la variété Nure et un mélange parallèle contenant les amorces spécifiques à Tremois.

#### 5.3.2. Conditions de la PCR/ARMS

Le profil d'amplification optimisé pour les marqueurs du type ARMS est le même que celui développé pour les PCR/STS (Tableau 18).

**Tableau 18.** Profil d'amplification pour les marqueurs

2 minutes	à	94°C	
30 secondes	à	94°C	
30 secondes	à	55°C	<b>40 CYCLES</b>
1 minutes	à	72°C	
7 minutes	à	72°C	

Les résultats ont été mis en évidence sur un gel d'agarose 1,5% à 130 mV pendant une heure. Après séparation par électrophorèse des échantillons et la coloration de l'ADN avec du bromure d'éthidium, le gel est ensuite observé avec la caméra GelDoc1000 instrument et numérisées avec le logiciel Molecular Analyst® Bio-Rad .

## 6. Séquençages des marqueurs *HvWRKY38* et *HvCBF4*

Le séquençage a été entrepris afin de révéler du polymorphisme de type SNP ou IN/DEL chez les gènes *HvWRKY38*, *HvCBF4*, *TC143232 (ICE1)*.

### 6.1. Mélange réactionnel de l'amplification PCR

Le mélange réactionnel est à chaque fois préparé avec les primers des marqueurs ciblés (Tableau 19).

**Tableau 19.**Composition du mélange réactionnel pour l'amplification de l'ADN à séquencer

<i>Réactifs</i>	<i>TC143232 (ICE1)</i>	<i>HvCBF4</i>
<b>PCR Buffer,</b>	6.0 µl	6.0 µl
<b>DMSO</b>	1.50µl	1.50µl
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	1.8 µl	1.8 µl
<b>dNTP</b>	0.75 µl	0.75 µl
<b>Primer Forward</b>	1.50 µl	1.50 µl
<b>Primer Reverse</b>	1.50 µl	1.50 µl
<b>Taq DNA-Polymérase</b>	0.30 µl	0.30 µl
<b>ADN génomique</b>	5.0 µl	5.0 µl
<b>H<sub>2</sub>O</b>	11.65 µl	11.65 µl
<b>Volume final</b>	30 µl	

### 6.2. Conditions de la PCR

Le profil d'amplification adopté est reporté sur le tableau 20. Les résultats ont été mis en évidence sur un gel d'agarose 1% à 60mV pendant quarante minutes, pour vérifier le bon fonctionnement de la PCR. Le volume de chaque échantillon est de 5µl auquel nous avons ajouté 1µl du bleu de Bromophénol.

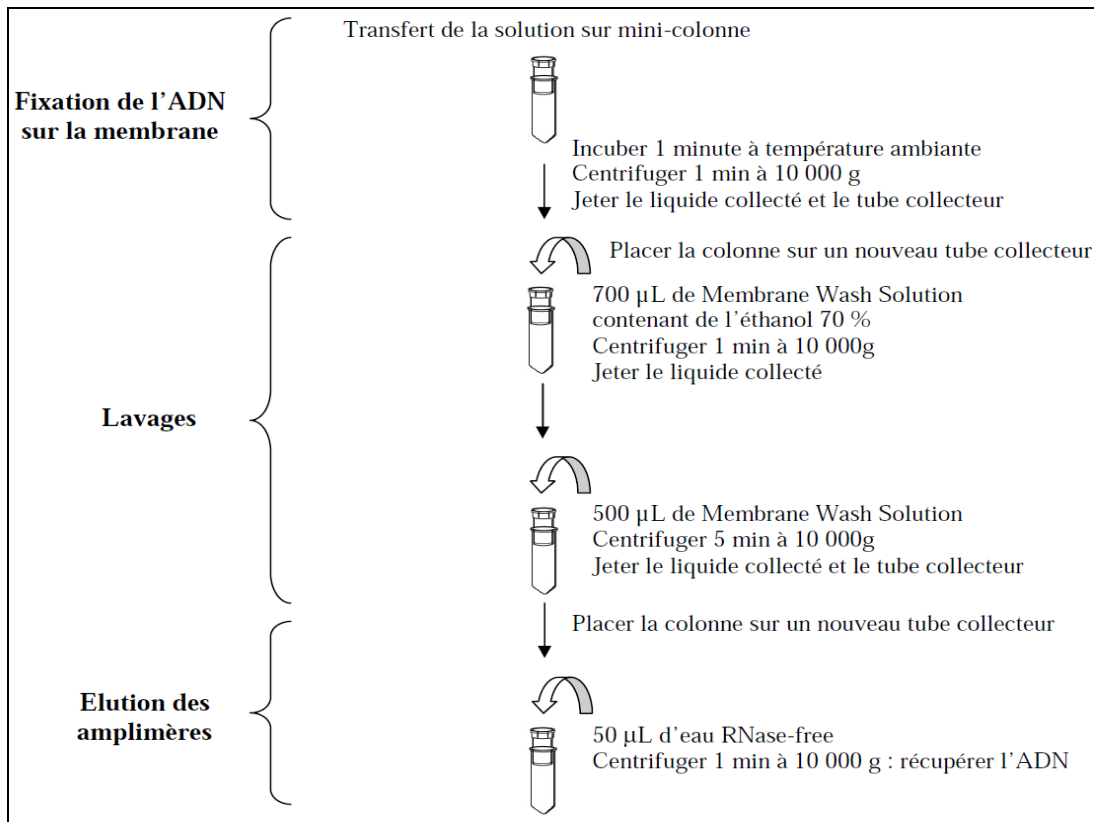
**Tableau 20.** Profil d'amplification pour les marqueurs

2 minutes	à	94°C	
30 secondes	à	94°C	
30 secondes	à	55°C	<b>40 CYCLES</b>
1 minute	à	72°C	
7 minutes	à	72°C	

Après séparation par électrophorèse des échantillons, le gel est ensuite observé avec la caméra GelDoc1000 instrument et numérisées avec le logiciel Molecular Analyst ® Bio-Rad.

### 6.3. Purification du produit de la PCR

La purification de l'ADN est toujours recommandée en raison de l'excès, dans la solution, de fragments non reconstitués en groupe, des nucléotides libres et des composantes de la PCR, en effet, les solutions tampon inhibent les réactions de séquençage d'ADN et de visualisation. L'ADN amplifié est séparé de ces éléments indésirables dans une colonne de nettoyage en utilisant le protocole kit *wizard sv gel and PCR clean-up system* Figure 23).



**Figure 23.** Étapes du protocole de purification de l'ADN par le kit *wizard sv gel and PCR clean-up system* (PROMEGA)

Afin de mener à bien l'épuration, un volume égal de solution de fixation à la membrane est ajoutée à des produits de réaction PCR suivie par le transfert du mélange à l'intérieur de la minicolonne associée à un tube de collecte (1,5 ml), l'ensemble est incubé pendant une minute à la température ambiante. La mini colonne SV est centrifugé à 16000 tours / minute pendant une minute, le liquide dans le tube de prélèvement est ensuite éliminée. La mini colonne est insérée dans un tube collecteur auquel on rajoute 700µl de solution de lavage de la membrane. On centrifuge à nouveau à 16000 tours / minute pendant une minute; le liquide dans le tube de prélèvement est jetée et le lavage est répété avec 500µl de solution de lavage de la membrane et on centrifuge à nouveau à 16000 tours / minute pendant 5 minutes. Après le rejet, à nouveau, du liquide dans le tube de collecte, une centrifugation à couvercle ouvert a été faite à 16000 tours/minute pendant un minute pour permettre l'évaporation de la solution de lavage de la membrane. La mini colonne SV est ensuite transférée avec précaution dans un tube propre de



prélèvement de 1,5 ml auquel on rajoute 50µl d'eau exempte de nucléase, elle est appliquée directement au centre de la colonne. La solution est ensuite incubée pendant une minute à une température ambiante et centrifugés à 16000 tours / minute pendant une minute. Dans cette étape finale, la solution percolé dans le tube collecteur est l'ADN pur qui peut être conservé à 4°C ou -20°C.

#### **6.4. Vérification du produit de purification**

Après purification et amplification, une vérification de la présence de l'ADN purifié s'impose, pour voir s'il n'a pas été perdu au cours de la purification et afin d'identifier son poids moléculaire et l'intensité de la bande; une échelle de 100 bp est utilisée comme marqueur de taille moléculaire.

Une électrophorèse a été réalisée sur gel d'agarose 1% à 120 mV pendant trente minutes. Le volume de chaque échantillon est de 3µl auquel nous avons ajouté 1µl du bleu de Bromophénol.

Après séparation par électrophorèse des échantillons, le gel est ensuite observé avec la caméra GelDoc1000 instrument et numérisée avec le logiciel Molecular Analyst ® Bio-Rad.

#### **6.5. Séquençage de l'ADN amplifié**

Le séquençage des échantillons est réalisé selon le protocole d'Applied Biosystems pour le séquençage DYE-Terminator. La réaction de séquence a été réalisée en utilisant le kit Big Dye Terminator pour le séquenceur ABI *Prism 310* (Applied Biosystem). Ces kits contiennent les quatre ddNTPs avec différents marqueurs fluorescents, la Taq polymérase et les dideoxyribonucleotides. Le mélange réactionnel est composé, en plus du Big Dye, de solution tampon et des amorces. Ce mélange est répartie en deux volumes chacun contient soit l'amorce forward soit la reverse (Tableau 21). Les conditions de séquençage sont rapportées sur le tableau 22.

**Tableau 21.** Composition du mélange réactionnel pour l'amplification de l'ADN à séquencer

Réactifs	TC143232 (ICE1)
Big Dye	0.3 µl
PCR Buffer,	2 µl
Primer Reverse/ Forward	0.8 µl
ADN génomique (1.5 ng/100pb)	1 µl
H <sub>2</sub> O	5.9 µl

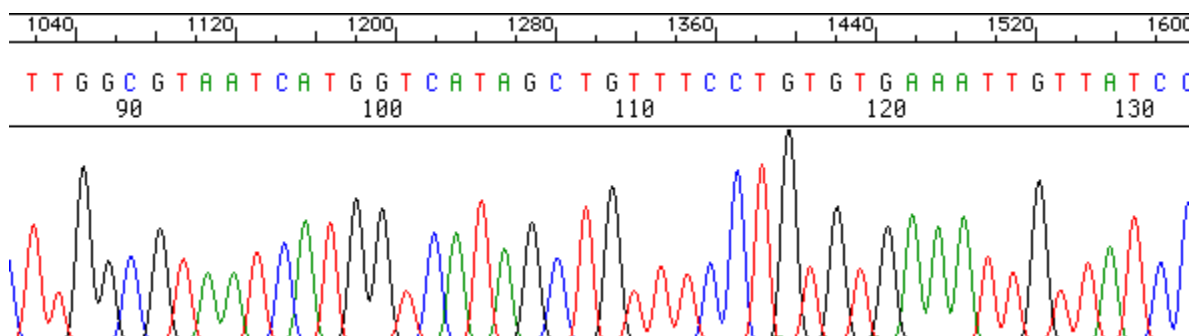
**Tableau 22.** Profil de séquençage

10 secondes	à	96°C	
5 secondes	à	50°C	<b>35 CYCLES</b>
4 minutes	à	60°C	

Les produits d'extension sont purifiés avant le passage sur le séquenceur pour éliminer les marqueurs non incorporés, les sels et les autres contaminants. On utilise la même procédure de purification qui a été citée plus haut, puis les nucléotides correspondants

### 6.6. L'analyse des séquences

Les séquences obtenues ont été inscrites sur un système informatisé qui à son tour organise la gamme de nucléotides de la séquence résultante. L'analyse des séquences a été réalisée avec le logiciel *GAP4 STADEN PACKAGE*. Ce logiciel permet d'aligner plusieurs séquences et de visualiser chaque chromatogramme associé à chacune d'elles. La vérification visuelle du chromatogramme de chacune des séquences a permis de corriger manuellement les séquences en comparant les quatre couleurs du chromatogramme par rapport aux nucléotides correspondant (Figure 24).



**Figure 24.** Chromatogramme d'alignement des séquences







Pour chaque locus séquencé, les séquences ont été rassemblées en format alignés en utilisant le même. La séquence de référence à été extraite de GenBank (NCBI) et est relative aux gènes du génotype Nure, permettant, ainsi, de comparer les séquences parallèles par la présence de SNP ou de mutation du type insertion/délétion. Les informations génétiques de chaque séquence sont regroupées de sorte à former des haplotypes (c'est-à-dire d'un ensemble de marqueurs génétiques dont la l'association sur chaque chromosome homologue est connue).

## Résultats et discussions

### 1. Qualité et quantité de l'ADN extrait

Les résultats du tableau témoignent de l'efficacité de l'extraction qui permet d'offrir une bonne matrice pour les diverses réactions PCR. Les échantillons qui ont présenté un ratio  $DO_{260}/DO_{280}$  supérieur à 1.8 ont été exploités (Tableau 23).

**Tableau 23.** Qualité et quantité d'ADN extrait à partir des six accessions algériennes d'orge.

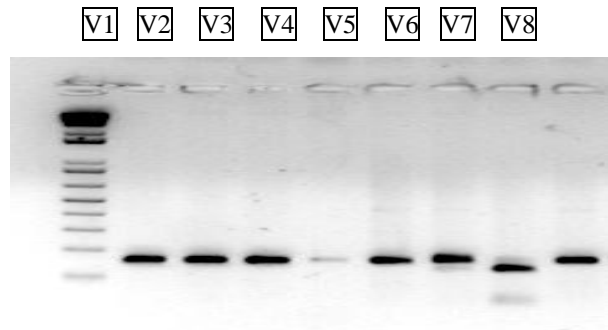
Géotypes	Quantité de l'ADN (ng/µl)	Rapport de $DO_{260}/DO_{280}$	Qualité de l'ADN sur gel d'agarose
<b>Tichedrett</b>	72.3	1.838	
<b>Soufara's'</b>	36.65	2.007	
<b>Rahma</b>	34.55	2.241	
<b>Fouara</b>	28.35	1.877	
<b>Tissa</b>	22	2.017	
<b>Elbahia</b>	18.8	3.583	

Le géotype Tichedrett a présenté une concentration élevée en ADN, elle a été diluée avec de l'eau. Le géotype Elbahia s'est caractérisé par le taux d'ADN le moins concentré. La qualité de l'ADN extraite joue un rôle important dans la réussite de son amplification par PCR. Grâce au bon rendement en qualité et en quantité d'ADN obtenu, la phase de la mise au point de différentes techniques d'amplification *via* PCR, a été très réduite.

### 2. Description génétique de la floraison chez les géotypes d'orge

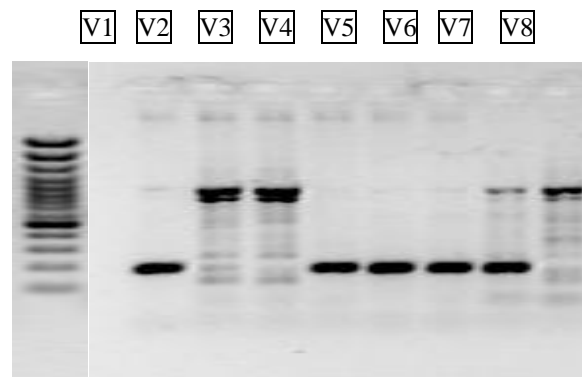
#### 2.1. Détermination des gènes de vernalisation

Sur gel d'agarose pour le gène *HvBM5a* (*VRN-H1*), tous les géotypes locaux ont présenté une bande identique à celle de Tremois à l'exception de Soufara's' qui est identique à Nure (Figure 25). Sur la base des travaux de Vonzitzewitz et *al.* (2005), le géotype Nure présente l'allèle récessif de *vrn-H1*, alors que le géotype Tremois présente l'allèle dominant *Vrn-H1*. Nos résultats suggèrent que les géotypes ont tous l'allèle dominant *Vrn-H1* contrairement à Soufara's' dont l'allèle *vrn-H1* est récessif.



**Figure 25.** Polymorphisme généré par le marqueur CAPS, *HvBM5a* (*VRN-H1*) sur les six géotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les géotypes Nure(V7) et Trémois (V8).

Le marqueur *HvZCCT-H* (*VRN-H2*) a généré un profil polymorphe ce qui a permis de révéler le type de gènes pouvant exister chez les géotypes sélectionnés en Algérie. On constate que nous avons quatre géotypes dont l'allèle est identique à celui de Nure soit Tichedrett, Fouara, Tissa, et Elbahia. Les autres géotypes ont le même allèle que Trémois et ce sont Soufara 's' et Rahma (figure 26).



**Figure 26.** Polymorphisme généré par le marqueur STS, *HvZCCT-H* (*VRN-H2*) sur les six géotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé aux géotypes Nure(V7) et trémois (V8).

D'après Vonzitzewitz et *al.* (2005), la description des allèles *VRN-H1* et *VRN-H2* est suffisante pour expliquer les besoins en vernalisations de l'orge. *HvBM5a* est impliqué dans l'édification du méristème floral, il est considéré comme déterminant de *VRN-H1* (Danyluk et *al.*, 2003; Trevaskis et *al.*, 2003; Vonzitzewitz et *al.* 2005; yan et *al.*, 2003). Chez certaines variétés

qui ont besoin de vernalisation, ce gène est activé par l'exposition prolongée aux températures basses (Danyluk *et al.*, 2003; Trevaskis *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2003).

La relation entre le type de croissance et la génétique de la vernalisation fait ressortir trois types d'orge : le type d'hiver qui est exigeant en vernalisation parce qu'ils ont le gène *VRN-H2* dominant (*Vrn-H1*) qui code le répresseur et ils ont des allèles *VRN-H1* récessifs (*vrn-H1*) qui ont un site de fixation pour le répresseur.

Les géotypes Facultatifs ne nécessitent pas de vernalisation car même s'ils ont des allèles *VRN-H1* avec le site de liaison du répresseur (*vrn-H1*), ils manquent complètement de *VRN-H2* gène qui code le répresseur (*vrn-H2*).

Les types de printemps n'ont pas besoin de vernalisation, parce qu'ils ont des allèles *VRN-H1* qui n'ont pas un site de liaison du répresseur (*Vrn-H1*), le gène *VRN-H2* peut ou ne pas être présents (*Vrn-H2* ou *vrn-H2*).

Le tableau 24 représente le modèle épistasique *Vrn2/Vrn1* proposé par Yan *et al.* (2004) pour *T.monococcum* et appliqué pour l'orge par Vonzitzewitz *et al.* (2005).

**Tableau 24.** Récapitulatif des interactions épistasiques et le type d'orge qui en résulte.

	<i>Vrn-H2</i>	<i>vrn-H2</i>
<i>Vrn-H1</i>	ZCCT BM5A	zcct BM5A
<i>vrn-H1</i>	ZZCT bm5a	zcct bm5a

Orge d'hiver (Nure)
Orge facultative
Orge de printemps (Tremois)

Si on considère que Nure présente l'allèle A et Tremois l'allèle B, les géotypes locaux seront: Le géotype Rahma porte les allèles de Tremois qui est du type printemps (Tableau 25). Les géotypes Tichedrett, Fouara, Tissa et Elbahia ont le gène de vernalisation mais n'ont pas le site de répression codé par *Vrn-H1*, ils n'ont donc pas besoin de vernalisation pour fleurir, ils sont du type printemps. Soufara's' est du type facultatif tolérante au froid et n'a pas besoin de vernalisation pour fleurir.

**Tableau 25.** Description génétique du type d'orge des génotypes locaux par rapport à Nure et Tremois

Génotype	<i>HvBM5a</i> ( <i>Vrn-H1</i> )	<i>HvZCCT-H</i> ( <i>Vrn-H2</i> )	Type d'orge
<b>Nure</b>	A	A	<b>Hiver</b>
<b>Tremois</b>	B	B	<b>Printemps</b>
<b>Tichedrett</b>	B	A	Printemps
<b>Soufara's'</b>	A	B	Facultative
<b>Rahma</b>	B	B	Printemps
<b>Fouara</b>	B	A	Printemps
<b>Tissa</b>	B	A	Printemps
<b>Elbahia</b>	B	A	Printemps

## 2.2. Description de la précocité à l'épiaison des génotypes d'orge

La description de la précocité à l'épiaison a été faite sur la base des gènes *PPD-H1*, *VRN-H3* et *HvBM8*. Au cours de notre expérimentation nous avons eu recours au séquençage des gènes *PPD-H1* et *VRN-H3* en raison de l'absence de marqueurs polymorphes entre Nure et Tremois permettant de faire ressortir un polymorphisme entre les individus. Pour *HvBM8*, un marqueur du type CAPS suffit pour ressortir tout polymorphisme.

Les séquences de *VRN-H3* des variétés d'orge ont été comparées avec celle de Nure et Tremois. Le tableau 26 montre les polymorphismes existant entre les variétés pour *VRN-H3*.

**Tableau 26.** Les haplotypes générés par le polymorphisme SNP à la suite du séquençage de *HvFT1* (*Vrn-H3*) des génotypes étudiés par rapport à Nure et Tremois.

	Position (pb)		haplotype	Position
	352	369		
<b>Tichedrett</b>	T	C	I	T
<b>Soufara's'</b>	T	C	I	T
<b>Rahma</b>	C	C	II	T
<b>Fouara</b>	C	T	III	T
<b>Tissa</b>	T	C	I	T
<b>Elbahia</b>	C	C	II	T
<b>Nure</b>	T	C	I	T
<b>Tremois</b>	T	C	I	T

C : cytosine ; G : guanine ; A : adénine et T : tyamine

Nous avons noté trois haplotypes distinguant les différents génotypes. Par ailleurs et sur la base des travaux de Yan et al. (2006) sur le gène *VRN-H3*, la présence de la base Tyramine sur la position 550, et qui est considérée comme étant positionné sur l'intron actif signifie l'allèle récessif *vrn-H3*. Comparativement à nos résultats, la présence de la base tyramine sur cette position confirme la récessivité de cet allèle chez nos variétés.

Le polymorphisme existant de *PPD-H1* est du type single nucleotides polymorphisms (SNP) localisé à la position 436 pb avec un changement au niveau des acides G/T qui est une mutation fonctionnelle : T signifie l'allèle récessive *ppd-H1*, G signifie l'allèle dominant *Ppd-H1* (Turner et al., 2005).

Le séquençage de *PPD-H1* a généré un polymorphisme entre les variétés. En effet, Nure et Tremois présentent l'allèle récessive *ppd-H1* (Tondelli et al., 2006), qui n'a pas d'effet en jours courts, ce qui est le cas de Soufara's', Fouara et Tissa. Les génotypes Tichedrett, Rahma et Elbahia ont présenté un allèle dominant *Ppd-H1* qui, en jours longs, confère la précocité à l'épiaison. Le tableau 27 résume les résultats des deux gènes.

**Tableau 27.** Description des gènes *Ppd-H1* et *Vrn-H3* des génotypes d'orge sélectionnés en zone semi aride par rapport à Nure et Tremois

	<i>PRR, Ppd-H1</i> (2H)	<i>HvFT1, Vrn-H3</i> (7H)
<b>Nure</b>	C	C
<b>Tremois</b>	C	C
<b>Tichedrett</b>	D	C
<b>Soufara's'</b>	C	C
<b>Rahma</b>	D	C
<b>Fouara</b>	C	C
<b>Tissa</b>	C	C
<b>Elbahia</b>	D	C

L'allèle dominant *Ppd-H1* confère la floraison précoce sous des jours longs et semble n'avoir aucun effet en jours courts (Turner, 2005). L'allèle dominant *Vrn-H3*, est un promoteur de la floraison qui est sur exprimé par les jours longs et régule positivement *vrn-H1* en l'absence de l'allèle dominant *Vrn-H2*. L'allèle récessive *vrn-H2* élimine l'effet des différences allélique de *VRN1* et *VRN3* sur la période de floraison (Dubcovsky et al., 2005, Tranquilli et Dubcovsky,

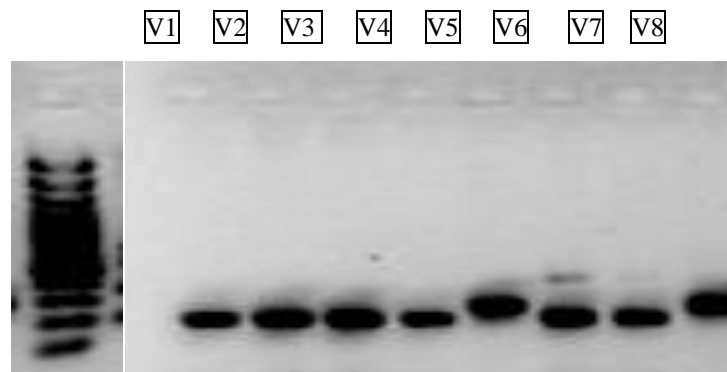


2000, Takahashi et Yasuda, 1971).

Les jours longs accélèrent la floraison par l'accélération du développement de l'apex reproducteur (Roberts et *al.*, 1988), dans ces conditions la réponse aux jours longs est réalisée par l'intermédiaire de *Hv-FT* (*VRN-H3*) dont l'expression chez l'orge et le blé est induite par les jours longs. L'induction de la floraison par les jours longs nécessite l'intervention de *Ppd-H1*. D'après Hemming et *al.* (2008), la suppression de *VRN-H2* favorise la rapide initiation florale que s'il est associé avec l'allèle dominant *Ppd-H1*.

L'analyse de l'expression de *HvBM8* et son interaction avec les gènes *Vrn-H* et les gènes *PPD-H* pourrait améliorer la compréhension du contrôle de la floraison des céréales. Ce gène est exprimé au cours de la floraison dans les jours à luminosité allant de 10 à 12 heures après vernalisation que ce soit chez les variétés de printemps ou d'hiver, mais il n'est pas exprimé en jours longs de 16 heures de luminosité que ce soit avec ou sans vernalisation (Tondelli et *al.*, 2008).

L'électrophorèse du gène *HVBM8*, qui est un marqueur du type CAPS a été réalisée après digestion par l'enzyme *NaeI*. Elle a permis de distinguer le polymorphisme entre les différents génotypes (Figure 27).



**Figure 27.** Polymorphisme généré par le marqueur CAPS, *HVBM8* sur les six génotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's' : V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et trémois (V8).

D'après Tondelli et *al.* (2008), les variétés ayant l'allèle *HvBM8* de Nure sont précoces. Sur la base des résultats de l'électrophorèse, on peut dire que tous les génotypes locaux sont

identiques à Nure (présentent la même bande) et sont du type précoce à l'exception de Tissa qui a présenté le même allèle que Tremois et peut être considérée comme tardive (Tableau 38).

**Tableau 28.** Description du gène *HvBM8* des géotypes d'orge sélectionnés en zone semi aride par comparaison à Nure et Tremois.

Géotype	<i>HvBM8</i> (2H)
Nure	A
Tremois	B
Tichedrett	A
Soufara's'	A
Rahma	A
Fouara	A
Tissa	B
Elbahia	A

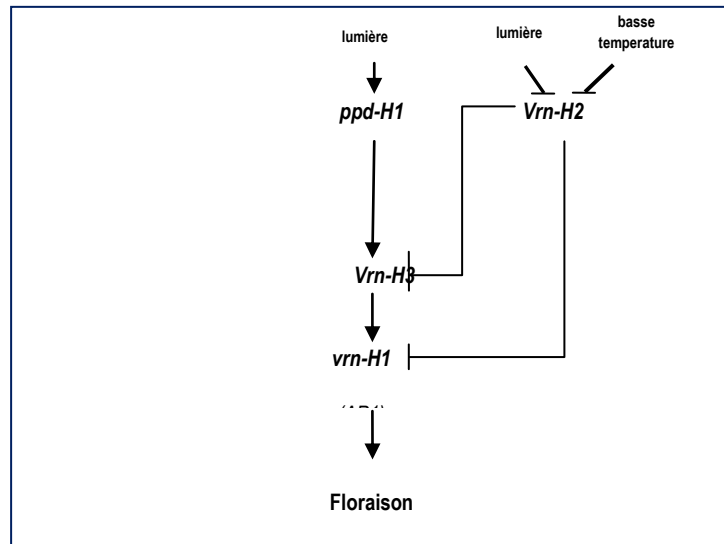
### 2.2.1. Discussion

L'initiation florale s'effectue suite au rôle signalétique de la protéine FT issue à partir des voies de vernalisation et de photopériodisme (Kardailsky et al., 1999; Kobayashi et al., 1999). La protéine FT fonctionne comme une molécule systémique de signalisation des feuilles à l'apex, elle est dite *florigène* (Corbesier et al., 2007; Jaeger and Wigge, 2007; Mathieu et al., 2007). Il est connu que la réponse à la longueur du jour est contrôlée par *HvFT* (*VRN-H3*) dont l'expression est induite par les jours longs dont l'induction nécessite le gène *Ppd-H1* (Trevaskis et al. 2007). En l'absence de l'activité de *VRN-H2*, l'induction en jours longs de *HvFT* induit la précocité à la floraison.

Si on essaye de comparer la voie génétique de la floraison des différents géotypes selon le modèle proposé par Cockram et al. (2007) sur la figure 28, plusieurs voies peuvent être proposées pour les variétés étudiées.

Le géotype Tremois est une orge de printemps du type tardive, et ne présentent pas de site de liaison pour *VRN-H2* (Tondelli et al., 2008). Sa floraison est déclenchée, pour des semis d'automne, suite à leur sensibilité aux jours longs qui surviennent au milieu de l'hiver. En effet, la délétion de *VRN-H2* chez les géotypes printemps induit la floraison précoce sous les jours longs, mais pas en des conditions de jours courts (Karsai et al., 2005). Ceci ne fait pas de Tremois une variété précoce. En effet, sous régime allant de 10 à 12 h de lumière, l'expression

de *VRN-H2* disparaît et laisse la place à une forte expression *HvBM8*. Selon Tondelli et al. (2008), l'allèle de *HvBM8* présent chez Tremois induit une floraison tardive.



**Figure 28.** Les majeures voies génétiques de la floraison adaptée par Cockram et al. (2007) pour l'orge et le blé.

La variété Nure a besoin de froid en jours courts pour la levée de répression de *VRN-H2* (dominant) sur *VRN-H1* (récessive) et *VRN-H3* (récessive), ce qui implique son appartenance au type d'hiver. Après la germination, *VRN-H3* est réprimée par des niveaux élevés de *VRN-H2*, ce qui empêche l'induction de *VRN-H1*. *VRN-H1*, initialement transcrit à des niveaux très bas dans les feuilles et les apex, est peu à peu régulé à la hausse lors des jours courts et froids d'hiver quand *VRN-H2* est sous régulé. La précocité de Nure est attribuée à la présence de l'allèle dominant *HvBM8*. Aucun des génotypes étudiés, y compris le témoin local Tichedrett, ne semblent appartenir au type d'hiver précoce tel que Nure

Les génotypes Tichedrett et Elbahia, par la présence des allèles dominants *Vrn-H1*, *Vrn-H2*, *Ppd-H1* et l'allèle récessive *vrn-H3*, ils semblent être du type printemps et n'ont pas besoin de vernalisation pour l'induction florale (figure 29). Par la dominance de *Ppd-H1*, ces deux génotypes répondent fortement à la longueur du jour. En effet, ce gène n'a aucun effet en jours courts (Cockram et al., 2007). Toutefois, la présence de l'allèle *HvBM8* de Nure qui assure la précocité à la variété, fait de nos deux génotypes des variétés du type printemps et dont la floraison est précoce en réponse aux jours longs.

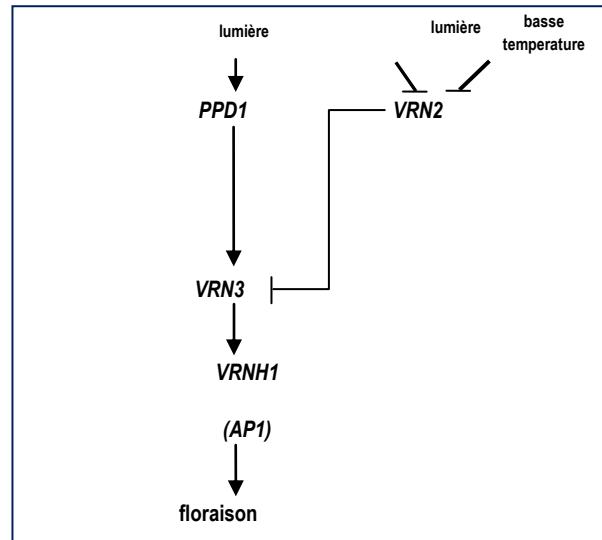


Figure 29. La voie de floraison proposée pour Tichedrett et Elbahia

Les génotypes Tissa et Fouara se caractérisent par la dominance des allèles *Vrn-H1* et *Vrn-H2* et la récessivité de *ppd-H1* et *vrn-H3*. Ces orges de printemps présentent une floraison tardive car elles sont affectées par la présence de *Vrn-H2* qui est sensible aux jours courts et aux basses températures. Par ailleurs, Fouara est plus précoce que Tissa par la différence du gène *HvBM8*.

Le génotype Rahma se caractérise par la présence de l'allèle dominant *Vrn-H1* et les allèles récessifs *vrn-H2*, *ppd-H1* et *vrn-H3*. La présence de l'allèle de printemps *Vrn-H1/vrn-H2* suggère que l'initiation florale, pour des semis d'automne, est sous le contrôle des jours longs, c'est-à-dire qu'avec l'augmentation du photopériodisme l'initiation florale se déclenche à la sortie de l'hiver. D'après Karsai et al. (2006) les lignées dont l'allèle récessif *vrn-H2*, réagissent à l'allongement des jours. Cette réponse est associée à la présence de l'allèle *HvBM8* identique à celui de Nure dont la précocité et qui va se jumeler aux effets cité plus hauts.

Le génotype Soufara's' se caractérise par la récessivité de *vrn-H1/vrn-H2* qui est spécifique au type d'orge facultatif. Ce type possède l'allèle d'hiver *vrn-H1* qui lui confère sa tolérance aux basses températures de l'hiver mais manque de répresseur *Vrn-H2* (c'est-à-dire présente *vrn-H2*) qui lui confère les besoins en vernalisation pour fleurir. Les allèles récessifs *ppd-H1* et *vrn-H3* ne semblent intervenir qu'avec l'allongement des jours. Les génotypes facultatifs sont considérés comme étant moins résistants à l'hiver, et sont cultivés dans des zones ayant des hivers doux, ou des pluies de fin d'automne, ou pour des raisons techniques

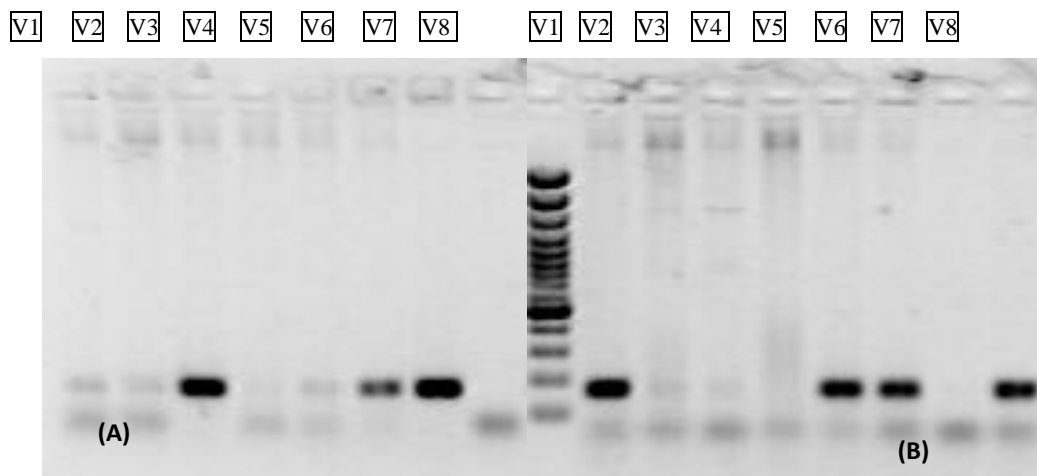
l'agriculteur est obligé à réaliser des semis tardifs (Braun et Säulescu, 2002). Du fait qu'ils survivent aux hivers froids, ils sont souvent désignés par des orges d'hiver.

### 3. Génétique de l'adaptation de l'orge au stress abiotique

#### 3.1. Détermination de la résistance au froid chez les génotypes d'orge sélectionnés en zone semi aride

Deux groupes de gènes sont responsables de la tolérance au froid chez l'orge. Le premier groupe comprend les gènes de vernalisation qui retardent la floraison jusqu'à la sortie de l'hiver et protègent ainsi les primordiums foliaires. Le second groupe comprend une série de facteur de transcription *cbfs* répétés en tandem (C-repeat Binding Factor) situés sur le locus *FR2* (Frost résistance 2). Les facteurs de transcription *cbf* sont connus pour être régulateurs du gène *COR* (Cold Regulated genes) qui sont induits par le froid et confèrent la résistance aux températures gélifiantes. Le *QTL* de la tolérance au froid *Fr-H1* coïncide avec *VRN-H1* (Hayes et al. 1993; Laurie et al. 1995; Francia et al. 2004) qui a été décrit plus haut.

Notre étude du marqueur *HvCBF4*, qui est du type CAPS, a permis de générer le polymorphisme existant (Figure 30). On note que seul le génotype Rahma présente l'allèle de Nure, alors que Tichedrett et Elbahia semblent être identiques au génotype Tremois. Les autres individus n'apparaissent pas sur le gel, ce qui signifie la présence d'un autre type d'allèle de *Cbf4* différent de Nure et de Tremois.



**Figure 30.** polymorphisme généré par les marqueurs CAPS de *CBF4* des génotypes locaux par rapport à Nure (A) et Tremois (B). Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6 comparé avec les génotypes Nure(V7) et trémois (V8).

La distinction par séquençage du gène *Cbf4* a généré trois haplotypes, à savoir ceux formés par le groupe de Nure et du groupe de Tremois et un troisième type de gènes représenté par Soufara's' et Fouara (Tableau 29).

**Tableau 29.** Les haplotypes générés par le polymorphisme SNP à la suite du séquençage de *Hv-FT1* des génotypes d'orge étudiés par comparaison avec Nure et Tremois.

	Position (Pb)				haplotype
	93	300	494	531	
Nure	G	C	G	A	III
Tremois	G	C	G	C	I
Tichedrett	G	C	G	C	I
Soufara's'	C	T	C	G	II
Rahma	G	C	G	A	III
Fouara	C	T	C	G	II
Tissa	G	C	G	C	I
Elbahia	G	C	G	C	I

C : cytosine ; G : guanine ; A : adénine et T : tyamine ; H : hétérosis

Le résultat du polymorphisme pour *Fr-H1* et *Fr-H2* est résumé sur le Tableau 30. On note qu'au niveau de *Hvcbf4*, seules Tichedrett, Tissa et Elbahia arborent les séquences de Tremois. Les génotypes Soufara's' et Fouara semblent avoir le même gène.

**Tableau 30.** Récapitulatif de la description génétique de la résistance au froid des génotypes d'orge locaux par rapport à Nure et à Tremois.

Génotype	<i>Fr-H2</i> ( <i>Hvcbf4</i> )	<i>Fr-H1</i> ( <i>HvBM5a</i> )
Nure	A	A
Tremois	B	B
Tichedrett	B	B
Soufara's'	C	A
Rahma	A	B
Fouara	C	B
Tissa	B	B
Elbahia	B	B

*HvCBF4* est considéré comme étant une séquence *CBF* appartenant au groupe des *CBF* Situés sur le chromosome 5H, il représente le marqueur de pointe pour le *QTL* bifonctionnel *Fr-*

*H2* contrôlant la résistance au froid et l'expression des gènes *COR* (Francia et al., 2004) dont le produit conduit à la tolérance au froid (Shinozaki et al., 2003; Cattivelli et al., 2002).

*Fr-H1* et *Fr-H2* ont été identifiés dans la population double haploïde de Nure x Tremois et contribuent de 60 à 80 % de la variation phénotypique vis-à-vis de la tolérance au froid hivernale (Tondelli et al., 2006), les gènes *Cbfs* sont liés à *Cbf4* et donc à *Fr-H2*.

Le géotype Nure, est résistant au froid, présente les allèles *Fr-H1* et *Fr-H2* dont résulte la très grande résistance aux basses températures (Francia et al. 2004). Le géotype Tremois est considéré comme étant moins résistant en raison du manque de un ou plus des gènes *cbf* de *Fr-H1* (Stockinger et al., 2007). Les géotypes Tichedrett, Tissa et Elbahia semblent être identiques à Tremois et sont moins résistants au froid par rapport à Nure. Les autres géotypes présentent des allèles différents, dont la résistance au froid doit être expérimentée.

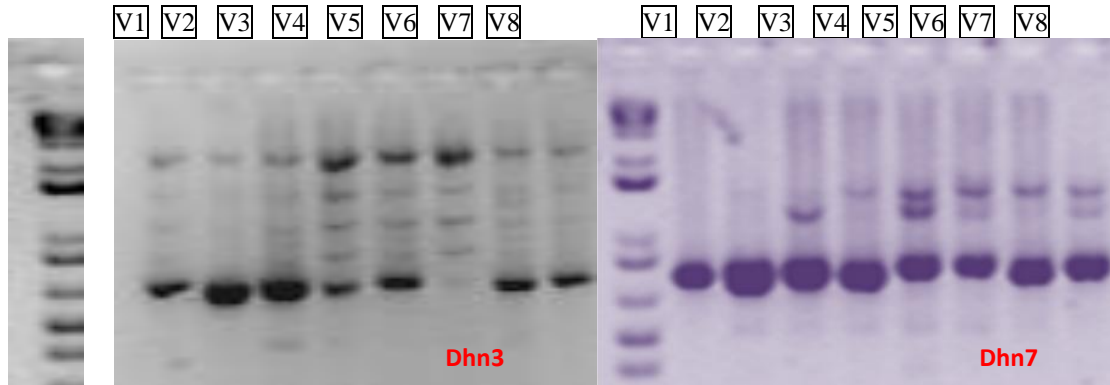
Les géotypes d'hiver ou de printemps semés à l'automne ont la capacité de résister au froid durant le stade végétatif coïncidant avec l'hiver et offrent une production plus élevée en raison de la longue période de croissance. La régulation froid/gel et la vernalisation sont interconnectées (Kosova et al., 2008 ; Galiba et al., 2009). Les céréales du type hiver perdent la résistance au froid après l'hiver et sont facilement atteints par les gelées printanières (Fowler et al., 1999; Shroyer et al., 1995). Les températures basses susceptibles d'affecter la plante sont entre -2°C et -8°C (Koo et al., 2007; Livingston et Swinbank, 1950). Le degré de dégât est en fonction du stade de développement à savoir le stade de l'épi, le nombre de talles et l'organe de la plante (Chen et al., 1983; Olien, 1964).

### **3. 2. Recherche de polymorphisme des gènes candidats de la résistance à la sécheresse**

#### **3. 2.1. Déhydrines**

Le polymorphisme généré par les marqueurs STS qui mettent en évidence les différences entre les allèles de Nure et Tremois à une région génomique associée à *Dhn3* et *Dhn7* et comparé aux six géotypes étudiés est illustré sur les figures 31. Pour *Dhn3* les géotypes Tichederett, Tissa et Elbahia présentent l'allèle de Tremois alors que les autres géotypes comportent celui de Nure. Les géotypes présentent également un polymorphisme pour *Dhn7*. En effet, Tichedrett et Rahma ont l'allèle de Trémois alors que Soufara's' et Fouara ont celui de Nure. Les géotypes Tissa et Elbahia ont un allèle différent (Tableau 31). Ce polymorphisme

suggère une réponse diversifiée des génotypes d'orge aux froid/gel et à la sécheresse (Kosova et al. 2007, Svensson et al. 2002).



**Figure 31.** Polymorphisme généré par marqueur STS, *Dhn3* et *Dhn7* sur les six génotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et Trémois (V8).

**Tableau 31.** Tableau récapitulatif de description génétique des gènes déhydrines *Dhn 3* et *7* impliqué dans la résistance à la sécheresse chez les génotypes locaux par rapport à Nure et à Tremois.

Génotype	<i>Dhn3</i> 6H (NxT)	<i>Dhn7</i> 6H (NxT)
<b>Nure</b>	A	A
<b>Tremois</b>	B	B
<b>Tichedrett</b>	B	B
<b>Soufara's'</b>	A	A
<b>Rahma</b>	A	B
<b>Fouara</b>	A	A
<b>Tissa</b>	B	C
<b>Elbahia</b>	B	C

Les déhydrines sont associées aux QTL de résistance à la sécheresse (Black et al., 1999, Cellier et al. 1998, Guy et al. 1992, Ingram et Bartels 1996, Labhilili et al. 1995, Cattivelli et al., 2002). Ils sont d'excellents indicateurs de la réponse globale du transcriptome aux basses températures et à la sécheresse (Danyluk et al. 1998; Zhu et al. 2000; Kobayashi et al. 2004;



Suprunova et *al.* 2004; Kosova et *al.* 2007 ; Tommasini et *al.*, 2008). Les déhydrines cartographiées sur le chromosome 6H sont regroupées (Pan et *al.* 1994; Campbell et Close 1997) et en dessous des QTL de la RWC et de l'ajustement osmotique (Teulat et *al.*, 2003).

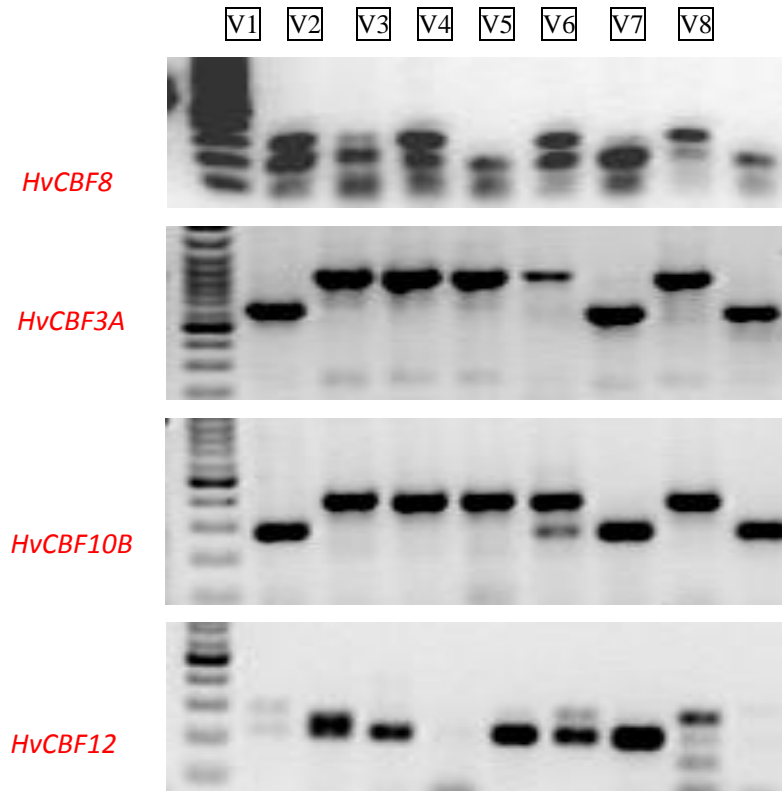
Les protéines déhydrines sont localisées généralement à proximité des tissus vasculaires et l'expression de leurs gènes sont détectés dans le cytosol ou le noyau de certaines cellules et fonctionnent comme cryoprotecteurs en stabilisant les macromolécules cellulaires ou les structures membranaires (Close 1996, Bravo et *al.* 2003, Koag et *al.* 2003). Il est proposé que des déhydrines, des protéines très hydrophiles et solubles à l'ébullition, peuvent stabiliser les membranes soit par une interaction directement avec la surface des membranes, ou indirectement, par leur forte interaction avec l'eau environnante (Pearce, 2001). Chez l'orge, la DHN-like protéine P-80 s'accumule dans le tissu vasculaire et l'épiderme qui sont des zones préférentielles de la formation de glace au début de la congélation (Bravo et *al.* 1999).

Les déhydrines de l'orge sont régulées positivement par les basses températures et sont généralement acides à neutres et / ou du type *SKN*, par exemple, *Dhn5*, *Dhn8* et *Dhn13*, tandis que les *Dhn* du type *YSKn* (*Dhn1*, *Dhn2*, *Dhn3*, *Dhn4*, *Dhn7* et *Dhn9*) ont tendance à être basiques dans la nature et sont généralement augmentées par la déshydratation, mais pas par les basses températures (Choi et *al.*, 1999, et Rodriguez *al.*, 2005).

L'étude de l'expression de ces gènes par rapport à nos génotypes et sous stress expliquerait la réponse et l'adaptation au milieu semi aride.

### **3.2.2. Gènes *Cbfs* ou la famille des C-repeat Binding Factor**

Les *Cbfs* étudiés sont les *HvCBF8*, *HvCBF4*, *HvCBF12*, *HvCBF3A* et *HvCBF10B*. le gène *HvCBF4* a été décrit plus haut dans la tolérance au froid. Le polymorphisme généré par les marqueurs *HvCBF* sont illustrés sur la figure 32 où on note Plusieurs polymorphismes. Les génotypes Tissa et Rahma semblent présenter les mêmes gènes *HvCBF* que ceux de Nure. Tichedrett et Elbahia présentent les mêmes gènes que Tremois à l'exception de *HvCBF8* pour Tichedrett et *HvCBF12* pour Elbahia, qui sont identiques à Nure. Soufara's' a les mêmes gènes que Nure à l'exception du gène *HvCBF8* qui est identique à Tremois. Fouara est identique à Nure avec *HvCBF3A* et *HvCBF10B* (tableau 32).



**Figure 32.** Polymorphisme généré par le marqueur du gène de la famille Cbfs : *HvCBF8* du type CAPS après digestion par l'enzyme *DdeI*, *HvCBF3A* marqueur STS, *HvCBF10B* marqueur STS, *HvCBF12* marqueur ARMS. Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les génotypes Nure(V7) et Trémois (V8).

**Tableau 32.** Tableau récapitulatif de la description génétique des gènes *Cbfs*, gènes candidats de la résistance à la sécheresse, chez les génotypes d'orge locaux par rapport à Nure et à Tremois (NxT).

Génotype	<i>HvCBF3A</i> 5H (NxT)	<i>HvCBF8</i> 5H (NxT)	<i>HvCBF10B</i> 5H (NxT)	<i>HvCBF12</i> 5H (NxT)
<b>Nure</b>	A	A	A	A
<b>Tremois</b>	B	B	B	B
<b>Tichedrett</b>	B	A	B	B
<b>Soufara's'</b>	A	B	A	A
<b>Rahma</b>	A	A	A	A
<b>Fouara</b>	A	B	A	B
<b>Tissa</b>	A	A	A	A
<b>Elbahia</b>	B	B	B	A

Le polymorphisme des gènes *CBF* observé chez les génotypes d'orge sélectionnés dans la région semi aride algérienne exprime leur variabilité quant à la réponse au stress abiotique. Il a été prouvé qu'un total de 109 gènes sont régulés par les *CBF* (Maruyama et al. 2004, Fowler et Thomashow 2002, Vogel et al. 2005), et ils ont été catégorisés en 4 groupes selon la nature des protéines codées. Le plus grand groupe possède plus de 50% des protéines et elles ont des fonctions inconnues; le deuxième possède des protéines cryoprotectrices telles que les protéines LEA; le troisième contient des protéines biosynthétiques qui fonctionnent dans le métabolisme des glucides (Gilmour et al. 2000; Fowler and Thomashow 2002) et des lipides (Maruyama et al. 2004), et le quatrième contient des protéines régulatrices (10% environ) qui fonctionnent comme des facteurs de transcription, des composantes de la voie de la transduction du signal ou comme des protéinases et des inhibiteurs des protéinases.

*HvCBF8* a été localisé à environ 20 cm en position distale du locus Fr-H2 par Francia et al. (2004), mais plus tard a été identifié comme un pseudogène par Skinner et al. (2005). Il est impliqué dans plusieurs voies de signalisation lors d'exposition aux stress (Sakuma et al. 2002). En même temps, *HvCBF3* et *HvCBF8* répondent à la sécheresse et aux basses températures (Baker et al.; Yamaguchi-Shinozaki et Shinozaki 1994). *HvCBF3* est induit spécifiquement par le froid alors que *HvCBF4* est induit par un stress osmotique (Haake et al., 2002).

Présentement, plus de 40 gènes *COR* ont été détectés dans des régulons *CBF* de la réponse au froid (Fowler et Thomashow 2002, Yamaguchi-Shinozaki et Shinozaki 2006), et 38 de ces gènes ont été confirmés comme les gènes cibles de *CBF3* par deux systèmes de micropuces (Maruyama et al. 2004). *CBF3* peut activer des gènes comme *COR15a*, *COR15b*, *COR78* (Thomashow 1998). La surexpression de *CBF3* a montré une augmentation de l'expression de *ZAT10*. Ce dernier serait un répresseur des gènes impliqués dans la photosynthèse et le métabolisme carboné afin d'inhiber la croissance de la plante (Maruyama et al. 2004).

Les facteurs de transcription *CBF* jouent également un rôle important dans la tolérance à la sécheresse. Liu et al. (1998) ont démontré que l'*AtCBFs* ont été capables de communiquer tolérance à la sécheresse tout comme Haake et al. (2002) qui ont démontré que l'induction par *CBF4* de l'*Arabidopsis* a eu lieu en réponse à un stress osmotique, et qu'il était aussi capable d'activer des gènes *COR* contenant un élément de C-repeat dans leur promoteur, *HvCBF8*, ainsi que des cartes *HvABI5* à la proximité d'un QTL qui contrôle le potentiel osmotique.

Une partie des gènes impliqués dans la réponse au froid est commune avec les gènes de réponse à d'autres stress abiotiques, notamment le stress salin et la sécheresse (Seki *et al.*, 2002b ; Shinozaki *et al.*, 2003). L'ABA apparaît comme principal point commun entre les stress abiotiques (froid, salinité et sécheresse) car pour chacun d'eux on connaît une voie de signalisation dépendante de l'ABA mais aussi une voie indépendante de l'ABA (Yamaguchi-Shinozaki et Shinozaki, 1994).

### 3.2.3. Facteurs de transcription

Les facteurs de transcription constituent une étape-clé entre la fin des voies de signalisation et l'activation des gènes de défense. Les facteurs de transcription contrôlent l'expression de gènes impliqués dans la réponse au stress incluant des changements morphologiques, biochimiques et physiologiques. Plusieurs facteurs de transcription (TF) régulateurs de l'expression des gènes *stress inductible* ont été isolés et caractérisés (Singh *et al.* 2002, 2003 Xue; Maruyama *et al.* 2004; Vogel *et al.* 2005). A ce titre, notre choix s'est donc porté sur l'étude, en particulier, des TF appartenant à la famille *CBF* (Thomashow *et al.* 2001), Certains de ces gènes fonctionnent en amont de ce qui précède les FT, principalement dans les événements précoces de la cascade de transduction du signal (par exemple *FRY1*, Xiong *et al.* 2001) ou encore agissant directement dans l'activation de l'expression des facteurs de transcription (par exemple *ICE1*, Chinnusamy *et al.* 2003), *LOS2* (Low expression of osmotically responsive genes) qui agit sur le métabolisme des ARNm et le gène *WRKY* joue un rôle important dans la régulation des mécanismes de défense des plantes.

#### 3.2.3.1. Régulateurs de *CBF* : *ICE1* (Inducer of *CBF* Expression 1) et *FRY1*

##### 3.2.3.1.1. *ICE1* (Inducer of *CBF* Expression 1)

En raison de l'absence de polymorphisme entre Nure et Tremois pour le gène *ICE1*, le séquençage a été réalisé. Deux types de polymorphismes ont été notés sur la position 190 pb. Un SNP noté pour Tichedrett, Fouara et Elbahia et un IN/DEL pour le reste des individus comme c'est le cas de Nure et de Tremois (Tableau 33).

**Tableau 33.** Haplotype et résultats du polymorphisme généré par *ICE1* pour les géotypes d'orges sélectionnés en zone semi aride par rapport à Nure et Tremois.

Géotype	Position 190 pb	<i>ICE1</i> (7H)
Nure	*	C
Tremois	*	C
Tichedrett	T	D
Soufara's'	*	C
Rahma	*	C
Fouara	T	D
Tissa	*	C
Elbahia	T	D

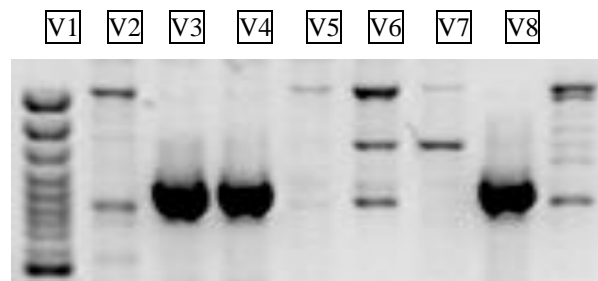
Le gène *ICE1* (Inducer of *CBF* Expression) a été identifié chez *Arabidopsis* à travers un clonage positionnel sur un mutant *ice1* dont l'expression du *CBF3/DREB1A* est modifiée (Chinnusamy *et al.*, 2003). *ICE1* code un facteur de transcription de type *MYC/bHLH* (basic helix-loop-helix) qui régule l'expression du *CBF3/DREB1A* en réponse au froid. Il a été signalé que *ICE1* contrôle l'expression d'environ 40% des gènes de froid (Lee *et al.*, 2005). La surexpression d'*ICE1* dans des plantes transgéniques permet une augmentation de la tolérance au gel, suggérant un rôle activateur d'*ICE1* dans la réponse au stress froid. Un signal froid est nécessaire pour l'activation des protéines *ICE* par phosphorylation, mais le mécanisme de transduction du signal n'est pas encore connu (Chinnusamy *et al.*, 2003 ; Zhu *et al.*, 2007). L'augmentation de l'accumulation *ICE1* permet d'induire l'expression des *CBF*, directement par son interaction avec leurs promoteurs et indirectement par la répression de *MYB15*, et par conséquent, le régulon *CBF* et le processus d'acclimatation au froid (Catala et Salinas, 2008). L'activité de *ICE1* est régulée négativement par *HOS1*, une ubiquitine E3 ligase qui entraîne sa protéolyse (Dong *et al.*, 2006).

Les événements précoces de la réponse au froid en amont de *ICE1* et *HOS1* peuvent impliquer la signalisation  $Ca^{2+}$ . Du traitement au froid résulte une augmentation transitoire de la concentration cytosolique de  $Ca^{2+}$  libre et l'augmentation du niveau cellulaire de  $Ca^{2+}$ , ce qui pourrait activer les gènes d'expression sensible aux basses températures, ceci, à des températures chaudes (Monroy et Dhindsa, 1995)

Sur le chromosome 7H, une association existe entre les deux QTL de tolérance à la sécheresse et la *TC147474* (*FRY1*) et *TC143232* (*ICE1*). Les gènes Effecteurs ont été considérés comme gènes candidats moins probables pour expliquer la tolérance au deux stress abiotiques (le froid et la sécheresse).

### 3.2.3.1.2. FIERY (*FRY1*)

La description du polymorphisme qui peut exister entre les différents géotypes d'orge, par rapport à *TC147474* (*FRY1*), a été réalisée à l'aide de marqueur du type STS. Les résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose sont présentés sur la figure 33.



**Figure 33.** Polymorphisme généré par le marqueur STS, *FRY1* sur les six géotypes locaux (Tichedrett:V1, Soufara's':V2, Rahma:V3, Fouara: V4, Tissa: V5 et Elbahia:V6) comparé avec les géotypes Nure(V7) et Trémois (V8).

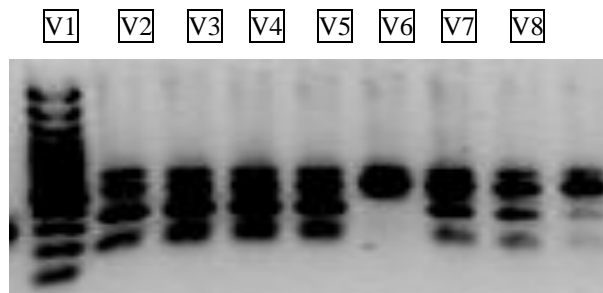
Les géotypes Soufara's' et Rahma présentent le même locus *FRY1* que Nure, alors que les autres individus présentent celui de Tremois (tableau 34).

**Tableau 34.** Résultats du polymorphisme généré par *FRY1* pour les géotypes d'orges sélectionnés en zone semi aride par rapport à Nure et Tremois

Géotype	<i>FRY1</i> (7H)
Nure	A
Tremois	B
Tichedrett	B
Soufara's'	A
Rahma	A
Fouara	B
Tissa	B
Elbahia	B

### 3.2.3.1.3. LOS2 (Low expression of osmotically responsive genes 2)

Le polymorphisme généré par le marqueur du type CAPS a été réalisé après digestion par l'enzyme *Alw26I*. L'électrophorèse sur gel d'agarose illustré sur la figure 34 permet de distinguer la similitude du gène *HvLOS2* pour Tichedrett, Soufara's', Rahma et Fouara avec Nure et seulement Tissa avec Tremois. Ce polymorphisme est résumé sur le tableau 35.



**Figure 34.** Polymorphisme généré par le marqueur CAPS, *HvLOS2* sur les six géotypes locaux (Tichedrett :V1, Soufara's' :V2, Rahma :V3, Fouara : V4, Tissa : V5 et Elbahia :V6) comparé avec les géotypes Nure(V7) et Trémois (V8).

**Tableau 35.** Résultats du polymorphisme généré par *HvLOS2* pour les géotypes d'orges sélectionnés en zone semi aride par rapport à Nure et Tremois.

Géotype	<i>HvLOS2</i> (5H)
Nure	A
Tremois	B
Tichedrett	A
Soufara's'	A
Rahma	A
Fouara	A
Tissa	B
Elbahia	A

*LOS2* code une émolase bifonctionnelle dans la glycolyse qui est nécessaire pour répondre aux basses températures et permet la tolérance au gel chez *A. thaliana* (Lee et al., 2002). Toute perturbation du flux métabolique dans la glycolyse par le froid entraîne une augmentation de l'activité de *LOS2*. Ce dernier a la capacité de se lier au promoteur d'un facteur de transcription à doigt de zinc, *ZAT10*, dont l'expression est transitoire en stress dû au froid. Avec le froid *LOS2* est surexprimé et réprime à son tour *ZAT10*. D'après Walia et al. (2009), sous l'effet de fort

stress salin, *LOS2* est surexprimé chez les génotypes d'orge contrairement à ceux du riz qui se retrouvent sous exprimés.

#### 3.2.3.1.4. *HvWRKY38*

Le facteur de transcription *Hv-WRKY38* est cartographié à proximité de la région sub-centromérique du bras court du chromosome 6H, entre les marqueurs SSR et *Bmag0173* et *Bmag0009* (Francia et al., 2004). La description du gène *HvWRKY38* chez les génotypes d'orge a été faite par séquençage

Les séquences génomiques des génotypes étudiés du gène *Hv-WRKY38* ont été amplifiées et les produits PCR obtenus ont été purifiés. Le produit de la purification a été vérifié par électrophorèse soit la taille de la séquence d'environ 1200 pb.

Le séquençage des deux séquences génomiques a révélé plusieurs SNP et IN/DEL dans les positions 849, 858, 881, 894 et 958. Trois haplotypes ont été distingués. Un premier haplotype représenté par les génotypes Tichedrett, Fouara et Elbahia, un deuxième haplotype par Nure, Soufara's' et Rahma et un troisième haplotype par Tremois et Tissa (Tableau 36).

**Tableau 36.** Les haplotypes générés par le polymorphisme SNP à la suite du séquençage de *Hv-WRKY38* des génotypes d'orge étudiés par comparaison avec Nure et Tremois.

	Position (Pb)					Haplotype
	849	858	881	894	958	
Nure	A	T	T	*	A	II
Tremois	*	C	A	G	G	III
Tichedrett	A	C	T	*	A	I
Soufara's'	A	T	T	*	A	II
Rahma	A	T	T	*	A	II
Fouara	A	C	T	*	A	I
Tissa	*	C	A	G	G	III
Elbahia	A	C	T	*	A	I

Cette famille de gènes est l'un des groupes majeurs de régulateurs de transcription spécifiques des plantes. Elles se distinguent par la présence d'un domaine d'une soixantaine d'acides aminés hautement conservés parmi lesquels la séquence WRKYGQK suivie du motif « zinc binding » CCHH ou CCHC. Les éléments sur lesquels ces facteurs vont se fixer sont du type « W-box » dont la séquence est (T)TGCA(C/T) (Rushton et al., 1995, 1996; De Pater et al.,



1995; Eulgem et *al.*, 1999; Yang et *al.*, 1999; Du and Chen, 2000). Ces facteurs jouent un rôle important dans les réponses aux pathogènes (Yu et *al.*, 2001; Yoda et *al.*, 2002), aux blessures (Hara et *al.*, 2000), lors de la sénescence (Robatzek and Somssich, 2001), ou de la germination (Zhang et *al.*, 2004), mais également dans d'autres stress (Seki et *al.* 2002).

Dans le génome d'*Arabidopsis*, 72 gènes codant pour des protéines de la famille des **WRKY** ont été découverts (Eulgem et *al.*, 2000) et 49 d'entre eux sont régulés lors d'une attaque de pathogène.

De récents travaux ont montré que les facteurs WRKY sont également impliqués dans d'autres réponses au stress.

Dans l'orge, un facteur de transcription appartenant à la famille **WRKY**, *SUSIBA2* (sugar responsive element binding factor) a été retrouvé impliqué dans la signalisation des glucides (Sun et *al.*, 2003). Chez *Arabidopsis*, des expériences récentes faites avec les microarray, ont montré la présence d'un certain nombre de facteurs de transcription **WRKY** surexprimés par la sécheresse, le froid ou la salinité (Fowler et Thomashow, 2002; Seki et *al.*, 2002).

## Conclusion

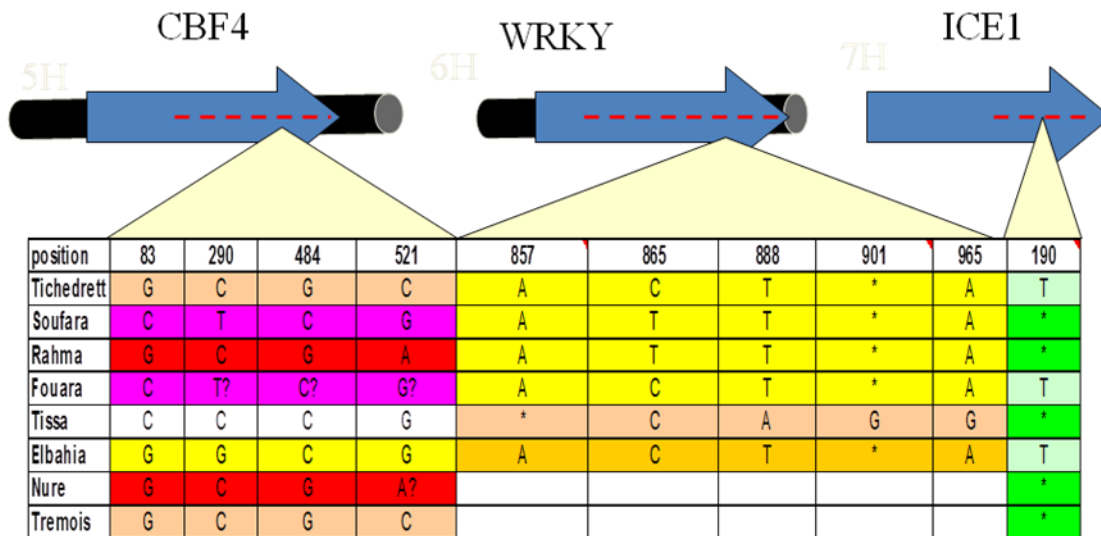
Ce présent travail a montré que les orges sélectionnées pour la région semi aride sont du type printemps (*VRN-H1/VRN-H2*) et ne sont pas exigeantes en froid pour induire la floraison. Ces deux gènes peuvent être utilisés en sélection assistée par marqueurs car ils reflètent l'adaptation arborée par les géotypes adaptés à la région.

Le gène *VRN-H1* est intéressant car bien qu'il explique plus de 80% de la variation du caractère de précocité en conditions non vernalisantes, ce caractère est complexe et résulte de l'interaction d'un grand nombre de gènes dont l'expression est induite par des signaux environnementaux et intrinsèques au cours du développement à savoir *PPD-H1* et *VRN-H3*. Les géotypes Soufara's, Rahma et Tissa ont les mêmes allèles de précocité à l'épiaison que Nure dont la récessivité de *ppd-H1* et de *vrn-H3*. Tichedrett et Elbahia ont présenté une sensibilité à la photopériode par la présence d'un gène différent et une récessivité du gène *vrn-H3*. Tous les géotypes suivent Nure pour la période de floraison autrement dit la précoces avec le gène *HvBM8*, à l'exception de Tissa qui suit Tremois dont la moindre Précocité.

L'ajustement phénologique reste la clé déterminant l'adaptation aux conditions du milieu. Au cours des saisons de végétation longues, comme c'est le cas des régions Nord africaines, la réduction de la réponse à la photopériode permet aux plantes de printemps semées en automne d'éteindre la période de croissance végétative et d'accumuler de la biomasse supplémentaire à l'appui des rendements plus élevés sachant aussi que la majeure partie des précipitations annuelles tombent à l'automne et au printemps. Dans ces conditions, les céréales maximisent leur condition physique en utilisant les pluies d'automne pour établir des structures de végétation avant l'hiver, et la vernalisation ou la tolérance au froid est utilisée comme un mécanisme visant à retarder la floraison jusqu'à l'hiver où le danger de gel est passé. En outre, la capacité de détecter l'augmentation de la photopériode permet à ces espèces de fleurir et de compléter le remplissage du grain en utilisant l'humidité du printemps avant la sécheresse précoce.

La résistance au froid peut être caractérisée par les deux gènes *Fr-H1* (*VRN-H1*) et *Fr-H2* (*HvCBF4*), les géotypes sélectionnés dans la région semi aride de Sétif se sont distingués par la faible résistance de Tichedrett et d'Elbahia par rapport à Nure qui est résistante. Les autres individus ont une résistance variable et différente due à l'effet pléiotropique de ces deux gènes.

Les 16 marqueurs utilisés ont montré que les génotypes sont polymorphes. Le niveau de diversité est surtout pour les gènes de tolérance au stress abiotique. Treize gènes ont pu être décrits par rapport à la connaissance préalable chez Nure et Tremois et trois autres ont été séquencés en raison de la présence de nouveaux allèles par rapport à ceux testés (Figure 35).



**Figure 35.** Schéma récapitulatif des parties séquencées et du polymorphisme haplotypique existant pour les gènes CBF4, WRKY et ICE1 pour les génotypes d'orge sélectionnés en zone semi aride algérienne.

Cette présente étude exprime la diversité génétique que peut contenir les sélections locales des variétés d'orge. L'étude de l'expression de ces différents gènes et leurs interactions doit faire l'objet de travaux de recherche pour cerner de nouveaux critères de sélections.

*Chapitre IV. Approche associative des caractères physiologiques et biochimiques de la réponse au stress hydrique à quelques gènes candidats de la résistance au stress abiotique*

---

## **CHAPITRE IV. Approche associative des caractères physiologiques et biochimiques de la réponse au stress hydrique à quelques gènes candidats de la résistance au stress abiotique**

### **Introduction**

Par sa position de grand importateur de céréales, l'Algérie achète annuellement plus de 5% de la production céréalière mondiale, cette situation risque de se prolonger à plusieurs années, faute de rendements insuffisants et des besoins de consommation sans cesse croissants devant une forte évolution démographique (Chellali, 2007). En effet une production très insuffisante de 2.7 Mt pour couvrir les besoins du marché national et alimenter les stocks pousse à faire un recours systématique aux importations (FAO, 2007). Cette faiblesse de la production est liée particulièrement aux effets du stress hydrique qui se font ressentir de manière très importante depuis la dernière décennie (Chaise et *al.*, 2005).

La plupart des travaux effectués sur l'orge dans le cadre de l'amélioration génétique de la tolérance au stress abiotique, se sont donnés depuis longtemps pour objectif primordial l'augmentation de la productivité, une approche basée sur les performances agronomiques. Actuellement, les programmes d'amélioration, se sont penché sur l'amélioration génétique de la tolérance au stress hydrique. Cette amélioration exige d'étudier, d'identifier et de vérifier les caractères liés à la résistance au stress hydrique. De même, l'étude génétique par la recherche de marqueurs moléculaires du mode de transmission et de l'héritabilité des caractères repérés, comme bons indicateurs de la tolérance au stress hydrique est nécessaire pour faciliter l'utilisation de ces caractères dans les programmes de sélection pour l'amélioration génétique (Pfeiffer et *al.*, 2000).

La capacité d'évaluer quantitativement les performances des plantes cultivées subissant un stress hydrique est très importante pour permettre la réhabilitation et l'amélioration de la production en région semi aride. Les réponses au stress font intervenir un ensemble de systèmes de régulations moléculaires d'ordre transcriptionnel, transductionnel, enzymatique et métabolique qui se traduisent par un phénotype complexe.

Pour répondre à cette préoccupation, Ce travail a pour objectif i) de comparer le comportement de huit variétés d'orge sous stress hydrique, ceci par l'étude de quelques paramètres physiologiques et biochimiques ii) associer les réponses physiologiques et

biochimiques aux caractères moléculaires pour extraire les caractères les mieux corrélés ayant un effet dans la résistance au stress abiotique et plus précisément le stress hydrique .

## **Matériel et méthodes**

### **1. Matériel végétal et mise en place de l'essai**

Les mesures et analyses ont été effectuées sur un matériel végétal constitué de six variétés d'orge sélectionnés en zone semi aride par l'institut technique des grandes cultures (*Cf. chapitre II*) en plus des deux variétés Nure et Tremois (*Cf. chapitre III*).

L'essai a été réalisé dans des pots de 5 litres sous serre. Le choix de la conduite de l'essai sous serres et en pot, a été guidé par le souci d'une plus grande maîtrise de l'eau du sol d'une part et d'éviter, d'autre part, les risques de rupture de stress hydrique pour la culture, en cas de précipitations. Chaque pot contient 3300 g de substrat, constitué par un mélange de terre, de terreau avec des proportions respectives de 1/3 et 2/3. La couche inférieure est constituée de gravier pour permettre un bon drainage. Les grains sont mis à germer à l'obscurité et à saturation d'humidité dans des boîtes de pétri. Après germination, les plantules sont repiquées dans les pots à raison de huit plantules par pot. Le repiquage a été effectué, manuellement avec une densité de semis de 230 plant/m<sup>2</sup> pour toutes les variétés.

### **2. Protocole expérimental**

L'essai comporte deux facteurs : le facteur génotypes et le facteur stress appliqué au stade 3 feuilles. Le dispositif expérimental réalisé est une randomisation totale avec quatre répétitions. L'espace entre les pots est de 10 cm.

Les 8 génotypes ont subi un stress provoqué artificiellement par un arrêt total des irrigations pour chaque traitement jusqu'à l'obtention du taux de tarissement du sol recherché. Dès que ce taux est atteint, on reprend l'irrigation des pots stressés. Le contrôle du dessèchement du sol est fait par pesées quotidiennes des pots en période de stress jusqu'à l'obtention du poids final du pot ; qui doit correspondre au taux de tarissement de 80.pour cent de la réserve utile (80 % de la RU) et qui est un stress sévère. Ainsi deux traitements sont retenus à savoir le témoin sans déficit hydrique avec le sol maintenu à 100% de sa capacité de rétention en eau. Et le stressé avec un déficit hydrique prononcé, le sol est maintenu à 20% de sa capacité de rétention.

### **3. Caractères mesurés**

Les mesures ont été faites après application du stress sur la dernière feuille développée par la plante, et qui est marqué par les effets de la carence hydrique par mesure de la surface foliaire et des paramètres physiologiques qui sont la teneur relative en eau, l'indice de stabilité membranaire et la pression osmotique. Les paramètres biochimiques sont la teneur en proline et les sucres totaux. Les méthodes utilisées sont celles développées dans le chapitre II.

### **4. Caractères génétiques candidats à la résistance au stress abiotique**

Les résultats de la description moléculaire du chapitre III ont été résumés en un tableau, afin de les corrélés aux résultats obtenus de la réponse au stress au cours de ce chapitre.

### **5. Analyse statistiques des résultats**

Les données relatives à l'effet du stress sur les variétés d'orge ont fait l'objet d'analyse de variance à deux facteurs, le facteur génotype et le facteur stress. Le logiciel utilisé est le *stat box pro version 6*.

La corrélation des caractères phénotypiques de réponse au stress avec les gènes candidats de la résistance à la sécheresse a été réalisée sur la base de deux types de données disponibles des données qualitatives et des traits quantitatifs.

Les caractéristiques phénotypiques sont les paramètres physiologiques et biochimiques de la réponse au stress hydrique et sont des données quantitatives estimées par la différence relative (D) qui a été calculée et utilisée pour l'association aux marqueurs moléculaires selon l'équation suivante :

$$D = \frac{Rs - Rns}{Rns} \times 100$$

D : différence relative, Rs : réponse après stress, Rns : réponse du témoin.

Les caractères génétiques sont ceux de la description génétique décrite par marquage moléculaire du chapitre III, ce sont des données qualitatives.

La comparaison des caractères quantitatifs et qualitatifs a été réalisée par le logiciel *SYSTAT 10* avec le test t de Student et le test non paramétrique de Kruskal-Wallis séparément afin de ressortir le maximum de corrélation possible pouvant exister. Les gènes présentant des différences haplotypiques ont été comparés par une simple ANOVA.

## Résultats et discussions

### 1. Effet de l'application du stress hydrique sur la surface foliaire

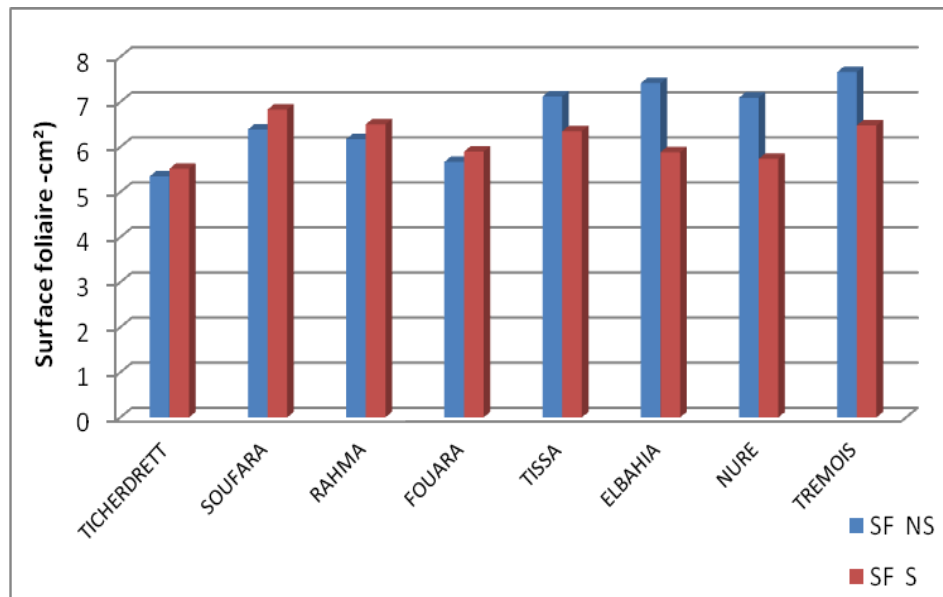
La croissance de la dernière feuille qui a subi les effets du stress hydrique semble être affectée. L'analyse de la variance fait ressortir un effet génotype hautement significatif et des effets stress et interaction stress significatifs (Tableau 37). Avant application du stress, la surface foliaire était en moyenne de  $6,6 \pm 0,7\text{cm}^2$ , le manque d'eau a provoqué une diminution de  $0,46\text{cm}^2$ . Le manque d'eau n'a pas affecté Tichedrett, Soufara's', Rahma et Fouara, leur croissance a été maintenue et légèrement améliorée malgré la contrainte (Figure 36). Ce résultat a été noté par Temagoult (2009), sur le tournesol. D'après Blum et Arkin (1984), chez certaines plantes cultivées adaptées à la sécheresse telle que le sorgho, sous l'effet du stress hydrique les jeunes feuilles conservent leur turgescence, leur conductance stomatique et l'assimilation en raison de l'ajustement osmotique élevée. Bouzerzour et *al.* (1989) ont démontré que Tichedrett présentait un taux de croissance élevé en début de cycle et ils rajoutent que le manque d'eau l'augmente plus.

**Tableau 37.** Valeurs moyennes ( $\text{cm}^2$ ) et résultats de l'analyse de la variance de la surface foliaire mesurée sous l'effet du stress hydrique.

	non stressé	Stressé
<b>Tichedrett</b>	5,35	5,519
<b>Soufara's'</b>	6,389	6,833
<b>Rahma</b>	6,172	6,506
<b>Fouara</b>	5,67	5,899
<b>Tissa</b>	7,124	6,352
<b>Elbahia</b>	7,419	5,883
<b>Nure</b>	7,095	5,737
<b>Tremois</b>	7,665	6,48
<b>moyennes</b>	6,611	6,151
<b>Effet génotype (G)</b>		**
<b>Effet stress</b>		*
<b>Interactions G x stress</b>		*
<b>CV%</b>		12,15
<b>MG</b>		6,381
<b>Ecart type</b>		0,77



La surface foliaire a baissé pour chez les variétés Tissa, Elbahia, Nure et Tremois exprimant leur sensibilité au stress hydrique induit. En effet, le déficit hydrique réduit fréquemment la croissance de la feuille et en conséquence la surface foliaire chez plusieurs espèces comme le peuplier (Wullschleger *et al.*, 2005), le soja (Zhang *et al.*, 2004) et d'autres espèces (Farooq *et al.*, 2009).



**Figure 36.** Changement en la surface foliaire (SF) de l'orge au stade trois feuilles sous l'effet du stress hydrique. (NS, non stressé ; S stressé).

## **2. Effet de l'application du stress hydrique sur les caractères physiologiques et biochimiques des génotypes d'orge**

Les résultats obtenus révèlent une variabilité entre les génotypes expérimentés vis à vis de la teneur relative en eau et le taux de sucres solubles (Tableau 38).

L'analyse de la variance montre un effet stress très hautement significatif pour l'ensemble des caractères mesurés. L'interaction génotype x stress ne semble être significative que pour la pression osmotique.

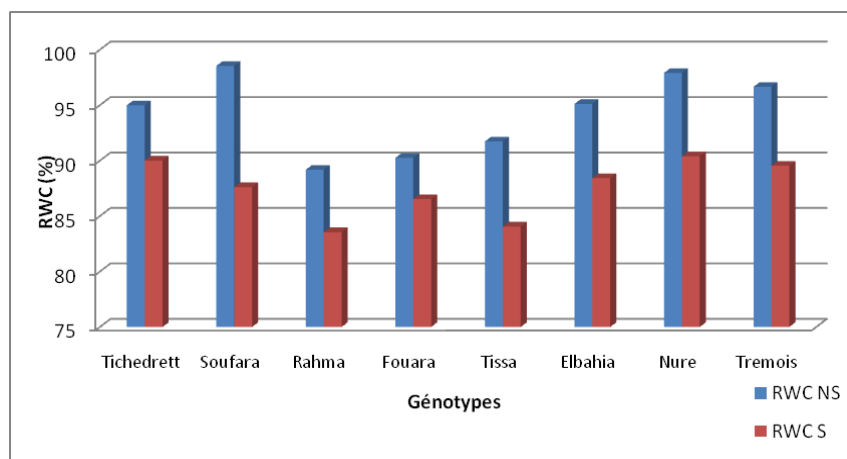
**Tableau 38.** Valeurs moyennes des caractères physiologiques et biochimiques mesurés et les résultats de l'analyse de la variance.

	RWC (%)		Proline (%g/gMF)		Sucres solubles (mM/l)		Pression osmotique (MPa)		ISM (%)	
	non stressé	Stressé	non stressé	Stressé	non stressé	Stressé	non stressé	Stressé	non stressé	Stressé
<b>Tichedrett</b>	94,99	90,01	3,13	3,17	132,01	150,06	-1,19	-2,40	77,93	57,76
<b>Soufara's'</b>	98,53	87,61	3,14	3,21	139,76	144,75	-1,26	-1,87	79,51	63,52
<b>Rahma</b>	89,18	83,56	3,13	3,17	125,52	146,72	-1,2	-2,22	79,79	58,12
<b>Fouara</b>	90,25	86,53	3,13	3,17	129,69	144,66	-1,19	-2,34	78,71	59,36
<b>Tissa</b>	91,73	84,06	3,15	3,23	124,30	146,91	-1,18	-2,13	77,35	50,48
<b>Elbahia</b>	95,11	88,43	3,11	3,17	114,06	144,47	-1,24	-2,00	83,35	57,97
<b>Nure</b>	97,9	90,38	3,13	3,21	125,24	144,67	-1,26	-2,11	79,75	67,83
<b>Tremois</b>	96,65	89,54	3,10	3,18	123,99	148,07	-1,24	-2,32	80,46	55,85
<b>moyennes</b>	93.615	88.202	3,13	3,17	126,82	146,29	-1,19	-2,40	77,93	57,76
<b>Effet génotype G</b>		*		NS		*		NS		NS
<b>effet stress</b>		***		***		***		***		***
<b>interaction G x stress</b>		NS		NS		NS		***		NS
<b>CV%</b>		4.66		1.38		5.53		9.37		9.38
<b>MG</b>		90.90		3.16		136.56		-1.69		69.24
<b>Ecart type</b>		4.21		0,04		7,54		0.16		6,53

\*, \*\*\*: significatif à  $P < 0.05$  et très hautement significatif à  $P < 0.001$ , respectivement; NS, non significatif.

## 2.1. Teneur relative en eau (RWC)

Le stress hydrique a affecté la teneur relative en eau des feuilles. La variété Fouara semble être la moins affectée par le manque d'eau avec une diminution de seulement 3,7%, elle est suivie par Tichedrett avec 5% et Rahma avec 5,6%. La sensibilité est en faveur de Soufara's' dont la perte en eau est de 11% (figure 37).



**Figure 37.** Changement en la teneur relative en eau (RWC) des feuilles d'orge au stade trois feuilles sous l'effet du stress hydrique. NS, non stressé ; S stressé.

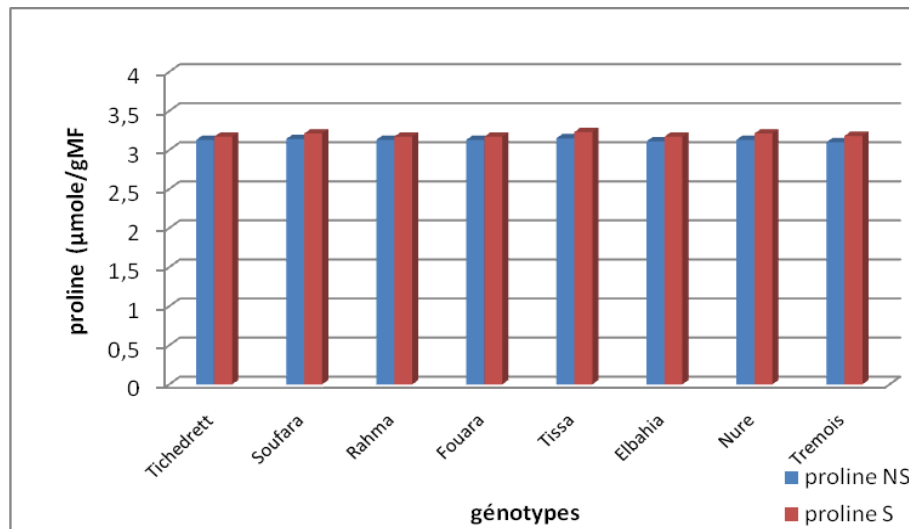
La teneur relative en eau des feuilles est un indicateur qui permet de caractériser directement ou indirectement l'état hydrique des plantes surtout dans les cas les plus extrêmes où elle caractérise la dessiccation des cellules (Tardieu, 1996). La RWC élevée a été rapportée comme étant une tolérance à la sécheresse de cultivars de blé (Martin *et al.*, 1997). En effet d'après Monneveux *et al.* (1992), la RWC permet de détecter les variétés tolérantes à la sécheresse par le maintien de cette teneur à des potentiels hydriques faibles, et donc à une capacité d'ajustement osmotique élevée, le cas de Fouara et de Tichedrett.

Selon Teulat *et al.* (2003), neuf régions chromosomiques ont été trouvées comme étant impliquées dans le contrôle de la teneur en eau par rapport à l'orge cultivée en plein champ en Méditerranée. Parmi elles, au moins quatre pourraient être considérées comme des régions stables dans plusieurs conditions de croissance, parce que elles présentaient des effets principaux sur le terrain dans plusieurs environnements ou parce qu'ils sont les mêmes que celles identifiées dans des conditions contrôlées.

## **2.2. Proline**

Le taux de la proline dans les feuilles de l'orge au stade trois feuilles a été identique pour tous les cultivars. En effet l'analyse de la variance ne présente pas de différences significatives que ce soit pour l'effet génotypes ou pour l'interaction génotype x stress. Par contre l'effet stress a été très hautement significatif (Tableau 38).

Les génotypes semblent se comporter de façon identique, Par ailleurs, les plantes stressées ont augmenté légèrement leur teneur en proline en réponse au stress soit en moyenne de 3,13 à 3,17  $\mu\text{mole/g MF}$  (figure 38). Les résultats obtenus montrent que l'augmentation n'est pas assez suffisante pour confirmer la participation de la proline à l'ajustement osmotique.



**Figure 38.** changement en proline sous l'effet de stress hydrique chez des génotypes d'orge au stade trois feuilles. NS, non stressé ; S stressé

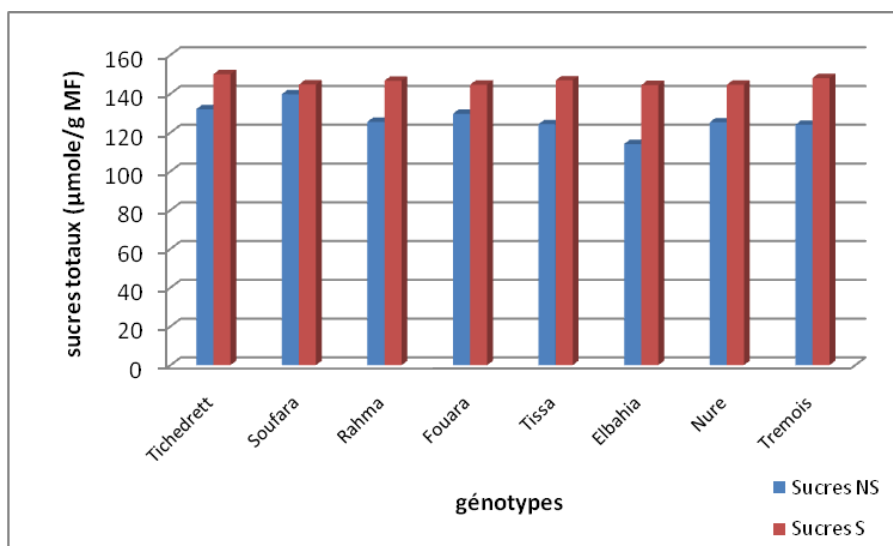
Patel et Vora (1985) ont démontré que l'augmentation du niveau de stress augmente la concentration en proline au niveau des feuilles pour le blé, la moutarde, le plantain et le pavot. la quantité de proline est en corrélation positive avec le degré du stress hydrique (Monneveux et Nemmar, 1986; Bellinger *et al.*, 1991 et Gorham, 1993). Même sous l'effet de stress salin, un taux de proline élevé n'est obtenu qu'avec des concentrations élevées des sels dans le sol (Tewari et Singh, 1991). La proline accumulée a été proposée comme protectrice d'enzymes (Schobert et Tschesche, 1978; Arakawa et Timasheff, 1983; 1985), de membranes (Rudolph *et al.*, 1986) et des polyribosomes (Kandpal et Rao, 1985) lors de perturbations de l'environnement. Ceci suggère que la réponse commune d'adaptation des plantes aux conditions environnementales défavorables n'est pas purement osmotique dans la nature.

### 2.3. Sucres solubles totaux

Le dosage des sucres solubles a montré une variabilité quant à leurs accumulations dans les feuilles que ce soit pour les génotypes ou pour l'effet de stress. L'analyse de la variance exprime clairement ces variabilités. Par contre l'interaction génotype x stress n'a pas été significative (Tableau 38).

Il se produit une nette augmentation de la teneur en sucres solubles totaux après une exposition au stress (Figure 40). Soufara 's' et Tichedrett se démarquent des autres individus par leurs taux de sucres élevés sans l'effet du stress. Par ailleurs, les génotypes qui ont présenté une

différence d'accumulation en sucres élevée par rapport au témoin non stressé, sont les génotypes Elbahia suivie par Tremois, Tissa et un peu moins Rahma. Tichedrett et Nure ont présenté un même niveau d'accumulation de sucres. Par ailleurs, Soufara's n'a pas semblé réagir au stress hydrique par une accumulation de sucres solubles.



**Figure 39.** Effet du stress hydrique sur la teneur en sucres solubles dans les feuilles d'orge au stade trois feuilles. NS, non stressé ; S stressé

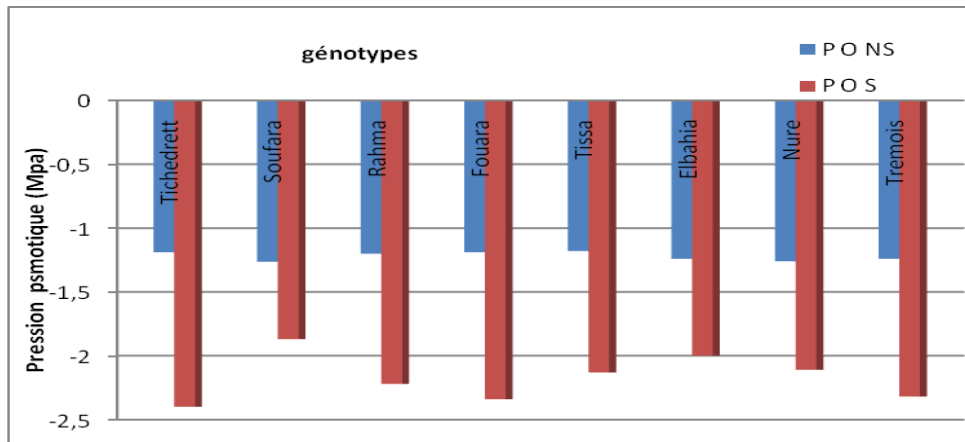
Nos résultats corroborent ceux de Massacci et *al.* (1996) sur le fait que les plantes accumulent précocement les sucres après stress hydrique. L'accumulation des sucres solubles dans les feuilles a été largement rapportée comme une réponse à la sécheresse, à la salinité et au froid. Ils participeraient au phénomène d'ajustement osmotique (Lewicki, 1993, Arbona et *al.*, 2005) pour garder la turgescence et la balance cytosolique plus élevées que possible (Bouzoubaa et *al.*, 2001). Ils permettent également la préservation de l'intégrité membranaire dans les organes desséchés ainsi qu'une protection des protéines (Darbyshire, 1974). La réaction de Tichedrett exprime sa plasticité par rapport aux variations du milieu et sa capacité de maintenir une balance osmotique élevée.

## **2.4. La pression osmotique**

Lorsque le déficit hydrique se développe, divers solutés s'accumulent dans les cellules et les tissus par la suite le potentiel osmotique est réduit. L'effet du stress a été considérablement

important sur le comportement des variétés d'orge vis-à-vis de la pression osmotique. L'analyse de la variance a présenté des différences très hautement significatives (Tableau 38).

Lorsque le stress est appliqué l'abaissement de la pression osmotique est plus prononcé chez toutes les variétés, traduisant la déshydratation des feuilles (Figure 40). Cette baisse dénote une perturbation dans l'alimentation hydrique des plantes en question et pourrait être considérée comme un critère approprié de la tolérance ou de la sensibilité à la sécheresse.



**Figure 40.** effet du stress hydrique sur la pression osmotique dans les feuilles d'orge au stade trois feuilles. NS, non stressé ; S stressé

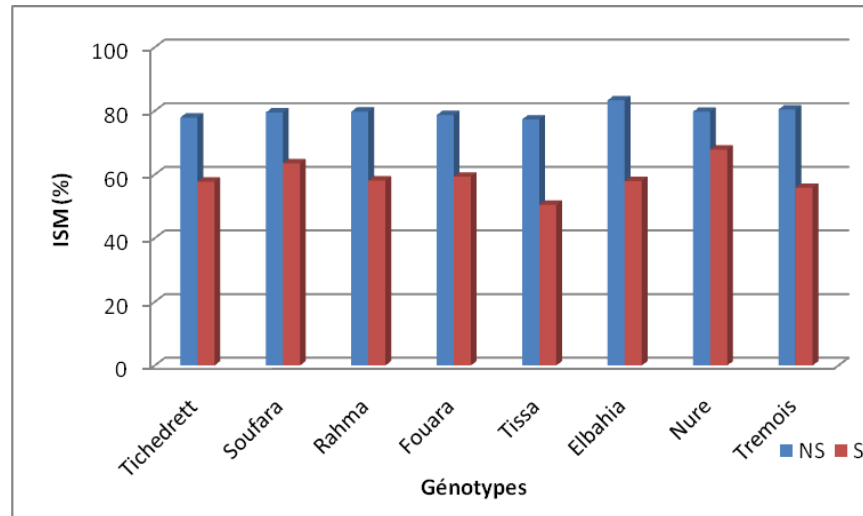
L'interaction génotype x stress a été très hautement significative où l'on note que des génotypes ont baissé leur pression osmotique sous l'effet du manque d'eau et c'est principalement le cas de Tichedrett, Fouara et Tremois.

La pression osmotique du milieu extérieur fait diminuer la teneur en eau chez la plante toute entière (Slayter, 1967). Ceci entraîne donc, une diminution de la mobilité des éléments nutritifs. Il y a aussi diminution du volume du milieu aqueux où se passent les réactions biochimiques qui assurent le meilleur développement de la plante. En effet, en situation de stress hydrique, le potentiel hydrique du sol s'abaisse, la plante réagit en abaissant également le potentiel hydrique des racines et peut pour cela, diminuer la pression mécanique exercée par les parois (début de plasmolyse) ou moduler la pression osmotique en augmentant l'osmolarité de la solution cellulaire par accumulation de solutés ou osmoticum.

## **2.5. Indice de stabilité membranaire I.S.M**

L'indice de stabilité membranaire montre une unanimité dans la réponse au stress de ces génotypes d'orge. En effet, l'analyse de la variance a présenté des différences non significatives que ce soit pour l'effet génotype que pour l'interaction génotype x stress (Tableau 38). Par contre l'effet stress a été très hautement significatif.

L'index de stabilité membranaire a montré une diminution sous stress (une différence moyenne de 20,17%). Les génotypes les plus affectés par la perte en électrolytes sont Tissa, Elbahia et Tremois. Alors que Nure et Soufara 's' semblent être plus résistantes, leur indice de stabilité membranaire ne diminue que de 11% et 15% respectivement, par rapport au témoin (Figure 41). D'après les travaux de Blum et de Ebercorn (1976, 1981) sur le sorgho et le blé, et Premachandra et *al.* (1990) sur le maïs, la plus grande stabilité de la membrane et le pourcentage de diminution minimum sous stress hydrique est noté chez le génotype tolérant, cas de Nure et de Soufara's'. Le maintien de l'intégrité membranaire a été utilisé comme une mesure de tolérance à la sécheresse par plusieurs auteurs (Premchandra et *al.* 1990, Deshmukh et *al.* 1991). Les fuites sont considérées comme indice de dommages ou la proportion de cellules mortes dans le tissu (Blum, 1988). La membrane plasmique est généralement protégée contre la dessiccation par la présence de solutés compatibles avec la membrane, tels que les sucres et les acides aminés (Schwab et Heber, 1984). Par conséquent, un lien peut exister entre la capacité d'ajustement osmotique et le degré de protection de la membrane des effets de la déshydratation (Liley et Ludlow, 1996).



**Figure 41** . Effet du stress hydrique sur l’index de la stabilité membranaire (ISM) sur les feuilles d’orge au stade trois feuilles.

Le stress hydrique induit une diminution de la stabilité membranaire en raison de la peroxydation des lipides causé chez les espèces à oxygène actif (Dhindsa et *al.*, 1981 ; Pastori and Trippi, 1981; Baisak et *al.* 1983). Une peroxydation faible des lipides et une grande stabilité membranaire (lessivage faible des ions) ont été observées chez des génotypes tolérants de blé (Kraus et *al.*, 1984) et de maïs (Pastori et Trippi, 1992). La meilleure performance notée pour ces génotypes sous stress hydrique en termes d’ISM exprime leur bonne adaptation aux conditions défavorables, sans toutefois oublier de signaler que leur activité de peroxydation lipidique est moindre ou limitées.

### 3. Caractères moléculaires

Sur la base des résultats obtenus dans le chapitre III et afin de dégager la corrélation des caractères génétiques avec les réactions de l’orge face au stress hydrique, le tableau 39 résume le polymorphisme génétique détecté pour les 16 marqueurs testés. La variabilité vis-à-vis des gènes de croissance, ceux du type d’habitat et de photopériodismes reflète l’adaptation de ces variétés au milieu semi aride pour lequel elles ont été sélectionnées.



**Tableau 39** : Variabilité génétique de quelques variétés d'orge sélectionnées dans la zone semi aride algérienne comparé à la population Nure x Tremois.

	PRR, PpdHI (2H)	HvBM8 (2H)	HvBMSA VrmHI (5H)	HvZcctH VrmH2 (4H)	LOS2 (5H)	HvCBF8 (5H)	HvCBF4 Haplotype (5H)	HvCBF12 (5H)	HvCBF3A (5H)	HvCBF10B (5H)	Dhm3 6H (NxT)	Dhm7 6H (NxT)	HvWRKY38 Haplotype (6H)	HvF VrmH3 (7H)	FRY1 (7H)	ICE1 (7H)
Tichedrett	D	A	B	A	A	A	I	B	B	B	B	B	I	C	B	D
Soufara's'	C	A	A	B	A	B	II	A	A	A	A	A	II	C	A	C
Rahma	D	A	B	B	A	A	III	A	A	A	A	B	II	C	A	C
Fouara	C	A	B	A	A	B	II	B	A	A	A	A	I	C	B	D
Tissa	C	B	B	A	B	A	I	A	A	A	B	C	III	C	B	C
Elbahia	D	A	B	A	A	B	I	A	B	B	B	C	I	C	B	D
Nure	C	A	A	A	A	A	III	A	A	A	A	A	II	C	A	C
Tremois	C	B	B	B	B	B	I	B	B	B	B	B	III	C	B	C

On note une forte diversité des génotypes locaux vis-à-vis des gènes de résistance au stress abiotique dénotant une variabilité accrue quant à la réponse au milieu stressant, et l'éloignement des variétés d'orge sélectionnées du génotype local Tichedrett qui répond le mieux aux conditions de la région semi aride algérienne.

#### **4. Association des caractères phénotypiques de la réponse au stress aux gènes candidats de la résistance à la sécheresse**

L'association des caractères phénotypiques avec les marqueurs testés par le biais du test non-paramétrique de Kruskal-Wallis suggère l'existence d'associations significatives ( $P \leq 0,05$ ) seulement pour l'indice de stabilité membranaire avec les marqueurs *HvBM8*, *HvZCCT-H*, *HvBM5A* et *HvLOS2*. Le test t de Student n'a détecté d'associations significatives ( $P \leq 0,05$ ) qu'avec *HvBM5A* et l'indice de stabilité membranaire (Tableau 40).

La fluidité membranaire est un facteur déterminant pour l'adaptation des cellules à la fois à haute et basse température (Levitt, 1980). Les plantes réagissent en augmentant la quantité de phospholipides polyinsaturés pour maintenir la bonne fluidité membranaire sous stress (Miquel et al., 1993). la nature chimique des têtes polaires et le degré d'insaturation des chaînes d'acides gras estérifiés sont intimement liés à l'adaptation des plantes à leur environnement au cours de leur développement (Gombos et al., 1994).

Le stress hydrique est connu pour causer l'altération de la composition chimique et les propriétés physiques de la paroi (extensibilité) qui se lignifie en situation de stress prolongé, avec pour conséquence un ralentissement voire un arrêt de l'élongation cellulaire (Ingram et Barte, 1996). Parmi ses éléments constitutifs les protéines dites "extensines" (hydroxyproline-rich glycoproteins) ont été très étudiées car leur expression et leur présence dans la paroi sont modulées par les stress abiotiques (Yoshida et al., 2001 ; Merkouropoulos et al., 2003).

La paroi cellulaire et la membrane plasmique agissent comme interface fonctionnelle pour les échanges chimiques et des signaux mécaniques. Ceci suggère qu'ils n'ont pas seulement un rôle structurel à travers leurs domaines extracellulaires, mais aussi un rôle de signalisation à travers leurs domaines cytoplasmiques, et peuvent ainsi agir sur la communication entre les apoplastes et le cytoplasme (Kohorn, 2001).

La perte de l'intégrité des membranes conduit à la perte de contrôle sur les principales fonctions de réglementation et de récepteur, qui finalement conduit à la sénescence de la plante entière (Crow et al., 1993). Lorsque les plantes sont soumises à la sécheresse, elles tentent de s'adapter au nouvel environnement en changeant leur profil d'expression génétique après perception des signaux de stress (Ozturk et al, 2002;. Seki et al, 2002;. Hazen et al, 2005.). Par conséquent, les gènes dont l'expression est altérée sont probablement ceux impliqués dans les voies de la réaction des plantes à la sécheresse.

Ces résultats suggèrent l'implication des gènes de développement dans la résistance au stress hydrique. En effet, ces derniers ont souvent des effets pléiotropiques sur un certain nombre de traits, y compris la tolérance au stress (Forster et al., 1999). Les gènes du développement dans le blé, notamment ceux impliqués dans la période de floraison, sont connus pour avoir des effets pléiotropiques sur la tolérance aux stress abiotiques. Lorsque les lignées portent les allèles de besoin de vernalisation (*Vrn / VRN*) et d'exigence en photopériode (*Ppd / PPD*), elles sont les plus tolérantes à la salinité (Taeb et al., 1992).

Le niveau de transcription du gène codant une désaturase est induit par le froid en présence de *LOS2*. Tout manque en désaturase conduit à une sensibilité au froid. D'après Lee et al. (2000) la polyinsaturation des phospholipides des membranes ne peut pas se produire chez les plants présentant le gène récessif *los2* en réponse au froid. La sur-régulation de *LOS2* réprime la transcription de *ZAT10* qui est régulé négativement par le gène *COR* qui confère la tolérance au froid et à la sécheresse (Thomashow, 1994; Hughes and Dunn, 1996; Seki et al., 2002; Kume et al., 2005). L'élément de réponse à la sécheresse (DRE, la séquence: TACCGACAT) est présent dans le promoteur des gènes *COR* (Yamaguchi-Shinozaki et Shinozaki, 1994).

**Tableau 40.** Association des caractères phénotypique de réponse au stress de quelques génotypes d'orge sélectionnés dans la zone semi aride aux gènes candidats de la résistance à la sécheresse.

Phenotype	Test statistique	Chrom 2H		Chrom 4H		Chrom 5H						Chrom 6H			Chrom 7H		
		PR	HvBM8	HvZCT-H (Vrn-H2)	LOS2	HvCBF8	HvCBF4 *	HvCBF12	HvCBF3A	HvCBF10B	HvBM5A (Vrn-H1)	Dhn3	Dhn7	HvWRKY38 *	HvFT (Vrn-H3)	ICE1	FRY1
D_SF	P t-test	0,770	0,351	0,418	0,351	0,920	0,303	0,379	0,379	0,632	0,975	0,181	0,792	-	-	0,828	0,552
	P K-W	0,881	0,505	0,180	0,505	1,00		0,180	0,800	0,655	0,739	0,149	0,293	-	-	0,655	0,297
D_RWC	P t-test	0,189	0,333	0,966	0,333	0,530	0,333	0,413	0,146	0,924	0,437	0,762	-	-	0,476	0,894	
	P K-W	0,297	0,505	0,881	0,505	0,386		0,468	0,180	0,739	0,386	0,790	-	-	0,881	0,655	
D_proline	P t-test	0,090	0,104	0,819	0,104	0,849	0,961	0,508	0,925	0,270	0,603	0,622	-	-	0,090	0,84	
	P K-W	0,093	0,088	0,647	0,088	0,767		0,141	0,879	0,306	0,554	0,890	-	-	0,093	0,879	
D_pression osmotique	P t-test	0,186	0,897	0,199	0,897	0,143	0,561	0,349	0,363	0,132	0,557	0,247	-	-	0,191	0,244	
	P K-W	0,180	0,505	0,297	0,505	0,083		0,343	0,881	0,182	0,564	0,249	-	-	0,297	0,655	
D_sucres	P t-test	0,298	0,487	0,474	0,487	0,885	0,150	0,268	0,180	0,141	0,108	0,172	-	-	0,634	0,252	
	P K-W	0,456	0,182	0,881	0,182	1,00		0,46	0,180	0,182	0,083	0,103	-	-	0,881	0,297	
D_ISM	P t-test	0,653	0,06	0,922	0,06	0,942	0,245	0,938	0,388	0,016	0,861	0,201	-	-	0,860	0,059	
	P K-W	0,655	0,046	0,022	0,046	1,00		0,285	0,297	0,046	0,773	0,574	-	-	0,881	0,101	

**P t-test:** probabilité du test t de Student

**P K-W:** probabilité dans le test de Kruskal-Wallis

\*: probabilité par le test ANOVA

**D\_SF :** différence relative de la surface foliaire

**D\_RWC :** différence relative de la RWC

Le mécanisme par lequel les gènes *COR* stabilisent les membranes n'est pas encore connu (Thomashow, 1998), mais il est probable que ces gènes codent pour des protéines hautement hydrophiles qui interagissent avec les macromolécules et / ou des membranes pour les protéger des dommages induits par la déshydratation, conservant ainsi leur intégrité fonctionnelle (Kazuoka et Oeda, 1992; Webb et Gilmour, 1996). D'autre part, l'expression des gènes *COR* est déclenchée par les facteurs de transcription *CBF* (Stockinger et *al.*, 1997 ; Skinner et *al.*, 2005) qui peuvent être induits par le froid et/ou la sécheresse (Vagujfalvi et *al.*, 2003; Jaglo et *al.*, 2001 ; Kizis et *al.*, 2002). Limin et Fowler (2006) ont suggéré que *VRN1* ou des gènes induits par *VRN1* peuvent réguler négativement la voie *CBF / COR* .

## **Conclusion**

Au cours de ce chapitre nous avons décrit la réponse des variétés d'orge, sélectionnées localement, vis-à-vis du stress hydrique à un stade jeune de développement et leurs associations au marqueurs moléculaires de résistance au stress abiotique à savoir les déhydrines (*DHN3* et *DHN7*), le *CBFs* (3A, 8, 10B et 12), *ICE1*, *FRY1*, *LOS2*, *HvWRKY38* et les gènes d'adaptation et de développement.

Il semble que le manque d'eau affecte significativement les variétés d'orge, qui ont montré une résistance élevée et dont la surface foliaire n'a pas été réduite, il s'agit de Tichedrett, Soufara 's', Rahma et Fouara. Les mécanismes mis en jeu sont différents pour chaque individu mais l'ajustement osmotique reste le plus déterminant associé à un statut hydrique et une concentration en sucres élevés.

L'utilisation de l'interaction génétique/phénotype fournit également un moyen potentiel d'identification de gènes candidats / mécanismes. La détection des loci impliqués est basée sur les probabilités et nous a permis de prouver l'implication de la membrane cytoplasmique à un degré élevé dans la résistance à la sécheresse au stade juvénile de la plante. En effet, les gènes de développement *HvBM8* et *HvBM5A* peuvent avoir des effets pleiotropiques et réagir au stress hydrique. Alors que les gènes de résistance au froid *HvZCCT-H*, et *HvLOS2* sont les gènes candidats de la résistance à la sécheresse.

Cette association phénotype génotype ouvre une voie de recherche de nouveaux critères de sélection et d'adaptation aux variétés d'orge sélectionnées dans la région semi aride algérienne. Le développement des mécanismes impliqués dans l'amélioration de la croissance sous stress au stade jeune permettra aux sélectionneurs d'identifier des marqueurs étroitement liés au caractère. Il est nécessaire de réaliser des expérimentations complémentaires dans différentes conditions de stress abiotique et dans d'autres fonds génétiques pour valider les QTL spécifiques aux stressés impliqués

## *Conclusion Générale*

---

## **Conclusion générale**

L'objectif de ce présent travail est de fixer les caractères de résistance pour l'adaptation aux contrastes de l'environnement mis enjeu chez quelques géotypes d'orge sélectionnés pour la région semi aride. Il apparaît que, pour y parvenir complètement, la variable clef reste la compréhension des mécanismes par lesquels la plante adapte son cycle à l'environnement qu'elle perçoit. Les approches utilisées (phénotypique, génotypique et association phénotype x géotype) nous ont permis de mieux comprendre l'adaptation aux conditions de la zone semis aride.

Dans le premier volet de cette étude, le suivie du comportement de ces géotypes à travers deux campagnes différentes a permis de distinguer une élasticité leur conférant une adaptation et survie aux conditions extrêmes. La réponse en conditions de stress s'expriment par un développement morphologique des barbes et de la hauteur, parallèlement à un maintien de la teneur relative en eau élevé qui est à l'origine d'un maintien d'un potentiel hydrique élevé et une accumulation des sucres dans les cellules. Ces réactions ont permis le maintien d'un rendement plus élevé par rapport aux autres par l'ajustement du PMG.

Il faut souligner que les individus ayant maintenu un rendement en dessous de la moyenne se sont maintenu grâce à leur capacité de maintenir un taux de chlorophylle élevé le plus longtemps possible.

La description ainsi faite nous a permis de considérer les variétés Tichedrett et Fouara comme étant les tolérantes à la sécheresse, les autres variétés sont, par ailleurs, caractérisé par un potentiel adaptatif leur permettant de produire un rendement acceptables en conditions de stress terminal.

Dans un deuxième volet de l'étude, 16 marqueurs ont permis d'identifier plusieurs allèles d'adaptation. Nous avons noté la dominance du type de printemps dans les géotypes sélectionnées pour la région semi-aride, exprimant leur ajustement phénologique par rapport au milieu. Par ailleurs, les caractères relatifs au stress abiotique démontre un polymorphisme entre les différents individus et ne peut être précisé que par des études d'expression de ces allèles.

Dans un troisième volet, l'association des caractères génétiques à des caractères de résistance au stress hydrique a fait ressortir une liaison avec les allèles de développement



parallèlement aux gènes de résistances au froid eux même des gènes candidats de résistance à la sécheresse.

Les résultats que nous avons obtenus ont permis de :

- Montrer l'existence d'un potentiel adaptatif et d'une plasticité potentiellement importants pour des caractères liés à la résistance aux variabilités de l'environnement, ce qui constitue des caractéristiques encourageantes pour l'adaptation de ces génotypes aux changements climatiques futurs.
- Détecter des signatures de la sélection classique par le polymorphisme génétique validé par les marqueurs moléculaires d'adaptation et de résistance au stress.
- De valider par des tests d'associations le rôle potentiel de quelques-uns de ces gènes dans l'expression de caractères liés à l'adaptation. Malgré le petit nombre de SNPs testés, les tests d'associations réalisés sont très encourageants pour des études à plus grande échelle chez ces génotypes.

Les gènes ainsi décrits, pourraient représenter des marqueurs moléculaire très efficace pour les applications de la sélection assistée par marqueurs. En fait, l'intégration des allèles favorables dans un génotype devrait avoir pour conséquence d'activer une cascade de réactions moléculaires, résultant en un effet majeur sur le phénotype. Cette stratégie de sélection conduirait à l'amélioration de l'orge de la région semi aride par la tolérance au stress abiotique et, par conséquent, un bon rendement en grain en conditions limitantes.

Notre étude ouvre de nouvelles perspectives pour la sélection de l'orge en Algérie à court et à long termes.

A court terme, les gènes décrits doivent être validés par l'étude de leurs expressions qui orientera le choix de cultivars résistant aux conditions du milieu et même un éventuel transfert de gènes pour la création de nouvelles variétés plus performantes. Une attention particulière doit être accordée à la compréhension génétique de la résistance à la sécheresse par l'utilisation des techniques d'expression d'ARN de protéines et d'enzymes intégrés dans les voies métaboliques de cette résistance.

A long terme, aux gènes décrits doit s'ajouter d'autres gènes pour la création d'une base de données. En effet, un grand nombre de gènes d'intérêt reste à décrire pour essayer d'avoir une cartographie génétique des génotypes locaux. Ce qui orientera la sélection classique vers une sélection assistée par marqueur.

## *Références Bibliographiques*

---

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Abbassenne F., Bouzerzour H. et Hachemi L (1998).** Phénologie et production du blé dur (T durum desf) en zone semi aride d'altitude. *Ann. Agron. INA*, **18**:24-36.

**Abe H., Urao T., Ito T., Seki M., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. (2003).** *Arabidopsis AtMYC2* (bHLH) and *AtMYB2* (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling. *Plant Cell*, **15**: 63-78.

**Abe H., Yamaguchi-Shinozaki K., Urao T., Iwasaki T., Hosokawa D., Shinozaki K. (1997).** Role of *Arabidopsis MYC* and *MYB* homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell*, **9**: 1859-1868.

**Abe, M., Kobayashi, Y., Yamamoto, S., Daimon., Y., Yamaguchi., A., Ikeda., Y., Ichinoki., H., Notaguchi, M., Goto, K., and Araki, I. (2005).** FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science* **309**: 1052-6.

**Acevedo E., Fereres E., Hsiao T.C., Henderson D.W. (1979).** Diurnal growth trends, water potential and osmotic adjustment of maize and sorghum leaves in the field. *Plant Physiol.* **64**:476-480;

**Acevedo, E. et Ceccarelli, S. (1987).** Role of physiologist-breeder in a breeding program for drought résistance conditions. Dans : *Drought Resistance in Cereals*, Baker, F.W.G. (éd.). CAB, Wallingford, pp. 117-139.

**Ahmad, M. et Cashmore., A.R. (1993)** HY4 gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. *Nature*, **366**, 162±166.

**Ahn., S. N.;S. J. Kwon; C. I. Yang; H. C. Hong; Y. K. Kim; J. P. Suh; H. G. Huang; H. C. Choi and H. P. Moon. (2000).** Diversity analysis of Korea bread rice cultivars. In: *International plant and animal genome VIII Conference*, Abstract P 499, January 9th-12th, 2000, San Diego, CA.

**AlHakimi, A ., Monneveux, P h. et G .Galiba., (1995).** Soluble sugars, proline, and relative water content (R CW ) as traits for improving drought tolerance and divergent selection for R C W from *T. polonicum* into *T. durum*. *Journal of Genetics and Breeding*, **49**: 237-244.

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

**Al-Khayri J M, Al-Bahrany A M (2004)** Callus growth and praline Accumulation in Response to Sorbitol and Sucros-Induced Osmotic Stress in Rice. *Biologia Plantaroum.* **45**: 1573-8264.

**Alvarez J., Guli CL., Yu X., Smyth DR. (1992).** *Terminal flower*: a gene affecting inflorescence development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **2**: 103–116

**Amasino., R.M. (2003).** Flowering time: a pathway that begins at the 3' end. *Curr. Biol.* **13**:670-2.

**Andersen JR., Lübberstedt T. (2003).** Functional markers in plant. *Trends Plant Sci* **8**:554-560

**Arakawa T., Timasheff S.N. (1983).** Preferential interactions of proteins with solvent components in aqueous amino acid solutions. *Arch Biochem Biophys* **224**: 169–177.

**Arakawa T., Timasheff S.N. (1985).** Mechanism of poly ( ethylene glycol) interaction with proteins. *Biochemistry* **24**: 6756–6762.

**Aravind L and Koonin EV. (1999).** DNA-binding proteins and evolution of transcription regulation in the archaea. *Nucleic Acids Res.*, **27**: 4658-70.

**Arbona V., Iglesias D.J., Jacas J., Primo-Millo E., Talon M., Gomez-Cadenas A. (2005).** Hydrogel substrate amendment alleviates drought effects on young citrus plants. *Plant and Soil.*; **270**:73–82.

**Archbold, H. K. (1942).** Physiological studies in plant nutrition . *Ann. Bot., N.S.*, **6**, 487 (1942).

**Arumuganathan K., Earle E.D. (1991)** Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry. *Plant Mol Bio Rep* **9**: 229-233

**Ashgar R., Fonton R.D., Demason D.A. et Close J.T. (1994).** Nuclear and cytoplasmic localization of maize embryo and akurone dehy drin. *Protoplasma* **177** : 87-94

**Aubert, D., Chen., L.J., Moon., Y.H., Martin., D., Castle., L.A., Yang., C.H., et Sung, Z.R. (2001).** EMF1, a novel protein involved in the control of shoot architecture and flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **13**, 1865–1875

**Aukerman, M.J., Lee., 1., Weigel., D., et Amasino, R.M. (1999).** The *Arabidopsis* flowering-time gene LUMINIDEPENDENS is expressed primarily in regions of cell proliferation and encodes a nuclear protein that regulates LEAFY expression. *Plant J.* **2**: 195-203.

**Ausin., I., Alonso-Blanco, C., Jarillo, IA., Ruiz-Garcia., L., and Martinez-Zapater., I.M. (2004).** Regulation of flowering time by FVE, a retinoblastoma-associated protein. *Nat. Genet.* **2**: 162-6.

**Baisak, R., D. Rana, P.B.B. Acharya et M. Kar (1994).** Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress. *Plant Cell Physiol.*, **35**: 489-495.

**Baker N.R., Rosenquist E. (2004).** Applications of chlorophyll fluorescence can **improve crop production strategies: an examination of future possibilities**, *Journal of Experimental Botany*, **55**(403):1607-1621

**Baker., S.S., Wilhem., K.S. et Thomashow., M.F. (1994).** The 5'-region of *Arabidopsis thaliana* cor15a has cis -acting elements that confer cold-, drought-and ABA-regulated gene expression. *Plant Mol Biol* **24**: 701-713.

**Baldridge., D.E., D.E. Brann., A.H. Ferguson., J.L. Henry et R.K. Thompson. (1985).** Cultural practices. p. 457–482. In D.C. Rasmusson (ed.) Barley. Agron. Monogr. 26. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.

**Barnett, N. M., A. W. Naylor, (1966).** Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Pl. Physiol.*, **41**, 1222-1230.

**Barrs H.D., et Weatherley P.E. (1962).** A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Aust Biol Sci* **15**:413-428.

**Baum B.R.; S. Mechanda G. A. Penner et A. B. Ednie. (1998).** Establishment of a scheme for the identification of Canadian barley (*Hordeum vulgare* L.) six row cultivars using RAPD diagnostic bands. *Seed Sci & Technol.* **26**: 449-462.

**Ben Abdallah N., et Ben Salem M. (1993).** Paramètres morphophysologiques de sélection pour la résistance à la sécheresse des céréales. In : **Monneveux, P. et Ben Salem, M. (Eds).** *Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne*. Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier (France), 15-17 décembre 1992, INRA, Les Colloques, **pp** : 173-190.

**Ben Amer I.M., Börner A., Röder M.S. (2001).** Detection of genetic diversity in Libyan wheat genotypes using wheat microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **48** : 6 , 579-585

**Bengtsson B.O. (1992).** Barley genetics. *Trends in Genetics* **8**, 3-5

**Benlaribi M., Zerafa C., Merghem R. (2005).** Peut-on considérer l'accumulation de la proline comme signe de tolérance au déficit hydrique?. In Séminaire international sur l'amélioration des productions végétales –APV 2005- **PP** : 17-19.

**Benmahammed A., KL. Hassous, H. Bouzerzour (2001).** Synthèse des performances des nouvelles sélections d'orge (*Hordeum vulgare* L.) réalisées par les stations ITGC de Saida, Sidi Bel Abbés, Tiaret, Beni Slimane, Oued Smar, Khémis Miliana, Sétif et Khroub, au cours de la période 1980/81 à 1996/97. *Céréaliculture*, **36**: 13-20.

**Bensemmane L., H. Bouzerzour, A. Benmahammed, H. Mimouni. (2011).** Assessment of the phenotypic variation within two- and six-rowed barley (*Hordeum vulgare* L.) breeding lines grown under semi-arid conditions. *Advanced environmental Biology*, **5**: 1454-1460.

**Berllinger, Y., Bensaoud, A. and Larher, F. (1991).** Physiological significance of proline accumulation, a trait of use to breeding for stress tolerance. In: Acevedo, E., Conesa, A.P., Monneveux, P. and Srivastava, J.P. (Eds). *Physiology-Breeding of winter cereals for stressed Mediterranean environments*. Montpellier, France, July 3-6 1989, (**55**) : 449-458.

**Berllinger, Y., Bensaoud, A. et Larher, F. (1991).** Physiological significance of proline accumulation, a trait of use to breeding for stress tolerance. In: Acevedo, E., Conesa, A.P., Monneveux, P. and Srivastava, J.P. (Eds). *Physiology-Breeding of winter cereals for stressed Mediterranean environments*. Montpellier, France, July 3-6 1989, (**55**) : 449-458

**Bernier G., Perilleux C. (2005).** A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnology Journal* **3**: 3-16.

**Bewley J. D. (1979).** Physiological aspects of desiccation tolerance. *Ann. Rev. Plant Physiology*, 30195-238.,

**Björkman O., Powles S.B., (1984).** Inhibition of photosynthetic reactions under water stress: Interaction with light level. *Planta* **161**, 490-504.

**Black, M., Corbineau, F., Gee, H. and Côme, D. (1999).** Water content, raffinose and dehydrins in the induction of desiccation tolerance in immature wheat embryos. *Plant Physiology* **120**: 463-471.

**Blackman P.G. et Davies W.J. (1985).** Root to shoot communication in maize plants of the effects of soil drying. *J. exp. Bot.* **36**, 39-48

**Blum A, et Ebercon A (1981).** Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Sci* **21**: 43-47.

- Blum A. (1988).** Plant breeding for stress environments. *CRC, Boca Raton*, pp 1–223
- Blum, A. & Ebercon, A. (1976).** Genotypic responses in sorghum to drought stress. III. Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Science*, **16**, pp. 428-431.
- Blum, A. (1985).** Photosynthesis and transpiration in leaves and ears of wheat and barley varieties. *J. Exp. Bot.* **36** (164), 432-440
- Blum, A., et Arkin, G. F., (1984).** Sorghum root growth and water-use as affected by water supply and growth duration. *Field Crops Res.* **9**:131-142.
- Blum, A.; S. Mayer and G. Galon. (1989).** Agronomic and physiological assessments of genotypic variation for drought resistance in sorghum. *Aust. J. Agric.* **40**: 49-61.
- Bodstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. (1980).** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.*, **32**: 314-331.
- Boggess SF, Stewart CR. (1976).**Effect of water stress on proline synthesis from radioactive precursors. *Plant Physiol.* **58**(3):398–401.
- Börner, A.; M. S. Röder; O. Unger et A. Meinel. (2000).** The detection and molecular mapping of a major gene for non specific adult plant disease resistance against stripe rust (*Puccinia striiformis*) in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **100**: 1095-1099. Bothmer et al., 1991
- Borrell A.K, Hammer G.L, Henzell R.G (2000).** Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. *Crop Sci.* **40**: 1037-1048.
- Bothmer R. Jacobsen N. Baden C. Jorgensen R.B. Linde-Laursen I. (1995).** An ecogeographical study of the genus *Hordeum*. Systematic and ecogeographic studies on crop gene pools, 7. IPGRI, Rome, 2nd ed. 129p
- Bouzerzour , H. (1998).** Selection pour le rendement, la précocité à l'épiaison et la biomasse aérienne chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone semis aride. *Thèses Doctorat d'Etat*, Univ constantine.
- Bouzerzour H., Bahlouli F., Benmohammed A., Djekoun A. (2000).** Cinétique d'accumulation et de répartition de la biomasse chez des génotypes contrastés d'orge (*Hordeum vulgare* L.). *Sciences et Technologies*, **13** : 59-64.
- Bouzoubaa, Z., El Mourid, M., Karrou, M. et El Gharous, M. (2001).** Manuel d'analyse chimique et biochimique des plantes. Eds INRA Maroc.
- Bradley, D., Ratcliffe, O., Vincent, C., Carpenter, R., Coen, E. (1997)** Inflorescence commitment and architecture in *Arabidopsis*.. *Science* **275**:80-83
- Braun, H.J. and Săulescu, N.N. (2002).** Breeding winter and facultative wheat. In *Bread Wheat: Improvement and Production* (Curtis, B.C., Rajaram, S. and Gómez Macpherson, H., eds). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, pp. 217–226.
- Bravo LA, Close TJ, Corcuera LJ, Guy CL (1999).** Characterization of an 80-kDa dehydrin-like protein in barley responsive to cold acclimation. *Physiol Plant* **106**: 177–183
- Bravo LA, Gallardo J, Navarrete A, Olave N, Martinez J, Alberdi M, Close TJ, Corcuera LJ (2003).** Cryoprotective activity of a cold-induced dehydrin purified from barley. *Physiol Plant* **118**: 262–269
- Bray E.A. (1993).** Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol.* **103**: 1035-1040.

**Breton, G., Danyluk, J., Ouellet, F., & Sarhan F. (2000).** Biotechnological applications of plant freezing associated proteins. *Biotechnol. Annu. Rev.*, 6, 59–101.

**Briggs DE (1978).** Barley. Chapman & Hall. London 612.

**Brown K.W., Jordan W.R. et Thomas J.C. (1976).** Water stress induced alterations of the stomatal response to decreases in leaf water potential. *Plant Physiol.* 37: 1-5

**Brown, S. M.; M. S. Hopkins; S. E. Mitchel; T. Y. Wang; S. Kresovich; R. R. Duncan; M. L. Senior and F. G. Candelas. (1996).** Multiple methods for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Theor. Appl. Genet.* 93: 190-198.\*

**Caetano-Anoles, G., Bassam, Gresshoff, P.M. (1991).** DNA amplification fingerprinting using very short oligonucleotide primers. *Bio/Technology*, 9, 553–557.

**Campbell SA, Close TJ. (1997).** Dehydrins: genes proteins and associations with phenotypic traits. *New Phytol.* 137:61–74.

**Casas, A. M.; E. Igartua; M. P. Vallés et J. L. Molina-Cano. (1998).** Genetic diversity of barley cultivars grown in Spain, estimated by RFLP, similarity and coancestry coefficients. *Plant Breed* 117: 429-435.

**Catala R. et Salina J. (2008).** Regulatory mechanisms involved in cold acclimation response. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6 : 211-220

**Catala R. Santos E. Alonso J.M. Ecker J.R. Martinez-Zapater J.M. Salinas J. (2003).** Mutations in the Ca<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup> transporter CAX1 increase CBF/DREB1 expression and the cold-acclimation response in Arabidopsis. *Plant Cell.* 15: 2940-2951.

**Cattivelli L., Baldi P., Crosatti C., Di Fonzo N., Faccioli P., Grossi M., Mastrangelo A.M., Pecchioni N, Stanca A.M. (2002).** Chromosome regions and stress-related sequences involved in resistance to abiotic stress in Triticeae. *Plant Mol Biol* 48:649–665.

**Ceccarelli, S. et S. Grando. (1996).** Drought as a challenge for the breeder. *Plant Growth Regulation* 20: 149-155.

**Ceccarelli, S., Grando, S., Impiglia, A. (1998).** Choice of selection strategy in breeding barley for stress environments. *Euphytica* 103 : 307– 318

**Cellier F., Conejero G., Breitler J.C. et Casse F. (1998)** Molecular and physiological responses to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive sunflower lines (*Helianthus annuus* L): accumulation of dehydrin transcripts correlates with tolerance. *Plant Physiology* 116, 319–328.

**Chaise L., Ferla A. J., Honore A. & Moukhli R. (2005).** L'impact du changement

**Chandrasekar V., Sairam RK, Srivastava GC (2000).** Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress. *J Agron Crop Sci* 185:219-227

**Chandrasekhar, S., Vaster, G., Prasanna Kumar, T., Lakshminarayanan, M.T and Mallikarjuna G.B. (2001).** Knowledge of recommended groundnut cultivation practices among command and non-command area farmers of Upper Krishna Project, Karnataka. *Mysore J. agric., Sci.*, 35: 368-373.

**Chandrashekar K.R. et Sandhyarani, S. (1996).** Salinity induced chemical changes in *Crotalaria striata* DC. plants. *Indian J. Plant Physiol.* 1: 44-48.

- Chellali B. (2007).** Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire. [http://www.lemaghreb.dz.com/?page=detail\\_actuallite&rubrique=Nation&id=6826](http://www.lemaghreb.dz.com/?page=detail_actuallite&rubrique=Nation&id=6826). (le 09/07/ 2013)
- Chen, T.H.-H., L.V. Gusta et D.B. Fowler. 1983.** Freezing injury and root development in winter cereals . *Plant Physiol.* **73**:773–777.
- Chennafi H., Aidaoui A., Bouzerzour H., Saci A. (2006).** Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Sciences* **5**: 854-860.
- Cheong YH, Kim KN, Pandey GK, Gupta R., Grant JJ, Luan S. (2003).** CBL1, a calcium sensor that differentially regulates salt, drought, and cold responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* **15**: 1833-1845.
- Chinnusamy V., Ohta M., Kanrar S., Lee B.H., Hong X., Agarwal M., Zhu J.K., (2003).** ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Genes Dev* **17**, 1043-1054.
- Choi, D.W., Koag, M.C. and Close, T.J. (2000).** Map locations of barley *Dhn* genes determined by gene-specific PCR. *Theor. Appl. Genet.* **101**: 350–354.
- Choi, D.W., Koag, M.C. et Close, T.J. (1999).** The barley (*Hordeum vulgare* L.) dehydrin multigene family: sequences, allele types, chromosome assignments, and expression characteristics of 11 *Dhn* genes of cv. Dictoo. *Theor. Appl. Genet* **98**: 1234–1247.
- Chrispeels M.J., Maurel C. 1994.** Aquaporins: the molecular basis of facilitated water movement through living plant cells? *Plant Physiol.*; **105**(1):9–13.
- Christen, O., K. Sieling, H. Richter-Harder and H. Hanus (1995).** Effects of temporary water stress before anthesis on growth, development and grain yield of spring wheat. *Eur. J. Agron.*, **4**: 27-36.
- Chuck, G, et S Hake. (2005).** Regulation of developmental transitions. *Curr. Opin. Plant Biol.* **8**: 67-70.
- Clarke JM, and McCaig TN (1982)** Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat. *Crop Sci* **22**: 503-506.
- Clarke MC, Wei W, Lindsey K. (1992).** High frequency transformation of *Arabidopsis thaliana* by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Molecular Biology Reporter* **10** : 178-89.
- climatique sur l'agriculture en Afrique. Atelier Changement Climatique. ENPC.
- Close T.J. (1996).** Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiol. Plant.*, **97**: 795-803.
- Close, T. J., Kortt, A. A. et Chandler, P. M. (1989).** A cDNA-based comparison of dehydration-induced proteins (dehydrins) in barley and corn. *Plant Mol. Biol.* **13**: 95-108.
- Close, T.J., Fenton, R.D., Yang, A., Asghar, R., DeMason, D.A., Crone, D.E., Meyer, N.C. et Moonan, F. (1993).** Dehydrin : the protein: 104-118 in: plant responses to cellular dehydration during environmental stress, Timothy J. Close and E.A. Bray (Eds), Amer. Soci. Plant Physiol.
- Cockram J., Jones H., Leigh F.J., O'Sullivan D., Powell W., Laurie D.A., Greenland A.J. (2007).** Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication and sustainable productivity. *J. Exp. Bot.* **58**:1231–1244



**Coen, E.S. et E.M. Meyerowitz (1991)** The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature* **353**, 31-37

**Collard BCY, Cruz CM, McNally KL, Virk PS, Mackill DJ, (2008).** Rice molecular breeding laboratories in the genomics era: current status and future and considerations. *International Journal of Plant Genomics* 2008: 524847

**Combe, L. et Picard, D. (1994).** Elaboration du rendement des principales cultures annuelles. INRA/Ed., Paris, Grignon.

**Cooke, R. J. (1995).** Introduction: the reasons for variety identification. In: Identification of Food Grain Varieties. pp. 1-17. Wrigley, C. W. (Ed.). American Association of Cereal Chemists, St.Paul, MN, USA.

**Cooper M, Byth DE, Woodruff DR (1994).** An investigation of the grain-yield adaptation of advanced CIMMYT wheat lines to water-stress environments in Queensland. 2. Classification analysis. *Australian Journal of Agricultural Research* ; **45**:985-1002.

**Corbesier, L., Vincent, C., Jang, S., Fornara, F., Fan, Q., Searle, I., Giakountis, A., Farrona, S., Gissot, L., Turnbull, C., and Coupland, G. (2007).** FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of Arabidopsis. *Science* **316**: 1030–1033.

**Crowe, J.H., L.M. Crowe, S.B. Leslie, and E. Fisk. (1993).** Mechanisms of dry biomolecules in anhydrobiotic organisms. In: Close, T.J. and E.A. Bray, eds. Plant responses to cellular dehydration during environmental stress. Rockville, Md.: *American Society of Plant Physiologists*. pp. 11-20.

**Cushman J.C., Bohnert H.J. (2000).** Genomic approaches to plant stress tolerance. *Curr Opin Plant Biol*; **3**: 117-124

**Dakheel A.J., Nadji I., Mahalazkshmi V., Peacock J.M. (1995).** Morphophysiological traits associated with adaptation of durum wheat to harsh Mediterranean environments. *Aspects of applied Biology* **34**: 297-307.

**Danyluk J., Perron A., Houde M., Limin A., Fowler B., Benhamou N et Sarhan F .(1998).** Accumulation of an acidic dehydrin in the vicinity of the plasma membrane during cold acclimation of wheat. *The Plant Cell* **10**: 623-638.

**Danyluk, J., Kane, N.A., Breton, G., Limin, A.E., Fowler, D.B. and Sarhan, F. (2003).** TaVRT-1, a putative transcription factor associated with vegetative to reproductive transition in cereals. *Plant Physiol.* **132**, 1849–1860.

**Darbyshire B. (1974).** The function of the carbohydrate units of three fungal enzymes in their resistance to dehydration. *Plant Physiol.* **54**, 717-721.

**Davila J.A., Loarce Y., Ramsay L., Waugh R., Ferrer E. (1999).** Comparison of RAMP and SSR markers for the study of wild barley genetic diversity. *Hereditas.*; **131**(1):5–13

**De Pater, S., Greco, V., Pham, K., Memelink, J. et Kijne, J. 1996.** Characterization of a zinc-dependent transcriptional activator from Arabidopsis. *Nucl. Acids Res.* **24**: 4624–4631.

**Deraissac M. (1992).** Mecanismes d'adaptation à la sècheresse et le maintien de la productivité des plantes cultivées. *Agro. Trop.* **46**: 29-39.

**Deshmukh et al. 1991.** determining adaptation in cultivated barley. *Plant Breeding* **120**: 217-222.

**Dhindsa R.S., Plumb-Dhindsa P. et Thorpe T.A. (1981).** Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp. Bot.* **32**, 93-101.

**Diab A.A., Teulat-Merah B., This D., Ozturk N.Z., Benschel D., Sorrells M.E. (2004).** Identification of drought-inducible genes and differentially expressed sequence tags in barley. *Theor Appl Genet* **109**: 1417–1425

**Dib, A; Monneveux, P et Araus, J.L; 1991 :** "Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur. II- Caractères physiologiques d'adaptation", Elsevier, INRA Agro, 12, pp.381-393

**DiFonzo., N., Z. Flagella., R.G. Campanile., M.C. Stopelli., G. Spano., A.D. Rascio., L. Padalino., M. Laus., P. DeVita., P.R. Shewry., D. Lawlor et A. Troccoli., (2000).** Resistance to abiotic stresses in durum wheat : Which ideotype ?. *Options Méditerranéennes, Series A*, **40**: 215-225.

**Doldi ML, Vollmann J, Lelley T (1997).** Genetic diversity in soybean as determined by RAPD and microsatellite analysis. *Plant Breed* **116**:331–335.

**Dong C.H., Agarwal M., Zhang Y., Xie Q., Zhu J.K., (2006).** The negative regulator of plant cold responses, HOS1, is a RING E3 ligase that mediates the ubiquitination and degradation of ICE1. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 8281-8286.

**Donini, P.; Stephenson, P.; Bryan, G.J. et Koebner, R.M.D (1998).** The potential of microsatellites for high throughput genetic diversity assessment in wheat and barley. *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. **45**, no. **5**, p. 415-421.

**Du, L. et Chen, Z. (2000).** Identification of genes encoding novel receptor-like protein kinases as possible target genes of pathogen-induced WRKY DNA-binding proteins. *Plant J.* **24**: 837–848.

**Dubcovsky, I., Lijavetzky, D., Appendino, L., et Tranquilli, G. (1998).** Comparative RFLP Mapping of *Triticum monococcum* genes controlling vernalization requirement. *Theor. Appl. Genet.* **97**:968-75.

**Dubcovsky, J., Loukoianov, A., Fu, D., Valarik, M., Sanchez, A. et Yan, L. (2006).** Effect of photoperiod on the regulation of wheat vernalization genes VRN1 and VRN2. *Plant Mol. Biol.* **60**, 469–480.

**Dubey Rs, Et Singh Ak. (1999).** Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolising enzymes in rice plants. *Biologia Plantarum* **42**: 233–239.

**Dubois, M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A. et Smith F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances - *Anal. Chem.*, **28**: 350-356.

**Dudley JW (1997).** Quantitative genetics and plant breeding. *Adv Agron* **59**: 1-23.

**Dweikat I, Mackerzie S, Levy M, Ohm H (1993).** Pedigree assessment using RAPD-DGGE in cereal crop species. *Theor. Appl. Genet.* **85**:497-505.

**Eljaafari S. (1993).** Contribution à l'étude des mécanismes biophysiques et biochimiques de résistance à la sécheresse chez le blé (*Triticum aestivum*). *Doctorat de la faculté des sciences agronomiques de Gembloux, Belgique* : 214p.

**ElJaafari, S., (2000).** Durum wheat breeding for abiotic stresses resistance: Defining physiological traits and criteria. *Options Méditerranéennes, Series A*, **40**: 251-256.

**Ellis R.P., Forster B.P., Waugh R., Bonar N., Handley L.L., Robinson D., Gordon D.C., Powell W. (1997).** Mapping physiological traits in barley. *New Phytologist* **137**, 149–157.

**Eulgem T., Rushton P.J., Robatzek S., Somssich I.E. (2000).** The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Science*, **16**: 199-206.

**Eulgem., T., Rushton., P.J., Schmelzer., E., Hahlbrock., K. et Somssich., I.E. (1999).** Early nuclear events in plant defence signalling: rapid gene activation by WRKY transcription factors. *EMBO J.* **18**: 4689–4899.

**Faccioli P., Pecchioni., N., Stanca., A.M. and Terzi., V. (1999).** Amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers for barley malt fingerprinting. *J. Cereal Sci.*, **29**: 257-260.

**Fahima, T.; M. S. Röder; K. Wendehake; V. M. Kirzhner et E. Nevo. (2002).** Microsatellite polymorphism in natural populations of wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theor. Appl. Genet.* **104**: 17-29.

**FAO (2007).** Perspective alimentaires. Analyse des marchés mondiales. <http://www.fao.org/01/0/ah864f/ah864f00.htm>.

**FAO (2009).** Perspectives de l'alimentation. Analyse des marchés mondiaux. Décembre 2009. 113 P.

**Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita and S.M.A. Basra, (2009).** Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.*, **29**: 185–212.

**Faure S., Higgins J., Turner A. et Laurie D.A. (2007).** The FLOWERING LOCUS T-Like Gene Family in Barley (*Hordeum vulgare*). *Genetics*, **176**: 599-609

**Febrero, A., P. Vendrell., L. Alegre et J.L. Araus, (1991).** Epidermal conductance of flag leaves and ears of several durum wheat landraces and varieties: morphological and anatomical characteristics involved. *Colloques N 55*, ed. INRA Paris.

**Ferus P., M. Arkosiova. (2001).** Variability of chlorophyll content under fluctuating environment. *Acta Fytotechnica & Zootechnica*, **4**: 5-9.

**Finkelstein R.R., et Rock C.D. (2002)** Abscisic acid biosynthesis and response. *The Arabidopsis Book*. Ed.: American Society of Plant Biologist.

**Fischer., R.A., Maurer., R. (1978).** Drought resistance in spring wheat cultivar. Grain yield responses. *Aus J. Agr. Res* **29**: 897-912.

**Forster B.P., Ellis R.P., Thomas W.T.B., Newton A.C., Tuberosa R., This D., El-Enein R.A, Bahri M.H. et Ben Salem M. (1999).** The development and application of molecular markers for abiotic stress tolerance in barley. *Journal of Experimental Botany* **51**:342, 19-27.

**Fowler S., Thomashow M.F. (2002)** Arabidopsis transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. *Plant Cell* **14**:1675–1690

**Fowler., D. B., Breton., G., Limin., A. E., Mahfoozi., S., et Sarhan., F. (2001).** Photoperiod and temperature interactions regulate low-temperature-induced gene expression in barley. *Plant Physiol.* **127**: 1676-81.

**Fowler., S., Lee, K., Onouchi., H., Samach., A., Richardson., K., Morris., B., Coupland., G., et Putterill., J. (1999).** *GIGANTEA*: A circadian clock-controlled gene that regulates photoperiodic flowering in *Arabidopsis* and encodes a protein with several possible membrane-spanning domains. *EMBO J.* **18**, 4679–4688.

Francia E., Rizza F., Cattivelli L., Stanca A.M., Galiba G., Toth B., Hayes P.M., Skinner J.S., Pecchioni N. (2004) Two loci on chromosome 5H determine low-temperature tolerance in a 'Nure' (winter) x 'Tremois' (spring) barley map. *Theor Appl Genet* **108**:670–680

Francia E., Tacconi G., Crosatti C., Barabaschi D., Bulgarelli D., Dall'Aglio E. et Vale` G. (2005). Marker assisted selection in crop plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **82**: 317–342.

Franckowiak, J. (1997). Revised linkage maps for morphological markers in barley, *Hordeum vulgare*. *Barley Genet. Newsl.* **26**: 9–21.

Fu D, Szucs P, Yan L, Helguera M, Skinner JS, von Zitzewitz J, Hayes PM, Dubcovsky J (2005). Large deletions within the Wrst intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. *Mol Genet Genomics* **273**:54–65

Fujita, M., Fujita, Y., Maruyama, K., Seki, M., Hiratsu, K., Ohme-Takagi, M., Tran, L.P., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K. (2004). A dehydration-induced NAC protein, RD26, is involved in a novel ABA-dependent stress-signaling pathway. **39**, 863–876.

Gale M.D., Devos K.M. (1998). Comparative genetics in the grasses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 1971–1974.

Galiba G., Vagujfalvi A., Li Ch., Soltesz A., Dubcovsky J. (2009). Regulatory genes involved in the determination of frost tolerance in temperate cereals. *Plant Science* **176** : 12–19.

Gallagher L.W., Soliman K.M., Vivar H. (1991). Interactions among loci conferring photoperiod insensitivity for heading time in spring barley. *Crop Sci* **31**: 256–261.

Garcia del Moral L.F, Ramos J.M, Garcia del Moral M.B, Jimenez-Tejada M.P (1991). Ontogenetic approach to grain production in spring barley based on path-coefficient analysis. *Crop Sci.* **31**: 1179-1185.

Garg A.K., Kim J.K., Owens T.G., Ranwala A.P., Choi Y.D., Kochian L.V., Wu R.J., (2002). Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 15898-15903.

Gaudin., V., Libault., M., Pouteau., S., Juul., T., Zhao., G., Lefebvre., D., et Grandjean., O. (2001). Mutations in *LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN 1* affect flowering time and plant architecture in *Arabidopsis*. *Development* **128**, 4847–4858.

Gautiers M.F., Labhili M. et Joudrier P. (1993). Marqueurs de la tolérance au stress hydrique de fin de cycle chez le blé dur : 423-429. In : tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne, Diversité génétique et amélioration variétale.

Geigenberger, P., Reimholz, R., Geiger, M., Merlo, L., Canale, V. et Stitt, M. (1997) Regulation of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short-term water deficit. *Planta*, **201**, 502–518.

Gendall., A.R., Levy., Y.Y., Wilson., A., et Dean., C. (2001). The *VERNALIZATION 2* gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in *Arabidopsis*. *CelJ* **107**: 525-35.

Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta* **990**:87–92.

Gibson L.R, Paulsen G.M (1999). Yield components of wheat grown under high temperature stress during reproductive growth. *Crop Sci.* **39**: 1841-1846.

**GILMOUR, S.J.; SEBOLT, A.M.; SALAZAR, M.P.; EVERARD, J.D. et THOMASHOW, M. F. (2000).** Overexpression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. *Plant Physiology*, vol. **124**, no. **4**, p. 1854-1865.

**Gilmour., S.J., Zarka., D.G., Stockinger., E.J., Salazar., M.P., Houghton., J.M. et Thomashow., M.F. (1998).** Low temperature regulation of the *Arabidopsis* CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold induced COR gene expression. *Plant J.* **16**: 433–443.

**Goddijn O.J.M, van Dun K (1999).** Trehalose metabolism in plants. *Trends Plant Sci* **4**: 315–319

**Gombos Z., Wada H., et Murata N.,( 1994):** The recovery of photosynthesis from low temperature photoinhibition is accelerated by the unsaturation of membrane lipids: a mechanism of chilling tolerance. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **91**, 8787-8791.

**Gonzalez A, Martin I, Ayerbe L (2007).** Response of barley genotypes to terminal soil moisture stress: phenology, growth, and yield. *Aust. J. Agric. Res.* **58**: 29-37.

**González-Carranza., Z.H., Lozoya-Gloria., E. et Roberts, J.A. (1998).** Recent developments in abscission: shedding light on the shedding process. *Trends Plant Sci.*, **3**, 10-14.

**Gorham, J. (1993).** Stress tolerance and mechanisms behind tolerance in barley. In: Agronomical and physiological characterization of different barley genotypes to salt stress. Settat 1993, meeting.

**Grando S., von Bothmer R., Ceccarelli. S. (2001).** Genetic diversity of barley: use of locally adapted germplasm to enhance yield and yield stability of barley in dry areas. In: Cooper HD, Spillane C, Hodgink T (eds) Broadening the genetic base of crop production. *CABI/FAO/IPGRI*, pp 351–372

**Graner A .(1996).** RFLP-mapping the haploid genome of barley (*Hordeum vulgare* L.). In Jain SM, Sopory SK & Veilleux RE (eds.): In vitro haploid production in higher plants. Kluwer Academic Publishers, Netherlands 127-150.

**Graner, A.; B. Foroughi-Wehr et A. Tekauz. (1996).** RFLP mapping of a gene in barley conferring resistance to net blotch (*Pyrenophora teres* ). *Euphytica* **91**: 229-234.

**Graner., A.; W. F. Ludwig et A. E. Melchinger. (1994).** Relationships among European barley germplasm: II. Comparison of RFLP and pedigree data. *Crop Sci.* **34**: 1199-1205.

**Greenway H., Munns R.(1980).** Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* **31**, 149–190.

**Gregersen P.L., Holm P.B. and Krupinska K. (2008).** Leaf senescence and nutrient remobilization in barley and wheat. *Plant Biology.* **10**: 37-49.

**Grignac., P . (1981).** Tolérance au déficit hydrique et aux hautes températures de cultivars de blé. *INRA* ., 279-289.

**Grumet R. et Hanson A.D. (1986).** Genetic evidence for an osmoregulatory function of glycinebetaine accumulation in barley. *Aust J Plant Physiol* **13**: 353-364

**Gunasekera D, Santakumari M, Glinka Z, Berkowitz GA. (1994).** Wild and cultivated barley genotypes demonstrate varying ability to acclimate to plant water deficits. *Plant Science*, **99**,125–134.

**Gunasekera D. & Berkowitz G.A. (1993)** Use of transgenic plants with ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase antisense DNA to evaluate the rate limitation of photosynthesis under water stress. *Plant Physiology* **103**, 629-635.

**Gupta NK, Gupta S, Kumar A (2001).** Effect of water stress on physiological attributes and their relationship with growth and yield in wheat cultivars at different growth stages. *J Agronomy* **86**: 1437-1439.

**Guy C.L., Huber J.L.A. et Huber S.C. (1992).** "Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature." *Plant physiol* **100**: 502-508.

**Haarke V. Cook D. Riechmann J.L. Omaira P. Thomashow M.F. Zang J.Z. (2002).** Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **130**: 639-648.

**Hackett C.A., Ellis R.P., Forster B.P., McNicol J.W., Macaulay M.(1992).** Statistical analysis of a linkage experiment in barley involving quantitative trait loci for height and ear-emergence time and two genetic markers on chromosome 4. *Theoretical and Applied Genetics* **85**, 120–126.

**Hamidou, F. Zombre, G. Diouf, O. Diop, N.N. Guinko, S. Braconnier, S. 2007.** Physiological, biochemical and agromorphological response of five cowpea genotypes (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) to water deficit under glasshouse conditions. *Biotechnology Agron Soc Environ.***11** (3): 225-234.

**Hammer, K.; A. A. Filatenko et V. Korzun. (2000).** Microsatellite markers: a new tool for distinguishing diploid wheat species. *Genet. Res. Crop Evol.* **47**: 497-505.

**Hanba Y.T., Moriya A et Kimura K. (2004).** Effect of leaf surface wetness and wettability on photosynthesis in bean and pea. *Plant Cell Environ* **27**: 413–421

**Hanumappa M, Pratt LH, Cordonnier-Pratt MM, Deitzer GF (1999).** A photoperiod-insensitive barley line contains a lightlabile phytochrome B. *Plant Physiol* **119**:1033–1039

**Hanumappa M., Pratt L.H., Cordonnier-Pratt M.M., Deitzer GF. (1999).** A photoperiod-insensitive barley line contains a light-labile phytochrome B. *Plant Physiol.*;**119**:1033–1039.

**Hare P.D., et Cress W.A., (1997).** Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, **21**, 79–102.

**Hare., P.D., Cress., W.A. et Staden., J.V. (1998).** "Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress." *Plant, Cell Environ.* **21**(6): 535-553.

**Harlan J.R. (1995).** Barley. In: **Smartt J, Simmonds NW**, eds. *Evolution of crop plants*, 2nd edn. London: *Longman*, 140–147.

**Hartmann U., Hohmann S., Nettesheim K., Wisman E., Saedler H., Huijser P. 2000.** Molecular cloning of SVP: a negative regulator of the floral transition in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* **21**, 351–360.

**Hayes P.M., Blake T., Chen T.H.H., Tragoonrung S. ,Chen F. Pan A. Liu B. (1993)** Quantitative trait loci on barley (*Hordeum vulgare* L.) chromosome-7 associated with components of winterhardiness. *Genome* **36**: 66-71.

Hayes, P.M., A. Castro, and L. Marquez-Cedillo. A. Corey A, C. Henson, B. Jones, J. Kling, D.E. Mather, I. Matus, C. Rossi, and K. Sato. (2000). A summary of published barley QTL reports. <http://www.css.orst.edu/barley/nabgmp/qtlsum.htm>

Hazen S.P., Schultz T.F., Pruneda-Paz J.L., Borevitz J.O., Ecker J.R., Kay S.A. (2005). LUX ARRHYTHMO encodes a Myb domain protein essential for circadian rhythms. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**: 10387–10392

He, Y., Michaels, S.D., et Amasino, R.M. (2003). Regulation of flowering time by histone acetylation in Arabidopsis. *Science* **302**: 1751-4.

Hemming M.N., Peacock W.J., Dennis E.S., Trevaskis B. (2008). Low-temperature and daylength cues are integrated to regulate FLOWERING LOCUS T in barley. *Plant Physiology*; **147**:355-366.

Henderson, I., Dean, C. (2004) Control of Arabidopsis flowering: the chill before the bloom. *Development* **131**, 3829-3838.

Hespeels B. (200). Les marqueurs moléculaires en génomique structurale et fonctionnelle, les SNP concepts et applications. <http://membres.multimania.fr/bacbio/marq/marqueurs%20molec.pdf> (13/07/2013).

Heun M. (1992). Mapping quantitative powdery mildew resistance of barley using a restriction fragment length polymorphism map. *Genome* **35**, 1019-1025,

Hoang T.B. and Kobata T. (2009). Stay-Green in Rice (*Oryza sativa* L.) of Drought-Prone Areas in Desiccated Soils. *Plant Production Science*. **12**: 397-408.

Hockett, E.A. and Nilan, R.A. (1985). Genetics. In: D.C. Rasmusson (Ed.), Barley, ASA/CSSA/SSSA, Madison, WI, pp. 187–230.

Hopkins W.G. (2003). Physiologie végétale. E ds. *De Boeck*, 448-464.

Horton, P. et Ruban, A. V. (2005). Molecular design of the photosystem II light harvesting antenna: photosynthesis and photoprotection. *J. Exp. Bot.* **56**, 365–373

Houde M., Daniel .C Lachapelle M., Allard F, Laliberte. S., Sarhan F .(1995) Immunolocalization of freezing-tolerance-associated proteins in the cytoplasm and nucleoplasm of wheat crown tissue. *Plant J* **8**:583–593

Hsiao T.C., Acevedo E. (1974). Plant responses to water deficits, water use efficiency, and drought resistance. *Agricultural Meteorology*, **14**, 59-84.

Hsiao, T. C. (1973). Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **24**: 519-570.

Hua, J., Chang, C., Sun, Q. and Meyerowitz, E. M. (1995). Ethylene insensitivity conferred by Arabidopsis ERS gene. *Science* .**269**, 1712-1714.

Huang, X. Q.; A. Börner; M. S. Röder et M. W. Ganal. (2002). Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum*)

Hughes MA, Dunn MA (1996). The molecular biology of plant acclimation to low temperature. *J Exp Bot* **47**: 291–305

Ingram, J. et Bartels, D. (1996). "The molecular basis of dehydration tolerance in plants." *Annu. Rev. Plant Phys. Plant Mol. Biol.* **47**: 377-403.

Ishitani M., Xiong L., Stevenson B. Zhu J.K. (1997). Genetic analysis of osmotic and cold stress signal transduction in Arabidopsis: interactions and convergence of abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways. *Plant Cell* **9**: 1935-1949.

**Iuchi S. Kobayashi M. Taji T. Naramoto M. Seki M. Kato T. Tabata S. Kakubari Y. Yamaguchi-Shinozaki K. Shinozaki K. (2001).** Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant J* **27**: 325-333.

**Jack., T (2001).** Relearning our ABCs: New twists on an oJd mode!. *Trends Plant Sci.***6**: 310-16.

**Jaeger KE, Wigge PA (2007).** FT protein acts as a long-range signal in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* **17**, 1050–1054.

**Jaglo K.R., S. Kleff, K.L. Amundsen, X. Zhang, V. Haake, J.Z. Zhang, T. Deits, M.F. Thomashow (2001).** Components of the *Arabidopsis* C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species, *Plant Physiol.* **127** 910–917.

**Jannink, J.-L. and B. Walsh (2002).** Association mapping in plant populations. In C. International, editor, *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*. 59–68.

**Jarne, P. et P. J. L. Lagoda. (1996).** Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution* **11**: 424-429.

**Javot, H., et Maurel, C. (2002).** The role of aquaporins in root water uptake. *Ann. Bot.* **90**, 301–313.

**Jestin L 1992:** L'orge, amélioration des espèces végétales cultivées : objectifs et critères de selection. Ed. INRA, Paris pp 5-70.

**Johanson, U., West, I, Lister, c., Michaels, S., Amasino, R., et Dean, C. (2000).** Molecular analysis of FRIGIDA, a major determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time. *Science* **290**: 344-7.

**Jones D.L. (1998).** Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant and Soil* **205**: 25–44.

**Jones, M.M. ; Osmond, C.B. Et Turner, N.C. (1980).** - Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water deficits. *Aust. J. Plant Physiol.*, **7**, pp. 193-205.

**Kadi, Z., F. Adjel, H. Bouzerzour. (2010).** Analysis of the genotype x environment interaction of barley grain yield (*Hordeum vulgare L.*) under semi- arid conditions. *Adv. Environ. Biol.*, **4**: 34-40.

**Kalendar R, Grob T, Regina M, Suoniemi A, Schulman AH (1999).** IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theor Appl Genet* **98**:704–711.

**Kandpal, R.P. et Appaji Rao, N. (1985).** Alterations in the biosynthesis of nucleic acids and proteins in finger millet (*Eleusine coracana*) seedlings during water stress and the effect of proline on protein biosynthesis . *Plant Sci . Lett .* **40**, 73 .

**Kang J, Choi H, Im M, Kim SY (2002).** *Arabidopsis* basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling. *Plant Cell* **14**: 343–357

**Kania, T., Russenberger, D., Peng, S., Apel, K., et Melzer, S. (1997)** *FPP1* promotes flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **9**:1327-1338

**Kardailsky I., Shukla V.K., Ahn J.H., Dagenais N., Christensen S.K., Nguyen J.T., Chory J., Harrison M.J., Weigel. D. (1999).** Activation tagging of the floral inducer FT. *Science* **286**: 1962–1965



**Karp, A.; P. I. Isaac et D. S. Ingram. (1998).** Molecular Tools for Screening Biodiversity: plants and animals. Chapman and Hall, London.

**Karsai I., Mészáros K., Lang L., Hayes P.M. et Bedo Z. (2001).** Multivariate analysis of traits introgression by backcrossing. *Crop Sci.* 42(2):557–565

**Karsai I., Mészáros K., Szücs P., Hayes P.M., Láng L., Bedo Z. (2006).** The influence of photoperiod on the Vrn-H2 locus (4H) which is a major determinant of plant development and reproductive fitness traits in a facultative winter barley (*Hordeum vulgare* L.) mapping population. *Plant Breeding* 125, 468–472.

**Karsai, I., Szücs, P., Mészáros, K., Filichkina, T., Hayes, P.M., Skinner, J.S., Láng, L., Bedö, Z. (2005).** The Vrn-H2 locus is a major determinant of flowering time in a facultative × winter growth habit barley (*Hordeum vulgare* L.) mapping population. - *Theor. appl. Genet.* 110: 1458-1466,.

**Kato K., Miura H., Sawada S. (2002).** Characterization of QEet.ocs-5A. 1 a quantitative trait locus for ear emergence time on wheat chromosome 5AL. *Plant Breeding* 121, 389–393.

**Kazuoka T., Oeda K. (1992).** Heat-stable COR (cold-regulated) proteins associated with freezing tolerance in spinach. *Plant Cell Physiol*, 33:1107-1114.

**Keim, D.L et Kroustard, W.E, 1981** "Drought response of winter wheat cultivars growth under field stress conditions" *Crop. Sci.*, 21 : 11-14

**Khiati M. (2008).** L'agriculture algérienne, de l'ère précoloniale aux réformes libérales actuelles. Eds. ANEP 256p.

**Kim., H. J., Hyun., Y., Park., J. Y., Park., M. J., Park., M. K., Kim., M. D., Kim., H. J., Lee., M. H., Moon., J., Lee., J., et Kim, J. (2004).** A genetic link between cold responses and flowering time through FVE in *Arabidopsis thaliana*. *Nat.Genet.* 36: 167-71.

**Kinoshita T., Doi M., N. Suetsugu, T. Kagawa, M. Wada, K.-i. Shimazaki. (2001)** phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening. *Nature* 414: 656-660.

**Kizis, D. Pages, M. (2002).** Maize DRE-binding proteins DBF1 and DBF2 are involved in rab 17 regulation through the drought responsive element in an ABA-dependent pathway. *Plant J.* 30:679-89. Kizis, D. Pages, M. 2002. Maize DRE-binding proteins DBF1 and DBF2 are involved in rab 17 regulation through the drought responsive element in an ABA-dependent pathway. *Plant J.* 30:679-89.

**Knight H., et Knight M.R. (2001)** Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk. *Trends in Plant Science* 6(6): 262-267.

**Koag MC, Fenton RD, Wilkens S, Close TJ (2003).** The binding of maize DHN1 to lipid vesicles carrying anionic phospholipids is associated with increased  $\alpha$ -helicity of the protein. *Plant Physiol* 131: 309–316

**Kobayashi H., Kaern M. M., Araki C. K., Gardner T. S., Cantor C. R., Collins J. J. (2004).** Programmable cells: interfacing natural and engineered gene networks. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 101, 8414–8419.

**Kobayashi Y., Kaya .H., Goto. K., Iwabuchi M., Araki T .(1999)** A pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals. *Science.* 286 (5446):1960-2.

**Kocheva, K.; georgiev, G. (2003).** Evaluation of the reaction of two contrasting barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in response to osmotic stress with PEG 6000. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, 49, p.290-294.

**Kocheva, K., Lambrev, P., Georgieva, G., Goltsev, V., et Karabaliev M. (2004).** Evaluation of chlorophyll fluorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress. *Bioelectrochemistry*, **63**:121–124.

**Kohorn B. (2001).** Cell Wall Associated Kinases. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**:529-533

**Koo, B.-C., M.W. Park, K.J. Kim et J.G. An. (2007).** Spring freezing injuries and their effects on yield of barley (*Hordeum vulgare* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *Korean J. Crop Sci.* **52**:1–12.

**Kosova, K., Prasil, I.T. and Vitamvas, P. (2008).** The relationship between vernalization- and photoperiodically-regulated genes and the development of frost tolerance in wheat and barley. *Biol. Plantarum* **52**, 601–615.

**Kosova, K., Vitamvas, P. and Prasil, I.T. (2007).** The role of dehydrins in plant response to cold. *Biol. Plantarum* **51**, 601–617.

**Krause G.H. et Weis E. (1984).** Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynthesis Res.* **5** : 139-157.

**Kreim, D.L., Kronstad, W.E. (1981).** Drought response of winter wheat cultivars under field stress conditions. *Crop Sci.* ; **21**: 11-5.

**Kume, S., Kobayashi, F., Ishibashi, M., Ohno, R., Nakamura, C., & Takumi, S. (2005).** Differential and coordinated expression of Cbf and Cor/Lea genes during long-term cold acclimation in two wheat cultivars showing distinct levels of freezing tolerance. *Genes. Genet. Syst.*, **80**, 185–197. L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* **105**: 699-707.

**Labhili, M., Jourdi, P. et Gautier, M-F. (1995).** Characterization of cDNAs encoding *Triticum durum* dehydrins and their expression patterns in cultivars that differ in drought tolerance. *Plant Sci.* **112**: 219–230.

**Lahmar R., 1993.** Intensification céréalière dans Hautes Plaines Sétifiennes. Quelques résultats. Dans : *Cahiers Options Méditerranéennes*, vol. **2**, n° 1, pp. 93-97.

**Lamber, E.P., Wilmanns, M. and Svergun, D.I. (2008).** Low resolution structural models of the basic helix-loop-helix leucine zipper domain of upstream stimulatory factor 1 and its complexes with DNA from small angle X-ray scattering data. *Biophys J*, **94**, 193-197.

**Langridge, P., Karakousis, A., Collins, N., Kretschmer, J. et Manning, S. (1995).** A consensus linkage map of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Mol. Breed.* **1**: 389–395.

**Larbi A and Mekliche A. (2004).** Relative water content (RWC) and leaf senescence as screening tools for drought tolerance in wheat. In: Cantero-Martinez C, Cabina D. (Eds.), *Mediterranean rainfed agriculture: Strategies for sustainability: Final Seminar of the Regional Action Program on Rainfed Agriculture, 2-3 June 2003, Zaragoza, Spain. Options Méditerranéennes. Series A, Séminaires Méditerranéens.* Paris: *International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies.* **60**:193-196.

**Laurie D. A. (1997).** Comparative genetics of flowering time in cereals. *Plant Mol. Biol.* **35**: 167–177.

**Laurie D.A., Pratchett, N., Bezant J.H., Snape J.W. (1994).** Genetic analysis of a photoperiod response gene on the short arm of chromosome 2(2H) of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Heredity* **72**: 619–627.

**Laurie., D.A., Pratchett., N., Bezant., I.H., and Snape., I.W. (1995).** RFLP mapping of five major genes and eight quantitative trait loci controlling flowering time in a winter x spring barley *Hordeum vulgare* (L.) cross. *Genome* **38**: 575-85.

**Lazarova, V. et Manem, J. (1995).** Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment. *Water Research*, **29**:2227-2245.

**Ledent J.F. et Girardin P. (1995).** Ecophysiologie et amélioration des plantes, une relation utile ? Quel avertissement pour l'«arnPliorati»n des plantes Ed. AUPELP-UKPE. John Libbey Eurotext. Paris , pp. 23-31.

**Lee H., Guo. Y., Ohta M., Xiong L., Stevenson B. Zhu J.K. (2002).** *LOS2*, a genetic locus acquired for cold-responsive gene transcription encodes a bi-functional enolase. *EMBO J* **21**: 2692-2702.

**Lee H., Suh S.S., Park E., Cho E., Ahn J.H., Kim S.G., Lee J.S., Kwon Y.M. et Lee I. (2000).** The AGAMOUS-LIKE 20 MADS domain protein integrates floral inductive pathways in *Arabidopsis*. *Genes Dev.* **14**: 2366-76.

**Lee H., Xiong L., Gong Z., Ishitani M., Stevenson B., Zhu J.K. (2001).** The *Arabidopsis HOS1* gene negatively regulates cold signal transduction and encodes a RING finger protein that displays cold-regulated nucleo-cytoplasmic partitioning. *Genes Dev.*, **15**: 912-924.

**Lee I., Michaels S.D., Masshardt A.S. et Amasino R.M. (1994)** The late-flowering phenotype of *FRIGIDA* and mutations in *LUMINIDEPENDENS* is suppressed in the Landsberg *erecta* strain of *Arabidopsis*.. *Plant J.* **6**:903-909.

**Lee, U., Wie, C., Escobar, M., Williams, B., Hong, S. and Vierling, E. (2005).** "Genetic analysis reveals domain interactions of *Arabidopsis* Hsp100/ClpB and cooperation with the small heat shock protein chaperone system." *Plant Cell* **17**(2).

**Lee. M. (1995).** DNA markers and plant breeding programs. *Adv Agron* **55**: 265-344.

**Lelley., T.; Stachel M.; Grausgruber H. et Vollmann J. (2000).** Analysis of relationships between *Aegilops tauschii* and the D genome of wheat utilizing microsatellites. *Genome* **43**(4): 661-668.

**Levitt J. (1972).** "reponses of plants to environnemental stress" Acad. Press NewYork

**Levitt J. (1980).** Response of Plants to Environmental Stresses. Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. pp. 497. I, Academic press, New York.

**Levy Y.Y., Mesnage. S., Mylne IS., Gendall A.R., et Dean C. (2002).** Multiple roles of *Arabidopsis* VRN 1 in vernalization and flowering time control. *Science* **297**: 243-6.

**Lewicki S. (1993).** Evaluation de paramètres liés à l'état hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf) et l'orge (*Hordeum vulgare* L.) soumis à un déficit hydrique modéré, en vue d'une application à la sélection de génotypes tolérants. *Thèse de doctorat, Ensa-Montpellier*, 87 p.

**Lewin B. (1999).** *Genes VI.* Oxford University Press and Cell Press, pp. 704-765.

**Li C.D., Langridge P., Zhang X.Q., Eckstein P.E., Rossnagel B.G., Lance R.C.M., Lefol E.B., Lu M.Y., Harvey B.L., Scoles G.J. (2002).** Mapping of barley (*Hordeum vulgare* L.) beta-amylase alleles in which an amino acid substitution determines beta-amylase isoenzyme type and the level of free beta-amylase. *Journal of Cereal Science* **35**: 39- 50. doi:10.1006/JCRS.2001.0398.

**Li., W., et Gill, B.S. (2004).** Genomics for cereal improvement. In Cereal genomics. Eds P.K. Gupta et R.K. Varshney. 585-633.

- Liljegren, S., C. Gustafson-Brown, A. Pinyopich, G. S. Ditta and M. F. Yanofsky, (1999). Interactions among the *APETALA1*, *LEAFY* and *TERMINAL FLOWER*. *Plant Cell* **11**: 1007–1018.
- Lilley J, Ludlow M, McCouch S, O'Toole J (1996). Locating QTL for osmotic adjustment and dehydration tolerance in rice. *J Exp Bot* **47**: 1427-1436.
- Limin AE., Fowler DB .(2006) Low-temperature tolerance and genetic potential in wheat (*Triticum aestivum* L.): response to photoperiod, vernalization, and plant development. *Planta* **224**:360–366.
- Lin. C .(2000). Photoreceptors and regulation of flowering time. *Plant Physiol* **123**: 39–50
- Liu X.L., Covington M.F., Fankhauser. C., Chory. J., Wagner DR .(2001) ELF3 encodes a circadian clock-regulated nuclear protein that functions in an
- Liu., D. J.; J. Y. Liu; W. J. Tao et P. D. Chen. (1998). Molecular markers and breeding wheat for powdery mildew resistance. In: Slinkard, A. E. (Eds.). Proc. 9th International Wheat Genetics Symposium, **3**: 128-131, 2–7 Aug., 1998, Univ. Extension Press, Saskatoon, SK, Canada.
- Liu., Z. W.; R. M. Biyashev et M. A. Saghai-Marroof. (1996). Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. *Theor. Appl. Genet.* **93**:869-876.
- Livingston J.E. et Swinbank J. C. (1950). Some Factors Influencing the Injury to Winter Wheat Heads by Low Temperatures. *Agronomy Journal*, **42**:153-157
- Ludlow M.M., Chun A.CP., Clements R.T, Kerslake R.G. (1983). Adaptation of species of *Centrosema* to water stress. *Aust J Plant Physiol* **10**:119–130
- Luu D-T., Maurel C. (2005). Aquaporins in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. *Plant. Cell and Environment*; **28**:85-96.
- Macknight., R., Bancroft., I., Page., T., Lister., C., Schmidt., R., Love.,K., Westphal., L., Murphy., G., Sherson., S., Cobbett., C., et Dean., C. (1997). FCA, a gene controlling flowering time in Arabidopsis, encodes a protein containing RNA-binding domains. *Cell* **89**: 737–745.
- Mahdid M. et Kameli A. (1998). دراسة مساهمة لعلاقة التعديل نبات الفول تحت ظروف الاجهاد المائي. الاسموزي بالنمو في نبات الشعير و. *Recherche agronomique (INRA)*. **5** : 59-72.
- Mahfoozi S., Limin AE., Fowler D.B. (2001) Influence of Vernalization and Photoperiod Responses on Cold Hardiness in Winter Cereals. *Crop Sci* **41**: 1006-11.
- MARCIAL L., et SARRAFI A., (1996). Genetic analysis of some chlorophyll fluorescence and productivity parameters in barley (*Hordeum vulgare*). *Plant Breed.* **115** : 339-342
- Marè., C., Mazzucotelli., E., Crosatti., C., Francia., E., Stanca., A.â.m. et Cattivelli, L. (2004). "Hv-WRKY38: a new transcription factor involved in cold- and drought-response in barley." *Plant Mol. Biol.* **55**(3): 399-416.
- Martin, T., Hellman, H., Schmidt, R., Willmitzer, L., and Frommer, W.B. (1997). Identification of mutants in metabolically regulated gene expression. *Plant J.* **11**,53–62.
- Maruyama K, Sakuma Y, Kasuga M, Ito Y, Seki M, Goda H, Shimada Y, Yoshida S, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. (2004). Identification of cold-inducible downstream

genes of the Arabidopsis DREB1A/CBF3 transcriptional factor using two microarray systems. *The Plant Journal* **38**, 982–993.

**Massacci A., Battistelli A. et Loreto F. (1996).** Effect of Drought Stress on Photosynthetic Characteristics, Growth and Sugar Accumulation of Field-grown Sweet Sorghum. *Aust. J. Plant Physiol.* **23** (3):331-340

**Mastrangelo A.M., Belloni S., Barilli S., Ruperti B., Di Fonzo N., Stanca A.M., Cattivelli L. (2005).** Low temperature promotes intron retention in two e-cor genes of durum wheat. *Planta* **221**: 705–715.

**Mathieu J, Warthmann N, Kuttner F, Schmid M (2007).** Export of FT protein from phloem companion cells is sufficient for floral induction in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* **17**, 1055–1060.

**Maurel C. et Chrispeels M.J. (2001).** Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. *Plant Physiol* **125**: 135–138.

**Maurel, C. (1997).** Aquaporins and water permeability of plant membranes. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **48**, 399-429

**Maxwell K., Johnson G. N., (2000).** Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* Vol. 51, No. 345, pp. 659-668

**Medrano H, Escalona J M, Cifre J, Bota J, Flexas J. (2003).** A ten-year study on the physiology of two Spanish grapevine cultivars under field conditions: effects of water availability from leaf photosynthesis to grape yield and quality. *Functional Plant Biology* **30**:607-619.

**Medrano., H.; Escalona., J. M.; Bota., J.; Gulias., J.; Flexas., J. (2002).** Regulation of photosynthesis of C-3 plants in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany*, v.89, p.895-905,.

**Melchinger A.E., Singh M., Link W., Utz H.F., Kittlitz .E.V. (1994).** Heterosis and gene effects of multiplicative characters: theoretical relationships and experimental results from *Vicia faba* L. *Theor Appl Genet* **88**: 343–348.

**Menad, A., N. Meziani, H. Bouzerzour, A. Benmahammed. (2011).** Analyse de l'interaction génotype x milieu du rendement de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) : application des modèles AMMI et la régression conjointe. *Nature & Technology* (Université Chlef) **5** : 99-106.

**Merkouropoulos., G. et Shirsat., A. (2003).** "The unusual Arabidopsis extensin gene atExt1 is expressed throughout plant development and is induced by a variety of biotic and abiotic stresses." *Planta* **217**(3): 356-366.

**Meyerowitz, E.M. (1997).** Plants and the logic of development. *Genetics*, **145**, 5-9.

**Michaels, S.D., et Amasino., R.M. (1999).** FLOWERING LOCUS C encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering. *Plant Cell*: 949-56.

**Miquel M, James DJ Jr, Dooner H, Browse J (1993).** Arabidopsis requires polyunsaturated lipids for low-temperature survival. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**:6208–6212

**Miura., H., et Worland., A.J. (1994).** Genetic control of vernalization, day-length response and earliness per se by homoeologous group-3 chromosomes in wheat. *Plant Breeding* **113**: 160-9.

**Monneveux .P., Chaballier .C., Lewicki. S., Lafarga. A., Sombrero. R., Romagosa. I. (1992).** Étude du comportement de lignées d'orge dans différentes conditions de sécheresse en Espagne. Estimation du rôle de la capacité d'ajustement osmotique dans l'adaptation à la variabilité environnementale. In : Tolérance à la sécheresse des céréales en zone

méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Colloque INRA-ENSA-AGROPOLIS, Montpellier (France) : **64** : 217-237..

**Monneveux P. et Depigny-This D. (1995).** Intégration des approches physiologiques, génétiques et moléculaires pour l'amélioration de la tolérance à la sécheresse chez céréales. Dans: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris. 149-163.

**Monneveux, Ph., et M., Nemmar. (1986).** Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*T. aestivum* L.) et chez le blé dur (*T. durum* Desf). Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, **6**(6): 583-590.

**Monneveux., P. (1989).** Quelles stratégies pour l'amélioration génétique des céréales d'hiver ? Dans :*Jour. Scie. de l'AUPELEF*, Tunis (Tunisie), 4-9 Déc., ENSA-INRA, Montpellier, 24 **pp.**

**Monneveux., P. (1991).** Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver ? In CHALABI, DEMARLY Y., Eds. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Tunis : AUPELFUREF, JOHN LIBBEY EUROTEXT: 165-186.

**Monroy, A. F. and Dhindsa, R. S. (1995).** Low temperature signal transduction: The induction of cold acclimation-specific genes of alfalfa by calcium at 25°C. *Plant Cell* **7**: 321-331.

**Morgan J.M. ( 1983).** Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat. *Aust J Agric Res.* **34**: 607-614.

**Morgan., J.M., R.A. Hare et R.J. Fletcher.( 1986).** Genetic variation in **osmoregulation** in bread and durum wheat and its relationship to grain yield in a range of field environments. *Aust. J. Agric. Res.*, **37**: 449-457.

Morillon R et Chrispeels M.J. (2001) The role of ABA and the transpiration stream in the regulation of the osmotic water permeability of leaf cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 9814138–14143.

**Mott, K. A. (1988).** Do stomata respond to CO<sub>2</sub> concentrations other than intercellular *Plant Physiology*, **86**, 200–203

**Moule, C.; K. J. Edwads et M. Trick. (2000).** Development of Brassica microsatellite markers In: International plant and animal genome VIII conference: Abstract P496, 9th-12st Jan. 2000, San Diego, CA.

**Moulet O., Fossati D., Mascher F., Schori A. (2008).** Les marqueurs moléculaires comme outils dans la sélection des céréales

**Muzammil S. (2003).** Response of Durum and Bread wheat Genotypes to Drought Stress: Biomass and Yield Components. *Asian Journal of Plant Sciences*, **2**: 290-293.

**Narusaka Y., Nakashima K. ,Shinwari Z.K. ,Sakuma Y. ,Furihata T. ,Abe H., Narusaka M., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki. K. (2003)** Interaction between two cisacting elements, *ABRE* and *DRE*, in ABA-dependent expression of *Arabidopsis* rd29A gene in response to dehydration and high-salinity stresses. *Plant J.* **34**:137-148.

**Nasraoui R. (1997).** Identification des critères de sélection contrôlant le rendement en grains chez quarante deux génotypes de blé tendre dans quatre zones de semi-aride. Etude de stabilité de rendement. Mémoire de fin de cycle de spécialisation.

**Nayyar H et Walia DP (2004)** Genotypic variation in wheat in response to water stress and abscisic acid-induced accumulation of osmolytes in developing grains *Journal of Agronomy and Crop Science* **190**:39-45.

**Nayyar H, Kaur S, Singh KJ, Dhir KK, Bains T (2005)**. Water stress-induced injury to reproductive phase in chickpea: evaluation of stress sensitivity in wild and cultivated species in relation to abscisic acid and polyamines. *J. Agron. Crop Sci.* **191**: 450-457.

**Nelson D.C., Lasswell J., Rogg L.E., Cohen M.A., Bartel. B. (2000)**. FKF1, a clock-controlled gene that regulates the transition of flowering in *Arabidopsis*. *Cell* **28**, 331–340.

**Ng. M. et Yanofsky M.F. (2001)** Activation of the *Arabidopsis* B class homeotic genes by APETALA1 *Plant Cell* **13**: 739-753.

**Nogues C., Ponsà M., Egozcuea J. et Vidal F. (1994)**. Cytogenetic studies of oocyte fusion products

**Olien, C.R. (1964)**. “Winter hardiness of barley”, In *Barley Genetics* I, Wageningen

**Olsson A.S., Engstrom. P., Soderman E. (2004)**. The homeobox genes ATHB12 and ATHB7 encode potential regulators of growth in response to water deficit in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology.*; **55**:663–677.

**Ozturk Z.N., Talamé .V., Deyholos. M., Michalowski C.B., Galbraith D.W., Gozukirmizi .N., Tuberosa. R., Bohnert H.J. (2002)**. Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley. *Plant Molecular Biology*; **48** :551-573.;

**Pan A, Hayes PM, Chen F, Chen THH, Blake T, Wi,ight S, Karsai I, Bedo 2 (1994)**. Genetic analysis of the components of winterhardiness in barley (*Hordeum vulgure* L.). *Theor Appl Genet.* **89**: 900–910

**Pandey G.K., Grant J.J., Cheong Y.H., Kim B.G., Li L. et Luan S. (2005)**. ABR1, an APETALA2-Domain Transcription Factor That Functions as a Repressor of ABA Response in *Arabidopsis*1. *Plant Physiology* **139**:1185-1193

**Paniego N., Muñoz M., Echaide M., Fernandez L., Faccio P., Zandomeni R., Suarez E., Hopp E .(1999)**. Microsatellite development for sunflower. *Plant and Animal Genome VII Conf.*, San Diego: Starford Univ. Press.

**Parida., A.K., Das., A.B., 2005**. Salt tolerance and salinity effects on plant: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **60**, 324–349.

**Park., D.H., Somers., D.E., Kim., YS., Choy., YH., Lim., RK., Soh., M.S., Kim., H.J., Kay., S.A, and Nam., H.G. (1999)**. Control of circadian rhythms and photoperiodic flowering by the *Arabidopsis* GIGANTEA gene. *Science* **285**: 1579-82.

**PARRY M. A. J., ANDRALOJC P. J., KHAN S., LEA P. J., et KEYS A. J. (2002)**. Rubisco Activity: Effects of Drought Stress . *Ann. Bot.*, **89**(7): 833 – 839

**Passioura J. (1996)**. Drought and drought tolerance. *Plant Growth Regulation* **20**, 79–83.

**Passioura., J. B. (1983)**. Roots and drought resistance. *Agric. Water Manage.* **7**: 265-280.

**Pastori G M.,Trippi V S. (1981)**. Antioxidative protection in a drought-resistant maize strain. *Plant Physiol.*, **67**:1239-1244.

**Pastori GM., Trippi VS. (1992)** Oxidative stress induces high rate of glutathione reductase synthesis in a drought-resistant maize strain. *Plant Cell Physiol.* **33**: 957-961.

- Patel J.A, Vora A.B. (1985).** Free proline accumulation in droughtstressed plants, *Plant Soil*, **84**(3): 427-429.
- Pearce, R.S., (2001).** Plant freezing and damage. *Annals of Botany* **87**: 417-424.
- Pelah D., Wang W., Altman A., Shoseyov O. et Bartles D. (1997).** Differential accumulation of water stress-related proteins, sucrose synthase and soluble sugars in *Populus* species that differ in their water stress response. *Physiologia Plantarum* **99**, 153–159.
- Pelaz S., Ditta G.S., Baumann E., Wisman E. et Yanofsky M.F. (2000).** b and c organ identity functions require sepallata mads-box genes, *nature*, **405**, 200-203,
- Peng, J., P. Carol, D. Richards, K. King, R. Cowling, M. GP and N. Harberd (1997).** "The Arabidopsis GAI gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses." *Genes Dev.* **11**: 3194-3205
- Penna S. (2003).** Building stress tolerance through over-producing trehalose in transgenic plants. *Trends in Plant Science* **8**: 355-357
- Pestsova, E.; M. W. Ganal et M. S. Röder. (2000).** Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* **43**: 689-697.
- Pflieger S., Lefebvre V., Causse M. (2001).** The candidate gene approach in plant genetics: a review. *Mol. Breeding*, **7**: 275-291.
- Pidal B, Yan L, Fu D, Zhang F, Tranquilli G and Dubcovsky J (2009)** The *CARG*-box in the promoter region of wheat vernalization gene *VRN1* is not necessary to mediate the vernalization response. *J Hered* **100**: 355–364.
- Plaschke, J., M. W. Ganal, et M. S. Röder, (1995).** Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* **91**:1001-1007.
- Powell W., Baird E., Booth A., Lawrence P., Macaulay M., Bonar N., Young G., Thomas WTB., JW., Waugh R. (1996).** Single- and multi-locus molecular assays for barley breeding and research. In: Barley genetics VII. Proceedings of the International Symposium, Saskatoon, Canada, 174–181
- Prasad, P.V.V., P.Q. Craufurd, R.J. Summerfield, et T.R. Wheeler. (2000).** Effects of short episodes of heat stress on floral production and fruit-set of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *J. Exp. Bot.* **51**:777–784.;
- Premchandra, G.S., H. Saneoka et S. Ogata, (1990).** Cell membrane stability, an indicator of drought tolerance, as affected by applied nitrogen in soybean. *J. Agric. Sci. Camb.*, **115**: 63-66.
- Priestley C.A.(1977).** The annual turnover of resources in young olive trees. *J. Hort. Sci.* **52**, 105–112.
- Prioul J.L., Quarrie S., Causse M., de Vienne D. (1997).** Dissecting complex physiological functions through the use of molecular quantitative genetics. *Journal of Experimental Botany* **48**, 1151–1163.
- Prouteau M., Colot V. (2005).** Epigenetic control, development and natural genetic variation in plants. *Med Sci (Paris)*; **21**(4):422-7.
- Provan J, Thomas WTB, Forster BP, Powell W. (1999).** Copia-SSR: a simple marker technique which can be used on total genomic DNA. *Genome* **42**, 363–366.



**Putterill, J., Robson, F., Lee, K., Simon, R. and Coupland, G. (1995).** The *CONSTANS* gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell* **80**, 847-857.

**Qi X. Stam P. Lindhout P. (1996).** Comparison and integration of four barley genetic maps. *Genome* **39**: 379-394.

**Quarrie S.A. (1991).** Implication of genetic differences in ABA accumulation for crop production. In : *Abscissic Acid Physiology an biochemistry*. Davies WJ&HGG (eds) Bios scientific publishers Cambridge. UK : 227-244.

**Rafalski JA, Tingey SV. (1993).** Genetic diagnostics in **plant** breeding: RAPDs, microsatellites and machines. *Trends Genet.* **9(8)**:275-80.

**Ratcliffe O. J., Bradley D. J. et Coen E. S. (1999).** Separation of shoot and floral identity in *Arabidopsis*, *Development*, **126** (6), 1109-1120,

**Ratcliffe O.J, Kumimoto R.W, Wong B.J, Riechmann J.L. (2003).** Analysis of the *Arabidopsis* MADS AFFECTING FLOWERING gene family: MAF2 prevents vernalization by short periods of cold. *Plant Cell* **15**:1159–69

**Ratcliffe., O.J., et Riechmann, J.L. (2002).** *Arabidopsis* transcription factors and the regulation of flowering time: a genomic perspective. *Curr Issues Mol Biol* **4**, 77-91.

**Ratcliffe., O.J., Nadzan, G.e., Reuber, T.L., et Riechmann, J.L. (2001).** Regulation of flowering in *Arabidopsis* by an FLC homologue. *Plant PhysioJ.* **126**: 122-32.

**Razem, F.A, El-Kereamy, A, Abrams, S.R., et Hill, R.D. (2006).** The RNA binding protein FCA is an abscisic acid receptor. *Nature* **439**: 290-4.

**Repo,T. Zhang, M.I.N., Ryyppö, A., Vapaavuori, E. et Sutinen, S. (1994).** Effects of freeze-thaw injury on parameters of distributed electrical circuits of stems and needles of Scots pine seedlings at different stages of acclimation. *Journal of Experimental Botany* **45**: 823–833.

**Ribaut JM, Jiang C, D Hoisington (2001)** Simulation experiments on efficiencies of gene

**Richter G. (1993).** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Presses polytechniques et universitaire Romande. 526p.

**Ridout C. J. P. Donini (1999).** Use of AFLP in cereals research. *Trends in Plant Science* **4**: 76-79.

**Riechmann, J.L., and Meyerowitz, E.M. (1997).** The *AP2/EREBP* family of plant transcription factors. *Bio Chem* **379**: 633-646.;

**Ried, D .A ., (1985).** Morphology and anatomy of barley. In: Barley. (ed. Rasmusson, D.C .) *Amer. Soc. A gronomy*, 75-100

**Ritchie J.T. et Smith D.S.N.,. (1991):** Temperature and crop development. In J.Hanks and J.T.Ritchie (ed.) *Modelling plant and soil systems*.Agron.Monogr.31.ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. 5-29.

**Robatzek S; Somssich I E.** A new member of the *Arabidopsis* WRKY transcription factor family, AtWRKY6, is associated with both senescence- and defence-related processes. *Plant Journal* **18**: 123-133.

**Robelin M. (1984).** Fonctionnement hydrique et adaptation à la sècheresse. In : colloque physiologie du maïs. Royan 15-17 mars 1983.

**Roberts, E.H., R.J. Summerfield, J.P. Cooper, et R.H. Ellis. (1988).** Environmental control of flowering in barley (*Hordeum vulgare* L.). I. Photoperiod limits to long day responses, photoperiod insensitive phase and effects of low-temperature and short-day vernalization. *Ann. Bot.* **62**:127–144.

**Rock, C.D. (2000).** Pathways to abscisic acid-regulated gene expression. *New Phytol.* **148**, 357–396.

**Röder, M. S.; V. Korzun; K. Wendehake; J. Plaschke; M. H. Tixer; P. Leroy et M. W. Ganal. (1998).** A microsatellite map of wheat. *Genetics* **149**: 2007-2023.

**Rodriguez RJ, Redman RS, Henson JM. (2005).** Symbiotic lifestyle expression by fungal endophytes and the adaptation of plants to stress: unraveling the complexities of intimacy. In: Dighton J, Oudemans P, White J (eds). *The Fungal Community: Its Organization And Role In The Ecosystem*. Taylor & Francis/CRC Press: Boca Raton, pp 683–696.

**Romagosa I., Han F., Ullrich S.E., Hayes P.M., et Wesenberg D.M. (1999)** Verification of yield QTL through realized molecular marker-assisted selection responses in barley cross. *Mol Breed* **5**: 143- 152.

**Rosielle, A.A. and J. Hamblin, (1981).** Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. *Crop Sci.*, **21**: 943-946.

**Rudolph AS, Crowe JH, Crowe LM (1986).** Effects of three stabilizing agents - proline, betaine and trehalose - on membrane phospholipids. *Arch. Biochem. Biophys.* **245**: 134-143.

**Rushton P.J., Macdonald H., Huttly A.K., Lazarus C.M et Hooley. R. (1995)** Members of a new family of DNA-binding proteins bind to a conserved cis-element in the promoters of -Amy2 genes. *Plant Mol Biol*, **29**, 691–702.

**Rushton P.J., Torres J.T., Parniske M., Wernert P., Hahlbrock K et Somssich I.E. (1996)** Interaction of elicitor-induced DNA binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley PR1 genes. *EMBO J*, **15**, 5690–5700.

**Russell, J. R.; J. D. Fuller; M. Macaulay; B. G. Hatz; A. Jahoor; W. Powell and R. Waugh. (1997).** Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor. Appl. Genet.* **95**: 714-722.

**Saadalla, M., Quick, J., Shanahan, J.F., (1990).** Heat tolerance in winter wheat. I. Hardening and genetic effects on membrane thermostability. *Crop Sci.*, **30** (6): 1243-1247.

**Sahnoune M., Adda A., Soualem S., Harch M., Merah O. (2004)** Early water-deficit effects on seminal roots morphology in barley. *C R Biol.* **327**(4):389-398.

**Sairam R.K , Saxena D.C. (2000).** Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *J. Agronomy & Crop Science* **184**, 55-61

**Sakuma, Y., Liu, Q., Doubozet, J.G., Abe, H., Shinozaki, K. et YamaguchiShinozaki, K. (2002).** DNA-binding specificity of the ERP/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration and cold-induced gene expression. *Biochem Biophys Res Commun* **290**: 998-1009.

**Samach, A., Onouchi, H., Gold, S.E., Ditta, G.S., Schwarz-Sommer, Z., Yanofsky, M.F., et Coupland, G. (2000).** Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of Arabidopsis. *Science* **288**: 1613-6.

**Sanchez AC, Subudhi PK, Rosenow DT, Nguyen HT (2002).** Mapping QTLs associated with drought resistance in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Plant Molecular Biology* **48**, 713–726.9: 225–235.

- Sanchez FJ, Manzanares M, de Andres EF, Tenorio JL, Ayerbe L (1998).** Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and praline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Res* **5**
- Santamaria, J.M., M.M. Ludlow, et S. Fukai. (1990).** Contribution of osmotic adjustment to grain yield in *Sorghum bicolor* (L.) under water-limited conditions. I. Water stress before anthesis. *Aust. J. Agric. Res.* **41**:51–65.
- Santoni S., Faivre-Rampant P., Prado E., Prat D. (2000).** Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cah. Agric.* **9**, p. 311–327.
- Sarda, X., Vansuyt, G., Tusch, D., Casse-Delbart, F. et Lamaze, T. (1993).** Les signaux racinaires de la régulation stomatique. In : Monneveux, P. et Ben Salem, M. (Eds). *Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne*. Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier (France), 15-17 décembre 1992, INRA, Les Colloques, pp. 75-79.
- SARRAFI A., PLANCHON C., ECOCHARD R. et SIOUD Y., (1987).** Inheritance of some physiological factors of productivity in barley. *Genome*, **29** : 846-849.
- Sayed OH (2003).** Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica*, **41**: 321- 330.
- Scarath, R., et Law, C.N. (1983).** The location of the photoperiodic gene, *Ppd2*, and an additional genetic factor for ear-emergence on chromosome 2B of wheat. *Heredity*, **51**: 607–619.
- Schaffer R, Ramsay N, Samach A, Corden S, Putterill J, Carre IA, Coupland G (1998).** The late elongated hypocotyl mutation of *Arabidopsis* disrupts circadian rhythms and the photoperiodic control of flowering. *Cell* **93**: 1219–1229
- Schmitz J., Franzen R., Ngyuen T. H., Garcia-Maroto1 F., Pozzi C., Salamini F., Rohde W. (2000).** Cloning, mapping and expression analysis of barley *MADS-box* genes. *Plant. Mol. Biol.*, **42**: 899–913.
- Schobert B, Tschesche H (1978).** Unusual properties of proline and its interaction with proteins. *Biochim Biophys Acta* **541**: 270–277
- Schomburg, F.M., Patton, D.A., Meinke, D.W., et Amasino, R.M. (2001).** FPA, a gene involved in floral induction in *Arabidopsis*, encodes a protein containing RNA recognition motifs. *Plant Cell* **6**: 1427-36.
- Schultz, T.F., Kiyosue, T., Yanovsky, M., Wada, M., et Kay, S.A. (2001).** A role for LKP2 in the circadian clock of *Arabidopsis*. *Plant Cell* **13**, 2659–2670.
- Schut, J. W.; X. Qi and P. Stam. (1997).** Association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. *Theor. Appl. Genet.* **95**: 1161-1168.
- Schwab K.B. et Heber U. (1984).** Thylakoid membrane stability in drought-tolerant and drought-sensitive plants. *Planta* **161**: 37-45.
- Schwartz S. H, Qin X., et Zeevaart J. A.D. (2003).** Elucidation of the Indirect Pathway of Abscisic Acid Biosynthesis by Mutants, Genes, and Enzymes. *Plant Physiology* **131**(4): 1591 - 1601
- Scortecci, K.C., Michaels, S.D., et Amasino, R.M. (2001).** Identification of a *MADS-box* gene, *FLOWERING LOCUS M*, that represses flowering. *Plant J.* **26**, 229–236.

Searle, I., He, Y., Turck, F., Vincent, c., Fornara, F., Krober, S., Amasino, R.A., et Coupland, G. (2006). The transcription factor FLC confers a flowering response to vernalization by repressing meristem competence and systemic signaling in Arabidopsis. *Genes Dev.* **20**: 898-912.

Seghatoleslami MJ, Kafi M, Majidi E (2008). Effect of drought stress at different growth stages on yield and water use efficiency of five proso millet (*Panicum miliaceum* L.) genotypes. *Pak J Bot* **40**: 1427-1432.

Seki M, Narusaka M, Ishida J, et al. (2002). Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *The Plant Journal*; **31**: 279-292.

Seki, M., Narusaka, M., Ishida, I., Nanjo, T., Fujita, M., Oono, Y., Kamiya, A., Nakajima, M., Enju, A., Sakurai, T., Satou, M., Akiyama, K., Taji, T., Yamaguchi-Shinozaki, K., Carninci, P., Kawai, I., Hayashizaki, Y., and Shinozaki, K. (2002). "Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray." *Plant J.* **31**(3): 279-292.

Semikhodskii AG, SA, Snape JW. (1997). Mapping quantitative trait loci for salinity responses in wheat. Proceedings of the conference: Drought and Plant Production, Lepenski Vir, Serbia, 83–92.

Serraj R, Sinclair T.R. (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop under drought conditions? *Plant Cell Environ.* **25**:333-341.

Shabala S.N. et Lew R.R. (2002). Turgor regulation in osmotically stressed Arabidopsis epidermal root cells. Direct support for the role of inorganic ion uptake as revealed by concurrent flux and cell turgor measurements, *Plant Physiol.* **Pp** 290-299.

Sharopova N., McMullen M.D., Schultz L., Schroeder S., Sanchez-Villeda H., Gardiner J., Bergstrom D., Houchins K., Melia-Hancock S., Musket T. (2002). Development and mapping of SSR markers for maize. *Plant Mol Biol*; **48**: 463-481

Sharrock, R.A., et Quail, P.H. (1989). Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes Dev.* **3**: 1745-1757.

Shcherbakova A, Kacperska-Palacz A. (1980). Modification of stress tolerance by dehydration pretreatment in winter rape hypocotyls. *Physiol Plant* **48**: 560-563

Sheldon, C.C., Burn, J.E., Perez, P.P., Metzger, J., Edwards, J.A., Peacock, W.J. et Dennis, E.S. (1999). The *FLF* MADS box gene: A repressor of flowering in Arabidopsis regulated by vernalization and methylation. *Plant Cell* **11**, 445–458.

Sheldon, C.c., Finnegan, E.J., Rouse, D.T, Tadege, M., Bagnall, D.J., Helliwell, c.A., Peacock, W.J., et Dennis, E.S. (2000). The control of flowering by vernalisation. *Curr. Opin. Plant Biol.* **3**: 418-22.

Shinozaki K. Yamaguchi-Shinozaki K. Seki M. (2003) Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Curr Opin Plant Biol.* **6**: 410-417.

Shinozaki, K. et Yamaguchi-Shinozaki, K. (1997). Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiol.* **115**: 327-334.

Shroyer, J.P., M.E. Mikesell et G.M. Paulsen. (1995). Spring Freeze Injury to Kansas Wheat Publication C-646.

**Siddique K.H.M, Kirby E.J.M. Perry M.W (1989).** Ear: Stem ratio in old and modern wheat varieties; relationship with improvement in number of grains per ear and yield. *Field Crops Res.* **21:** 59-87.

**Silverstone, A.L., Ciampaglio, C.N., et Sun, T.-p. (1998).** The Arabidopsis *RGA* gene encodes a transcriptional regulator repressing the gibberellin signal transduction pathway. *Plant Cell* **10,** 155–169.

**Simier P, Fer A, Renaudin S. (1993).** Identification of the main osmotically active solutes in the unstressed and water-stressed root-hemiparasitic angiosperm *Thesium humile* and its host *Triticum vulgare*. *Australian Journal of Plant Physiology.* **20:**223–230

**Simon H ., Codaccioni P. et Lecoeur X., 1989.** Produire des céréales à pailles. Tec Doc. France. 333 p.

**Simpson, G.G., et Dean, C. (2002).** Arabidopsis, the Rosetta stone of flowering time? *Science* **296:** 285-9.

**Simpson, G.G., Gendall, A.R., et Dean, C. (1999).** When to switch to flowering. *Annu Rev CeJJ Dev Biol* **15:** 519-50.

**Sinclair, T. et M. Ludlow (1986).** "Influence of Soil Water Supply on the Plant Water Balance of Four Tropical. Grain Legumes." *Australian Journal of Plant Physiology* **13(3):** 329-341.

**Singh K.B., Foley R.C., Onate-Sánchez L. (2002).** Transcription factors in plant defense and stress response. *Curr. Opin. Plant Biol.,* **5:** 430-436.

**Singh, T. N., D. Aspinall, L. G. Paleg, (1972).** Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley: a potential metabolic measure of drought resistance. *Nature* **236,** 188-190.

**Singh, T. N.. Paleg, L. G. and Aspinall, D. (1973).** Stress metabolism. III. Variations in response to water deficit in the barley plant. *Aust. J. Biol. Sci.,* **26:** 65-76.

**Skinner, J.S., von Zitzewitz, J., Szucs, P., Marquez-Cediño, L., Filichkin, T., Amundsen, K., Stockinger, E.J., Thomashow, M.F., Chen, T.H., et Hayes, P.M. (2005).** Structural, functional, and phylogenetic characterization of a large CBF gene family in barley. *Plant Mol Biol* **59:** 533-55 I.

**Skriver K., Mundy J. (1990).** Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress. *Plant Cell.* Jun;**2(6):**503–512

**Slayter, R.O.,(1967).** Plant-Water Relationships. *Academic Press, London,* 366 pp.

**Snape, J.W., Law, C.N., Parker, B.B., et Worland, A.J. (1985).** Genetical analysis of chromosome 5A of wheat and its influence on important agronomic characters. *Theor. Appl. Genet.* **71:** 518-26.

**Sofield T., Evans J., Cook M.G. et Wardlaw I.F. (1977).** Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.,* **4,** 785-797.

**Somers D.J. (2004).** Molecular marker systems and their evaluation for cereal genetics. In *Cereal genomics.* Eds **P.K. Gupta et R.K. Varshney.** 19-34.

**Somers, D.E., Schultz., T.F., Milnamow., M., et Kay, S.A. (2000).** *ZEITLUPE* encodes a novel clock-associated PAS protein from *Arabidopsis*. *Cell* **101,** 319–329. [

**Song C.P., Agarwal M., Ohta M., Guo Y., Halfter U., Wang P., Zhu J.K. (2005).** Role of an Arabidopsis AP2/EREBP-type transcriptional repressor in abscisic acid and drought stress responses. *Plant Cell.* **17 (8):**2384-96

**Soppe, W.J., Jacobsen, S.E., Alonso-Blanco, C., Jackson, J.P., Kakutani, T., Koornneef, M., et Peeters, A.J. (2000).** The late flowering phenotype of *fwa* mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain. *gene. Mol. Cell* **6**, 791–802

**Stachel M., Leley T., Grausgruber H., et Vollmann J. (2000).** Application of microsatellites in wheat (*Triticum aestivum* L.) for studying genetic differentiation caused by selection for adaptation and use. *Theor Appl Genet* **100**: 242-248.

**Stephenson, P.; G. Bryan; J. Kirby; A. Collins; K. M. Devos; C. Busso et M. D. Gale. (1998).** Fifty new microsatellite loci for the wheat genetic map. *Theor. Appl. Genet.* **97**: 946-949.

**Stewart G.R. et Lee I. A. (1974).** The role of proline accumulation in halophytes. *Plania* **120**:279-89,.

**Stockinger E.J., Gilmour S.J., Thomashow M.F. (1997).** *Arabidopsis thaliana* *CBF1* encodes an AP2 domain-containing transcription activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**: 1035-1040.

**Stockinger EJ, Skinner JS, Gardner KG, Francia E, Pecchioni N (2007).** Locus Expression levels of barley *Cbf* genes at the Frost resistance-H2 are dependent upon alleles at *Fr-H1* and *Fr-H2*. *Plant J* **51**:308–321

**Strayer, C.A., Oyama, T., Schultz, T.F., Raman, R., Somers, D.E., Mas, P., Panda, S., Kreps, J.A., and Kay, S.A. (2000).** Cloning of the *Arabidopsis* clock gene *TOC1*, an autoregulatory response regulator homolog. *Science* **289**, 768–771

**Subhani, G. M. and M.A. Chowdhry (2000).** Correlation and path coefficient in bread wheat under drought stress and normal conditions. *Pak. J. Bio. Sci.* **3(1)**: 72-77.

**Sugano, S., Andronis, C., Ong, M.S., Green, R.M., et Tobin, E.M. (1999).** The protein kinase CK2 is involved in regulation of circadian rhythms in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**: 12362-12366

**Sullivan J.A. et Deng, X.W. (2003).** From seed to seed: The role of photoreceptors in *Arabidopsis* development. *Dev. Biol.* **260**: 289-297.

**Sun, C., Palmqvist, S., Olsson, H., Boren, M., Ahlandsberg, S., et Jansson, C. (2003).** A novel WRKY transcription factor, SUSIBA2, participates in sugar signaling in barley by binding to the sugar-responsive elements of the iso1 promoter. *Plant Cell* **15**, 2076-2092.

**Sun, T.P., et Gubler, F. (2004).** Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. *Annu. Rev. Plant. Biol.* **55**: 197-223.

**Sun, T.-p., et Kamiya, Y. (1994).** The *Arabidopsis* *GAI* locus encodes the cyclase ent-kaurene synthetase A of gibberellin biosynthesis. *Plant Cell* **6**: 1509-1518.

**Suprunova T, Krugman T, Fahima T, Chen G, Shams I, Korol A, Nevo E (2004).** Differential expression of dehydrin genes in wild barley, *Hordeum spontaneum*, associated with resistance to water deficit. *Plant Cell Environ* **27**:1297-1308

**Svensson J, Ismail AM, Palva ET, Close TJ. (2002).** Dehydrins. In *Cell and Molecular Responses to Stress* (Storey, K.B. and Storey, J.M., eds.), Vol. 3: Sensing, Signaling and Cell Adaptation. Elsevier Press, Amsterdam, 2002, pp. 155-171.

- Taeb M, Koebner R.M.D, Forster B.P, Law C.N (1992).** Association between genes controlling flowering time and shoot sodium accumulation in the triticeae. *Plant Soil*. **146**, 117–121.
- Takada, S., et Goto, K. (2003).** TERMINAL FLOWER2, an Arabidopsis homolog of HETEROCHROMATIN PROTEIN1, counteracts the activation of *FLOWERING LOCUS T* by CONSTANS in the vascular tissues of leaves to regulate flowering time. *Plant Cell* **15**, 2856–2865.
- Takahashi, R. et Yasuda, S. (1971)** Genetics of earliness and growth habit in barley. In Barley Genetics II; Proceedings of the Second International Barley Genetics Symposium (Nilan, R.A., ed). Pullman, WA: Washington State University Press, pp. 388–408.
- Tan B.C. Joseph L.M. Deng W.T. Liu L. Li Q.B. Cline K. McCarty D.R. (2003)** Molecular characterization of the Arabidopsis 9-cis epoxy-carotenoid dioxygenase gene family. *Plant J.* **35**: 44-56.
- Tanksley, S. D. (1993).** Mapping Polygenes. Annual Rev. *Genetic* **27**: 205-233.
- Taramino, G. et S. Tingey. (1996).** Simple sequence repeats for germplasm analysis and mapping in maize. *Genome* **39**: 277-287.
- Tardieu F, Lafarge T, Simonneau T. (1996).** Stomatal control by fed or endogenous xylem ABA in sunflower: interpretation of correlations between leaf water potential and stomatal conductance in anisohydric species. *Plant, Cell and Environment* **19**,75–84.
- Tardieu F, Zhang J, Gowing D.J.G. (1993).** Stomatal control by both [ABA] in the xylem sap and leaf water status: a test of a model for droughted or ABA-fed field-grown maize. *Plant, Cell and Environment* **16**, 413–420.
- Tashiro T, Wardlaw IF. (1990).** The response to high temperature shock and humidity changes prior to and during the early stages of grain development in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* **17**: 551-561.
- Temagout M. 2009.** Analyse de la variabilité de la réponse au stress hydrique chez des lignées recombinantes de Tournesol (*Helianthus annuus L.*). Mémoire de magistère. Univ. Mentouri. Constantine.
- Teper-Bamnolker, P., et Samach, A. (2005).** The flowering integrator *FT* regulates *SEPALLATA3* and *FRUITFULL* accumulation in *Arabidopsis* leaves. *The Plant Cell* **17**:2661-2675
- Terashima, I. et Ono, K. (2002).** Effects of HgCl<sub>2</sub> on CO<sub>2</sub> dependence of leaf photosynthesis: Evidence indicating involvement of aquaporins in CO<sub>2</sub> diffusion across the plasma membrane. *Plant and Cell Physiology* **43**: 70-78.
- Teulat B, Merah O, Sirault X, Borries C, Waugh R, This D (2002).** QTL for grain carbon isotope discrimination in field-grown barley. *Theor Appl Genet* **106**:118–126.
- Teulat B, Rekika D, Nachit M.M, Monneveux P. (1997).** Comparative osmotic adjustments in barley and tetraploid wheats. *Plant Breeding*. **116**: 519-523.
- Teulat B., Zoumarou-Wallis N., Rotter B., BenSalem M, Bahri H, This D (2003).** QTL for relative water content in field-grown barley and their stability across Mediterranean environments. *Theor Appl Genet* **108**:181–188.



**Tewari, T.N. and B.B. Singh, (1991).** Stress studies in lentil (*Lens esculenta* Moench). II. Sodicity-induced changes in chlorophyll, nitrate, nitrite reductase, nucleic acids, proline, yield and yield components in lentil. *Plant Soil*, **135**: 225-250.

**Tezara, W., Mitchell V. J., Driscoll S. D., et Lawlor D. W. (1999).** Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature* **401**, 914—917.

**Theissen G. (2001).** Development of floral organ identity: stories from the MADS house. *Curr Opin Biol* **4**: 75-85.

**Thiery L, Leprince AS, Lefebvre D, Ghars MA, Debarbieux E, Savouré A (2004).** Phospholipase D is a negative regulator of proline biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* **279**: 14812–14818

**Thomashow M.F. (1999)** Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **50**:571–599

**Thomashow M.F. (2001).** So what's new in the field of plant cold acclimation? Lots! *Plant Physiol*, **125**:89-93.

**Thomashow, (1994); Hughes and Dunn, 1996; Seki et al., 2002; Kume et al., 2005)**

**Tinker A., Lindsay A.R.G., Williams A.J. (1993).** Cation conduction in the calcium release channel of the cardiac sarcoplasmic reticulum under physiological and pathophysiological conditions. *Cardiovasc. Res.*; **27**:1820–1825.

**Tiwari T.N. et Singh B.B. (1991).** Stress studies in Lentil (*Lens esculenta* Moench) II. Sodicity induced changes in chlorophyll, nitrate and nitrate reductase, nucleic acids, yield and yield components in lentil. *Plant and Soil* **136**:225-230.

**Tommasini L., Svensson JT., Rodriguez EM, Wahlid A, Malatrasi M, Kato K, Wanamaker S, Resnik J, Close TJ. (2008)** Dehydrin gene expression provides an indicator of low temperature and drought stress: transcriptome-based analysis of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Funct Integr Genomics* **8**: 387–405

**Tondelli A., Francia E., Karsai I., Stanca A.M., Pecchioni N. (2008).** Candidate genes and QTLs for heading date in the 'Nure' x 'Tremois' mapping population. *Proceedings of the 52nd Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress S.I.G.A. Napoli (ITA) 14/17 September, 2008* ISBN 978-88-900622-8-5

**Tondelli, A., Francia, E., Barabaschi, D., Aprile, A., Skinner, J. S., Stockinger, E. J., Stanca, A. M., et Pecchioni, N. (2006).** Mapping regulatory genes as candidates for cold and drought stress tolerance in barley. *Theor. Appl. Genet.* **112**: 445-454.

**Toojinda T, Baird E, A, Broers L, Hayes P, Powell W, Thomas WTB, Vivar H, Young G. (1998).** Introgression of quantitative trait loci (QTLs) determining stripe rust resistance in barley: an example of marker-assisted line development. *Theoretical and Applied Genetics* **96**, 123–131.

**Tranquilli G, Dubcovsky J. (2000).** Epistatic interaction between vernalization genes *Vrn-Am1* and *Vrn-Am2* in diploid wheat. *J. Hered.* **91**:304–6

**Trevaskis B., Bagnall D.J., Ellis M.H., Peacock W.J. Dennis E.S.(2003).** MADS box genes control vernalization-induced flowering in cereals. *Proc Natl Acad Sci*; **100**:13099-13104

**Trevaskis, B., Hemming, M.N., Peacock, W.J. et Dennis, E.S. (2006)** *HvVRN2* responds to daylength, whereas *HvVRN1* is regulated by vernalization and developmental status. *Plant Physiol.* **140**, 1397–1405.



**Turner N 1986** Adaptation to water déficit: a changing perspective. *Aust J Plant Physiol* **13**: 175-190

**Turner N., Jones M.( 1980)** Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and évaluation. In *Adaptation of plants to water and high température stress*, N Turner et P Kramer eds, Wiley, New York, 87-107.

**Turner N.C. (1979).** Drought résistance and adaptation to water déficits in crop plants. In *Stress physiology of crop plants*. H Mussel, RC Staples Eds. New York, Wiley interscience, 343-372.

**Turner, A., Beales, J., Faure, S., Dunford, R.P. et Laurie, D.A. (2005).** The pseudo-response regulator Ppd-H1 provides adaptation to photoperiod in barley. *Science*, **310**, 1031–1034.

**Tyerman S.D., Niemietz C.M. et Bramley H. (2002).** Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant, Cell and Environment* **25**, 173–194.

**Uno Y., Furihata T., Abe H., Yoshida R., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. (2000).** *Arabidopsis* basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 11632-11637.

**Urao T. Yakubov B. Satoh R. Yamaguchi-Shinozaki K. Seki M. Hirayama T. Shinozaki K. (1999)** A transmembrane hybrid-type histidine kinase in *Arabidopsis* functions as an osmosensor. *Plant Cell* **11**: 1743-1754.

**Vágújfalvi. A., Galiba .G., Cattivelli. L., Dubcovsky. J. (2003)** The cold-regulated transcriptional activator Cbf3 is linked to the frost-tolerance locus Fr-A2 on wheat chromosome 5A. *Mol Gen. Genet.* **269**: 60-67.

**Van Oosterom EJ, Jayachandran R, Bidinger FR. (1996).** Diallel analysis of the stay-green trait and its components in sorghum. *Crop Science*, **36**,549–555.

**Varlet Granchet G., Pluchard P., (1986).** Ble tendre : Jusqu'ou ameliorer la productivite. *Extrait de la revue francaise Cultivar*, n° **195** : 31-35.

**Verslues PE, Agarwal M, Katiyar-Agarwal S, Zhu JH, Zhu JK. (2006).** Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*. **45**:523–539.

**Vogel, IT., Zarka, D.G., Van Buskirk, H.A, Fowler, S.G., et Thomashow, M.F. (2005).** Roles of the CBF2 and ZAT 12 transcription factors in configuring the low temperature transcriptome of *Arabidopsis*. *Plant J* **41**: 195-211.

**von Bothmer R, Jacobsen N, Baden C, Jorgensen RB, Linde-Laursen I (1991).** An ecogeographical study of the genus *Hordeum*. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, pp 127

**Von Zitzewitz J, Sz:cs P, Dubcovsky J, Yan L, Francia E, Pecchioni N, Casas A, Chen THH, Hayes P, Skinner J (2005)** Molecular and structural characterization of barley vernalization genes. *Plant Mol Biol* **59**:449–467

**Walia H , Wilson C , Ismail A.M , Close T.J , Cui X . (2009).** Comparing genomic expression patterns across plant species reveals highly diverged transcriptional dynamics in response to salt stress. *BMC Genomics*; **10**:398

**Wang F.Z., Wang QB, Kwon S.Y, Kwak S.S., Su W.A (2005).** Enhanced drought tolerance of transgenic rice plants expressing a pea manganese superoxide dismutase. *J. Plant Physiol* **162**: 465-472.

**Wang, R.-C., J. Chen & L.R. Joppa, (1995).** Production and identification of chromosome specific RAPD markers for Langdon durum wheat disomic substitution lines. *Crop Sci* **35**: 806–888.

**Wang, X.Q., Ullah, H., Jones, A.M., and Assmann, S.M. (2001).** G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in Arabidopsis guard cells. *Science* **292**, 2070–2072.

**Wang, Z.-Y., et Tobin., E.M. (1998).** Constitutive expression of the *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1)* gene disrupts circadian rhythms and suppresses its own expression. *Cell* **93**, 1207–1217

**Wang, Z.Y., Kenigsbuch, D., Sun, L., Harel, E., Ong, M.S., et Tobin, E.M. (1997).** A Myb-related transcription factor is involved in the phytochrome regulation of an *Arabidopsis* Lhcb gene. *Plant Cell* **9**: 491-507.

**Watson D.J.** 1952. The physiological basis of varieties in yield. *Adv. Agron.*, **4**:101-145.

**Webb, M.S., S.J.Gilmour, M.F.Thomashow et P.L.Steponkus. (1996).** Effects of COR6. 6 and COR15am polypeptides encoded by COR (cold-regulated) genes of *Arabidopsis thaliana* on dehydration-induced phase transitions of phospholipid membranes. *Plant Physiol.* **111**(1):301–312.

**Weigel, D., Alvarez, I., Smyth, D.R., Yanofsky, M.F., et Meyerowitz, E.M. (1992).** LEAFY controls floral meristem identity in Arabidopsis. *Cell* **69**: 843-59.

**White P.J. Broadley M.R. (2003)** Calcium in plants. *Ann of Bot* **92**: 487-511.

**Wigge, P.A., Kim, M.C., Jaeger, K.E., Busch, W., Schmid, M., Lohmann, J.U., et Weigel, D. (2005).** Integration of spatial and temporal information during floral induction in Arabidopsis. *Science* **309**: 1056-9.

**Williams, J. G. K.; A. R. Kubelik; K. J. Livak; J. A. Rafalski et S. V. Tingey. (1990).** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.***18**: 6531-6535.

**Winch T. (2006).** Growing Food: A Guide to Food Production. Springer Science+Business Media. 333P.

**Wingler A. (2002).** The function of trehalose biosynthesis in plants. *Phytochemistry*. Jul;**60**(5):437-40.

**Worland AJ (1996).** The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. *Euphytica* **89**: 49–57

**Wu, K. S. et Tanksley S. D. (1993).** Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. *Mol. Gen. Genet.* **241**: 225-35.

**Wullschleger, S.D., T.M. Yin, S.P. DiFazio, T.J. Tschaplinski, L.E. Gunter, M.F. Davis and G.A. Tuskan, (2005).** Phenotypic variation in growth and biomass distribution for two advanced-generation pedigrees of hybrid poplar. *Canadian J. For. Res.*, **35**: 1779–1789

**Xiong L. Lee B.H. Ishitani M. Lee H. Zhang C. Zhu J.K. (2001)** FIERY1 encoding an inositol polyphosphate 1-phosphatase is a negative regulator of abscisic acid and stress signaling in Arabidopsis. *Genes Dev* **15**: 1971-1984.

**Xiong L, Schumaker K.S, Zhu J.K. (2002).** Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell (Suppl)*, S165-S183. Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006

**Xue, G.P. (2003).** The DNA-binding activity of an AP2 transcriptional activator HvCBF2 involved in regulation of low-temperature responsive genes in barley is modulated by temperature. *Plant J* **33**: 373-83.

**Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. (1994).** A novel cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature temperature, or high-salt stress. *Plant Cell* **6**:251-264.

**Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (2006).** Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu Rev Plant Biol* **57**: 781-803

**Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (2005).** Organization of cisacting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. *Trends Plant Sci* **10**:88–94

**Yan L, Fu D, Li C, Blechl A, Tranquilli G, Bopnafede M, Sanchez A, Valarik M, Yasuda S, Dubcovsky J. (2006)** The wheat and barley vernalization gene VRN3 is an orthologue of FT. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**:19581–19586

**Yan, L., Loukoianov, A., Blechl, A., Tranquilli, G., Ramakrishna, W., SanMiguel, P., Bennetzen, J.L., Echenique, V. and Dubcovsky, J. (2004).** The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science*, **303**, 1640–1644.

**Yan, L., Loukoianov, A., Tranquilli, G., Helguera, M., Fahima, T., and Dubcovsky, J. (2003)** Positional cloning of the wheat vernalization gene VRN1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 6263-6268.

**Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q, Wang W (2001).** Hormonal changes in the grains of rice subjected to water stress during grain filling. *Plant Physiol* **127**:315–323

**Yang, P., Wang, Z., Fan, B., Chen, C. and Chen, Z. (1999).** A pathogen- and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding activity recognizes the elicitor response element of the tobacco class I chitinase gene promoter. *Plant J.* **18**: 141–149.

**Yap, T.C., Harvey, R.L. (1972).** Relations between grain yield and photosynthetic parts above the flag leaf node in barley. *Canadian Journal of Plant Science*, **52**:241–246.

**Ye, S., Dhillon, S., Ke, X., Collins, A.R., and Day, I.N. (2001).** An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Res.* **29**: e88.

**Yoda, H., Ogawa, M., Yamaguchi, Y., Koizumi, N., Kusano, T., et Sano, H. (2002).** Identification of early-responsive genes associated with the hypersensitive response to tobacco mosaic virus and characterization of a WRKY-type transcription factor in tobacco plants. *Mol. Genet. Genomics* **267**, 154–161.

**Yoo, S.K., Chung, K .S., Kim, J., Lee, J.H., Hong, S.M., Yoo, S.J., Yoo, S.Y., Lee, J.S., et Ahn, J.H. (2005).** CONSTANS activates SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 through FLOWERING LOCUS T to promote flowering in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **139**:770-8.

**Yoshiba Y., Kiyosue T., Nakashima K., Yamaguchi-Shinozaki K. and Shinozaki K. (1997).** Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. *Plant Cell Physiol.* **38**:1095–1102.

- Yoshida R. Hobo T. Ichimura K. Mizoguchi T. Takahashi F. Alonso J. Ecker J.R. Shinozaki K. (2002).** ABA-activated SnRK2 protein kinase is required for dehydration stress signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* **43**: 1473-1483.
- Yoshida, N., Yanai, Y., Chen, L., Kato, Y., Hiratsuka, J., Miwa, T., Sung, Z.R., et Takahashi, S. (2001).** EMBRYONIC FLOWER2, a novel Polycomb group protein homolog, mediates shoot development and flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **13**, 2471–2481
- Yu, L., Chen, C. et Chen, Z. (2001).** Evidence for an important role of the WRKY DNA-binding proteins in the regulation of the NPR1 gene expression. *Plant Cell* **13**: 1527–1539.
- Zahour A. (1992).** **Eléments d'amélioration génétique des plantes.** Actes éditions. Institut agronomique et vétérinaire Hassan II. Rabat. 230 p.
- Zarka D.G., Vogel J.T., Cook. D et Thomashow M.F. (2003)** Cold induction of *Arabidopsis* CBF genes involves multiple ICE (Inducer of CBF Expression) promoter elements and a cold-regulatory circuit that is desensitized by low temperature. *Plant Physiol.* **133**: 910-918.
- Zemetra RS, Morris R, Schmidt JW. (1986).** Gene location for heading date using reciprocal chromosome substitution lines in winter wheat. *Crop Sciences* **26**, 531–533.
- Zhang J. et Davies W.J. (1987).** Increased synthesis of ABA in partially dehydrated root-tips and ABA transport from roots to leaves. *Journal of Experimental Botany* **38**, 2015–2023.
- Zhang, J. et W.J. Davies, (1990).** Changes in concentration of ABA in xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf water conductance and growth. *Plant Cell and Environ.*, **13**: 277–85.
- Zhang, M.I.N. and J.H.M. Willison. (1992).** Electrical impedance analysis in plant tissues: The effect of freeze--thaw injury on the electrical properties of potato and carrot root tissues. *Can. J. Plant Sci.* **72**:545--553.;
- Zhang, X. et al. (2004)** Freezing-sensitive tomato has a functional CBF cold response pathway, but a CBF regulon that differs from that of freezing-tolerant *Arabidopsis*. *Plant J.* **39**, 905–919 Zhang et Willison, 1992a
- Zhao., X. et G. Kochert. (1993).** Phylogenetic distribution and genetic mapping of a (GGC)<sub>n</sub> microsatellite from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Mol. Biol.* **21**: 607-614.
- Zhu B, Choi DW, Fenton RD, Close TJ (2000).** Expression of the barley dehydrin multigene family and the development of freezing tolerance. *Mol Gen Genet* **264**: 145–153
- Zhu J., DONG C.H., ZHU J.K., (2007).** Interplay between cold-responsive gene regulation, metabolism and RNA processing during plant cold acclimation. *Curr Opin Plant Biol* **10**, 290-295.
- Zohary. D., Hopf. M. (1988).** Domestication of plants in the Old World. Oxford: Clarendon
- Zryd. T.P. (1988).** La culture des méristèmes, des cellules, tissus et organes végétaux. Ed. Press. Poly. Rom Lausanne Suisse. 305P.

## *Annexes*

---

**Annexe 1. Fiche technique des géotypes****Rahma****Variétés** : MOB 1337 /W12291

Pédigrée et n° de croisement: MOB 1337 /W12291.ICB 81 2606-2AP-1AP-0AP

Année d'introduction : 1988/1989

Origine (institution/pays) : ICARDA/Syrie

Nom de la pépinière ou de l'essai d'origine : CBC N° 21

Année de sélection : 1990/1991

Caractères morphologiques :

Hauteur de la plante : 75 cm

Longueur du col de l'épis : 15 cm

Couleur des barbes : présence de pigmentation anthocyanique

Paille creuse ou pleine : creuse

Degrés de glaucescence : présence faible à moyenne sur la tige et l'épis

Epis à barbe ou glabre : barbe

Caractères phénologiques :

Nombre de jours à l'épiaison : (levé- épiaison) 141 jours précoce que tichedrett

Caractères physiologiques :

Tolérance au stress biotique : tolérante (helminthosporiose, rynchosporiose)

Tolérance aux stress abiotiques : gelées- sensible

Caractères agronomiques

	1 <sup>ère</sup> année d'essai	2 <sup>ème</sup> année d'essai	3 <sup>ème</sup> année d'essai
Rendement de la variété qx/ ha	55 qx /ha	42 qx/ha	50 qx/ha
Variété témoin et niveau rendement	Tichedrett 48 qx/ha	Tichedrett 29 qx/ha	Tichedrett 32 qx/ha
Rendement % par rapport au témoin	115%	145%	156%

NB/ tableau à renseigner sur la base des trois dernières années du processus de sélection.

**Tissa**

Pédigrée et n° de croisement: Inconnu

Année d'introduction : 1991/1992

Origine (institution/pays) : INRAM / Maroc

Nom de la pépinière ou de l'essai d'origine : Essai Maghrébin

Année de sélection : 1991/1992

Caractères morphologiques :

Hauteur de la plante : 85 cm

Longueur du col de l'épis : 14 cm

Couleur des barbes : présence de pigmentation anthocyanique moyenne

Paille creuse ou pleine : creuse

Degrés de glaucescence : présence moyenne

Epis à barbe ou glabre : barbe

Caractères phénologiques :

Nombre de jours à l'épiaison : (levé- épiaison) 166 jours (même précocité tichedrett)

Caractères physiologiques :

Tolérance au stress biotique : moyennement sensible (helminthosporiose, rynchosporiose)

Tolérance aux stress abiotiques : gelées- tolérante

Caractères agronomiques :

	1 <sup>ère</sup> année d'essai	2 <sup>ème</sup> année d'essai	3 <sup>ème</sup> année d'essai	4 <sup>ème</sup> année d'essai
Rendement de la variété qx/ ha	53 qx /ha	69 qx/ha	92.8 qx/ha	37.6 qx/ha
Variété témoin et niveau rendement	Tichedrett 32 qx/ha	Tichedrett 44 qx/ha	Tichedrett 76.2 qx/ha	Tichedrett 36.6 qx/ha
Rendement % par rapport au témoin	165.6 %	156.8 %	121.8 %	103%

NB/ tableau à renseigner sur la base des quatre dernières années du processus de sélection.

**Soufara 's'**

Pédigrée et n° de croisement: Soufara 's' sel 5AP-0AP

Année d'introduction : 1984/1985

Origine (institution/pays) : ICARDA/Syrie

Nom de la pépinière ou de l'essai d'origine : BYT 84 / 85#5

Année de sélection : 1987/1988

Caractères morphologiques :

Hauteur de la plante : 70 cm

Longueur du col de l'épis : 15 cm

Couleur des barbes : présence de pigmentation anthocyanique

Paille creuse ou pleine : creuse

Degrés de glaucescence : présence moyenne sur la tige

Epis à barbe ou glabre : barbe

Caractères phénologiques :

Nombre de jours à l'épiaison : (levée - épiaison) 141 jours

Caractères physiologiques :

Tolérance au stress biotique : tolérante (helminthosporiose, rynchosporiose)

Tolérance aux stress abiotiques : gelées- tolérante

Caractères agronomiques :

	1 <sup>ère</sup> année d'essai	2 <sup>ème</sup> année d'essai	3 <sup>ème</sup> année d'essai
Rendement de la variété qx/ ha	49.89 qx /ha	44.9 qx/ha	42.7 qx/ha
Variété témoin et niveau rendement	Tichedrett 45.1 qx/ha	Tichedrett 40.7 qx/ha	Tichedrett 35.6 qx/ha
Rendement % par rapport au témoin	110 %	110 %	120 %

NB/ tableau à renseigner sur la base des trois dernières années du processus de sélection.

**El fouara**

Pédigrée et n° de croisement: Deir Alla 106-strain 205//Gerbel. ICB85-1376-0AP-1AP-2AP-0AP

Année d'introduction : 1991/1992

Origine (institution/pays) : ICARDA/Syrie

Nom de la pépinière ou de l'essai d'origine : IWF BON n° 133

Année de sélection : 1993/1994

Caractères morphologiques :

Hauteur de la plante : 75 cm

Longueur du col de l'épis : /

Couleur des barbes : présence de pigmentation anthocyanique forte

Paille creuse ou pleine : creuse

Degrés de glaucescence : glaucescence de l'épi forte

Epis à barbe ou glabre : barbe

Epi : 6 rangs, compact à barbe pigmentées et langues.

Grain : gros

Caractère cultural

Cycle végétatif : précoce

Tallage : fort

Caractères phénologiques :

Nombre de jours à l'épiaison : (levée - épiaison) 159 jours

Caractères physiologiques :

Tolérance au stress biotique : tolérante (helminthosporiose, rynchosporiose)

Tolérance aux stress abiotiques : gelées- moyennement résistante

Caractères technologiques :

PMG : bon

Productivité : bonne

Caractères agronomiques :

	1 <sup>ère</sup> année d'essai	2 <sup>ème</sup> année d'essai	3 <sup>ème</sup> année d'essai
Rendement de la variété qx/ ha	76 qx /ha	55.2 qx/ha	34.6 qx/ha
Variété témoin et niveau rendement	Tichedrett 61.5 qx/ha	Tichedrett 47.6 qx/ha	Tichedrett 20.4 qx/ha
Rendement % par rapport au témoin	123.6 %	116 %	169.6 %

NB/ tableau à renseigner sur la base des trois dernières années du processus de sélection.

**El bahia**

Pedigree : Tich X Rebelle Cs 9520-3s F4 N° =21 1998/1999

Origine: ITGC/SETIF

Caractères morphologiques:

Epi : 6 rangs, lâche à barbes pigmentées et langues

Paille : creuse

Grain : long

Caractères culturaux

Cycle végétatif : précoce



Tallage : fort

Comportement à l'égard des maladies :

Résistante aux maladies cryptogamiques

Caractères technologiques :

PMG : élevé

Productivité : bonne

Zone d'adaptation : plaines intérieures et hauts plateaux

Conseil de culture :

- Rustique
- Tolérante à la gelée, au froid et à la sécheresse
- A semer : mi-novembre à mi-décembre
- Résistante à la verse

## **Tichedrett**

Obtenteur : ITGC (ferme de démonstration et de production de semences de Sétif)

Origine : station d'amélioration des plantes de grandes cultures en 1931

Type de variété : lignée pure

Les caractères :

Caractéristiques morphologiques :

Compacité de l'épi : compact

Couleur de l'épi : jaune

Hauteur de la plante à la maturité : 100 à 120 cm

Tallage : moyen

Caractères phénologiques :

Cycle végétatif : tardif

Zone d'adaptation : plaines intérieures et hauts plateaux

Alternativité : automne

Caractères physiologiques

Au froid : résistante

A la verse : moyennement résistante

Egrenage : résistante

Tolérance au stress biotique : tolérante (helminthosporiose, rynchosporiose)

Tolérance aux stress abiotiques : gelées- sensible ; A la sécheresse - résistante

Caractères agronomiques

Productivité : rendement en grain optimale : 25 qx/ha

PMG : moyen

**Annexe 2.** Tableau des dates de semis, levée et épiaison des différentes variétés au cours des deux campagnes : 2004/2005 et 2005/2006.

<b>Variétés</b>	<b>Campagne 2004-2005</b>	<b>Campagne 2005-2006</b>
<b>Tichedrett</b>	30/04/05	19/04/06
<b>Soufara 's'</b>	30/04/05	22/04/06
<b>Rahma</b>	27/04/05	18/04/06
<b>Tissa</b>	27/04/05	18/04/06
<b>El Fouara</b>	30/04/05	19/04/06
<b>El Bahia</b>	30/04/05	18/04/06
<b>semis</b>	29/11/04	29/11/05
<b>levée</b>	15/12/04	17/12/05

**Annexe 3. Matrice de corrélation des paramètres physiologiques, biochimiques et agronomique Durant les deux campagnes étudiées 2004/2005 et 2005/2006 pour quelques génotypes d'orge sélectionnés pour la région semi aride de Sétif.**

	NEA1	NEA2	NGEA1	NGEA2	NGMA1	NGMA2	PMGA1	PMGA2	RDTA1	RDTA2	MSTM1	MSTMA2	MSPA1	MSPA2	IRA1	IRA2	HA1	HA2	LBA1	LBA2	LEA1	LEA2	RWCA1	RWCA2	SSTA1	SSTA2	PA1	PA2	POA1	POA2	ISMA1	ISMA2	CHTA1	CHTA2		
NEA1	1.00																																			
NEA2	<b>0.83</b>	1.00																																		
NGEA1	-0.80	<b>-0.87</b>	1.00																																	
NGEA2	-0.80	<b>-0.89</b>	<b>0.97</b>	1.00																																
NGMA1	-0.16	-0.54	0.68	0.61	1.00																															
NGMA2	0.21	0.34	0.12	0.09	0.23	1.00																														
PMGA1	-0.28	-0.49	0.17	0.36	-0.10	-0.48	1.00																													
PMGA2	-0.69	<b>-0.95</b>	0.80	<b>0.85</b>	0.55	-0.38	0.63	1.00																												
RDTA1	-0.55	-0.58	0.80	<b>0.88</b>	0.46	0.44	0.37	0.61	1.00																											
RDTA2	-0.21	-0.31	0.05	0.22	-0.26	-0.53	<b>0.88</b>	0.52	0.25	1.00																										
MSTMA1	-0.25	-0.59	0.77	0.71	<b>0.98</b>	0.32	-0.05	0.59	0.61	-0.21	1.00																									
MSTMA2	-0.23	-0.26	0.05	0.08	-0.18	-0.69	0.43	0.43	-0.09	0.76	-0.19	1.00																								
MSPA1	-0.41	-0.71	<b>0.84</b>	<b>0.86</b>	<b>0.85</b>	0.20	0.28	0.79	0.80	0.18	<b>0.91</b>	0.08	1.00																							
MSPA2	-0.14	-0.15	-0.10	-0.10	-0.27	-0.77	0.30	0.28	-0.31	0.63	-0.31	<b>0.97</b>	-0.11	1.00																						
IRA1	-0.39	-0.32	0.40	0.57	-0.07	0.28	0.64	0.39	<b>0.82</b>	0.56	0.09	0.03	0.41	-0.18	1.00																					
IRA2	0.05	-0.17	0.09	0.24	0.16	0.24	0.53	0.19	0.44	0.13	0.21	-0.52	0.26	-0.63	0.56	1.00																				
HA1	-0.58	-0.72	0.41	0.53	0.02	-0.68	<b>0.85</b>	<b>0.83</b>	0.33	<b>0.86</b>	0.06	0.73	0.38	0.62	0.44	0.09	1.00																			
HA2	-0.42	-0.48	0.42	0.42	0.16	-0.46	0.35	0.63	0.24	0.64	0.18	<b>0.91</b>	0.44	<b>0.82</b>	0.15	-0.50	0.71	1.00																		
LBA1	-0.79	-0.75	<b>0.91</b>	<b>0.91</b>	0.50	0.30	0.17	0.62	<b>0.84</b>	-0.06	0.62	-0.26	0.68	-0.41	0.55	0.35	0.26	0.07	1.00																	
LBA2	-0.64	<b>-0.84</b>	<b>0.94</b>	<b>0.93</b>	<b>0.82</b>	0.17	0.18	0.78	<b>0.76</b>	-0.06	<b>0.88</b>	-0.16	<b>0.89</b>	-0.30	0.33	0.32	0.31	0.21	<b>0.89</b>	1.00																
LEA1	0.63	0.80	-0.71	-0.80	-0.45	-0.01	-0.55	-0.72	-0.71	-0.17	-0.53	0.24	-0.62	0.38	-0.57	-0.70	-0.47	0.05	<b>-0.84</b>	<b>-0.82</b>	1.00															
LEA2	<b>0.86</b>	0.73	-0.60	-0.66	0.00	0.21	-0.47	-0.58	-0.50	-0.22	-0.09	0.05	-0.23	0.13	-0.51	-0.37	-0.53	-0.04	-0.76	-0.55	<b>0.81</b>	1.00														
RWCA1	-0.27	-0.27	0.13	-0.03	0.13	-0.61	-0.30	0.19	-0.46	-0.12	0.03	0.49	-0.08	0.63	-0.70	-0.78	0.18	0.48	-0.16	0.01	0.29	0.05	1.00													
RWCA2	0.44	0.46	-0.50	-0.31	-0.54	0.17	0.48	-0.28	0.10	0.52	-0.47	0.03	-0.24	-0.06	0.57	0.46	0.06	-0.16	-0.33	-0.48	0.11	0.17	-0.78	1.00												
SSTA1	-0.44	-0.61	0.17	0.17	0.03	<b>-0.90</b>	0.46	0.56	-0.24	0.33	-0.04	0.42	0.00	0.48	-0.24	-0.03	0.66	0.29	0.05	0.18	-0.35	-0.49	0.58	-0.40	1.00											
SSTA2	-0.72	-0.31	0.54	0.56	-0.16	0.27	0.05	0.23	0.62	0.17	-0.01	0.14	0.20	0.03	0.61	-0.17	0.23	0.33	0.62	0.29	-0.24	-0.54	-0.09	-0.02	-0.22	1.00										
PA1	-0.31	-0.27	0.60	0.51	0.59	0.70	-0.43	0.08	0.53	-0.68	0.65	-0.74	0.45	-0.79	0.12	0.27	-0.43	-0.40	0.74	0.68	-0.49	-0.30	-0.20	-0.44	-0.33	0.29	1.00									
PA2	0.15	-0.23	-0.09	-0.16	0.33	-0.68	0.02	0.25	-0.54	-0.04	0.18	0.26	0.02	0.38	-0.71	-0.20	0.20	0.16	-0.34	0.04	0.07	0.19	0.67	-0.51	0.70	-0.73	-0.29	1.00								
POA1	-0.47	-0.79	0.76	<b>0.83</b>	0.65	-0.12	0.59	<b>0.92</b>	0.73	0.54	0.71	0.40	<b>0.92</b>	0.20	0.50	0.23	0.70	0.65	0.55	0.75	-0.61	-0.31	-0.02	-0.09	0.23	0.21	0.10	0.10	1.00							
POA2	-0.44	-0.04	0.30	0.38	-0.30	0.48	0.13	0.01	0.64	0.21	-0.13	-0.06	0.10	-0.20	0.79	0.12	0.07	0.07	0.50	0.11	-0.21	-0.42	-0.51	0.38	-0.48	<b>0.89</b>	0.25	<b>-0.95</b>	0.09	1.00						
ISMA1	-0.22	-0.56	0.33	0.23	0.57	-0.60	0.01	0.54	-0.21	-0.03	0.46	0.34	0.34	0.40	-0.56	-0.29	0.35	0.41	0.03	0.39	-0.14	-0.03	0.78	-0.74	0.72	-0.40	-0.05	<b>0.90</b>	0.38	-0.75	1.00					
ISMA2	-0.51	-0.66	0.21	0.29	-0.06	<b>-0.87</b>	0.71	0.66	-0.03	0.58	-0.09	0.48	0.08	0.48	0.08	0.15	<b>0.83</b>	0.36	0.14	0.20	-0.48	-0.61	0.35	-0.14	<b>0.94</b>	-0.08	-0.40	0.50	0.37	-0.26	0.53	1.00				
CHTA1	<b>0.86</b>	<b>0.81</b>	<b>-0.92</b>	<b>-0.84</b>	-0.54	0.05	0.02	-0.70	<b>-0.93</b>	0.02	-0.60	-0.20	-0.64	-0.12	-0.15	0.26	-0.38	-0.53	-0.77	-0.79	0.49	0.55	-0.45	0.70	-0.28	-0.59	-0.48	-0.02	-0.58	-0.23	-0.45	-0.25	1.00			
CHTA2	0.77	0.65	<b>-0.86</b>	<b>-0.90</b>	-0.33	-0.31	-0.27	-0.62	<b>-0.56</b>	-0.24	-0.48	-0.07	-0.69	0.13	-0.75	-0.16	-0.40	-0.39	<b>-0.88</b>	-0.73	0.63	0.62	0.21	0.08	0.13	<b>-0.83</b>	-0.49	0.55	-0.65	-0.73	0.15	-0.04	0.75	1.00		

**A1**, 2004/2005 ; **A2**, 2005/2006 ; RDTA1-RDTA2 rendement A1 et A2, MSTMA1-MSTMA2 biomasse totale à maturité A1 et A2, MSPA1-MSPA2 biomasse de la paille en A1 et A2, IRA1-IRA2 indice de rendement en A1 et A2, HA1-HA2 hauteur en A1 et A2, NEA1-NEA2 nombre d'épis en A1 et A2, NGEA1-NGEA2 nombre de grains par épi en A1 et A2, PMGA1-PMGA2 poids de mille grains en A1 et A2, LBA1-LBA2 longueur des barbes en A1 et A2, LEA1-LEA2 longueur épis en A1 et A2, RWCA1-RWCA2 teneur relative en eau en A1 et A2, SSTA1-SSTA2 sucres solubles en A1 et A2, PA1-PA2 proline en A1 et A2, POA1-POA2 proline en A1 et A2, ISMA1-ISMA2 indice de stabilité membranaire en A1 et A2, CHTA1-CHTA2 chlorophylle totale en A1 et A2, CHAA1-CHAA2 chlorophylle A en A1 et A2, CHBA1-CHBA2 chlorophylle B en A1 et A2

Annexe 4: les primers et auteurs des marqueurs utilisés dans la description biomoléculaires des génotypes d'orge cartographiés sur la population Nure x Tremois.

	<i>GENE</i>	<i>PRIMERS</i>	<i>auteur</i>
1	<i>HvMB5</i>	FWD CAGCCTCAAACCAGCTCTTC REV AAACAACACCCAGGAGCAAC	von Zitzewitz et al. 2005
2	<i>HvMB8</i>	FWD GCCCCTCAACAGAACATTTG REV ACACACGTCATCATGCAACC	Schmitz et al. 2000
3	<i>HvCBF3A</i>	FWD TCCCAGATGATTCTGCTCTG REV GGCTGGATGTAAGGGGTATATG	Choi et al. 2002
4	<i>HvCBF4</i>	FWD ATGGACGTCGCCGACATC REV TTAGCAGTCGAACAAATAGCT	Drenkard et al. 2000.
		NURE FWD ACGAGGAGCAGTGGTTTAGA- TREMOIS FWD ACGAGGAGCAGTGGTTTAGC	Rozen et Skaletsky 1998
5	<i>HvCBF8</i>	FWD CAAGTTGCCGGTCCGCGAC- REV AACAGTTTCCTAATTGAGTGATGG-	Francia et al. 2004
6	<i>HvCBF10B</i>	FWD TGTA TACTACTACTACTCCCTCCGTTC REV TGTGCTCCTTTTTACGGATTG	Tondelli et al. 2006
7	<i>HvCBF12</i>	FWR TGGCAAGCATAAAGGGCTAA NURE_FWR CATAAAGGGCTAATTGCGGTT TREMOIS_REV GGACTTTTGATTTTCTACTCCG	Tondelli et al. 2006
8	<i>WRKY38</i>	FWD GGTTCTTGAGTCGGAGCTACAGCG REV TATGGAACGGAACATTTGAATGACTGG	Marè et al. 2004
9	<i>FRY1</i>	FWD TGTTCTGCCTTCTCTCCATA REV TCTCCTCTCAACCTCTGCATC	Tondelli et al. 2006
10	<i>ICE1</i>	FWD CTGAGCAATGCAAGGATGG REV GACACAGGGTAGTGACATCAGG	Tondelli et al. 2006
11	<i>LOS2</i>	FWD AAGGACCCTACCGCTCAAAC REV GAAGATGGGCGTTGAAGTGATC	Lee et al. 2002
12	<i>HvZCCT</i>	FWD CACCATCGCATGATGCAC-3' REV TCATATGGCGAAGCTGGAG	von Zitzewitz et al. 2005
13	<i>Ppd-H1</i>	FWD AAGAAAGAGAAGGAGGGTGTCC REV CCTTTTCAGAGCTGCGTCTACT	Turner et al., 2005
14	<i>Dhn3</i>	FWD AGGCAACCAAGATCAACACCACCTG REV GCGGAAGTTTTACTGCATCTCCATC	Choi et al. 2000.
15	<i>Dhn7</i>	FRW GAGTACCAGGGACAGCAG REV CGAGCTGGAGCTGGAGCTGC	Choi et al. 2000.
16	<i>HvFT</i>	FWD GCATAATTGCACCAAACCTTCTG REV TGATCCTCAAATACGTTGGAAG	Faure et al. 2007