

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA d'EL-HARRACH)

Thèse

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTORAT EN
SCIENCES AGRONOMIQUES

Thème

Intérêt de l'androgénèse et de la mutagenèse dans l'amélioration de la
production et de la résistance à la strie foliaire chez l'orge
(*Hordeum vulgare* L.)

Par : Ramla Dalila

Soutenue publiquement le 06/11/2017

Devant le Jury

Président	Aidaoui A.	Pr. ENSA Alger
Rapporteur	Mekliche-Hanifi L.	Pr. ENSA Alger
Examineur	Reguieg L.	Pr. ENSA Alger
Examineur	Bouzerzour H	Pr. FAC SNV. UFA Sétif
Examineur	Aissat A.	M.C.A. FAC SVN Blida
Examineur	Benbelkacem A.	Dir Rech INRAA Cne

Année universitaire 2016/2017

Remerciements

Je tiens, en premier lieu, à exprimer mes sincères remerciements au Professeur L. Hanifi-Mekliche, pour avoir accepté d'encadrer ce travail et d'y avoir consacré du temps. Acceptez Madame, ma profonde gratitude pour vos conseils et orientations, votre patience et vos encouragements.

Je remercie vivement Professeur A. Aidaoui pour l'honneur qu'il me fait en présidant le jury de cette thèse.

Mes vifs remerciements s'adressent au Professeur H. Bouzerzour pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'évaluer ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent au Docteur A. Aissat, Maître de conférences, qui dans les années quatre-vingt m'enseigna l'amélioration des plantes et m'initia aux cultures *in-vitro*, toute ma gratitude Monsieur Aissat pour cela et pour l'honneur que vous me faites en acceptant d'évaluer ce travail.

Au Professeur L. Reguieg, j'adresse toute ma reconnaissance et mes remerciements pour l'honneur qu'il me fait d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent au Docteur A. Benbelkacem, Directeur de Recherche à l'INRAA, pour l'aide qu'il m'a apportée pour la réalisation de certains travaux de terrain et pour m'avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent aux responsables des stations de l'ITGC d'El khroub et de Oued Esmar pour le soutien et l'aide apportés lors de la mise en place des essais d'évaluations.

Mes plus vifs remerciements s'adressent également à mes collègues de l'INRAA, à Monsieur M.S. Yakhou pour son aide et son apport considérable dans la réalisation de différentes expérimentations, à Madame H. Matallah pour sa prise en charge de la partie phytopathologie, à Bilek N. pour l'aide apportée dans la réalisation de certains essais sur terrain, à Messieurs M Hamou et A. Hannachi grâce à qui certaines expérimentations sur terrain ont pu être menées et à mes étudiants EL. Azzi, M. Hadibi, Chikr et Tafahi pour leur contribution dans certaines expérimentations.

A mes collègues et amis (e), F. Abed, Z. Azouaou, O. Boulahbal, D. Ziane, F. Ziza M. N. Boufis et Maameri, pour leur soutien et encouragements.

A mon père,
A ma famille,
A Hamza, Yacine et Mehdi,

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
INTRODUCTION GENERALE	3
CHAPITRE I : Revue bibliographique	7
1. Généralités	8
2. La culture de l'orge au plan mondial	9
3. La culture de l'orge en Algérie	11
3.1.Situation	11
3.2. Contraintes auxquelles fait face la culture en Algérie	13
3.2.1. Un environnement caractérisé par divers stress abiotiques	13
3.2.2. Les stress biotiques	15
3.2.3. La contrainte variétale	16
4. Evolution des outils et objectifs de l'amélioration	17
4.1. Période des biotechnologies et apport des outils disponibles	18
4.1.1. Technologie de la culture des tissus	18
✓ la culture <i>in vitro</i> d'embryons matures ou immatures	18
✓ La culture <i>in vitro</i> d'organes	19
✓ La culture de cals	19
✓ La culture de protoplastes	20
4.1.2. La technologie des outils moléculaires	20
✓ Sélection assistée par marqueur	20
✓ Le tilling	21
✓ La transgénèse	22
4.2. Objectifs des programmes d'amélioration	23
CHAPITRE II : L'haplodiploïdisation	25
Résumé	26
Introduction	28
Matériel et Méthodes	31
1. Matériel végétal	31
2. Obtention des lignées haploïdes doublées (HDs)	31
2.1. Conditions de croissances des plants donneurs et récolte des talles	31

2.2. Le prétraitement des épis	32
2.3. La culture d'anthères	32
2.4. Milieux utilisés	32
2.5. Acclimatation et pépinières d'observations des lignées HD ₁	32
3. Résultats et discussion	34
3.1. Bilan général de l'androgenèse en phase <i>in vitro</i>	34
3.2. Acclimatation et pépinières d'observations	38
Conclusion	39

CHAPITRE III : Analyse de l'interaction génotype x environnement

et sélection pour le niveau et la stabilité du rendement en grain au sein d'une collection d'haploïdes doublés (HDs)

Résumé	41
Introduction	43
Matériel et Méthodes	47
1. Matériel végétal	47
2. Méthodes	48
2.1. Dispositif expérimental et environnements	48
2.2. Variable analysé et études statistiques des données	48
3. Résultats et discussion	50
3.1. Analyse de la performance du rendement en grain des génotypes par environnement	50
3.2. Analyse de la stabilité du rendement en grain et performance moyenne des variétés parentales et des lignées HDs	54
3.3. Evaluation du niveau de corrélations des paramètres de stabilité utilisées	61
Conclusion	63
Publication insérée	

CHAPITRE IV : Sélection *in-vitro* en vue d'une résistance à un stress biotique : La strie

foliaire	64
Résumé	65
Introduction	67
Matériel et Méthodes	73
1. Matériel végétal	73

2. Détermination des doses optimales d'irradiation	73
2.1. Système de régénération <i>in vitro</i> et tests de radiosensibilités en phase <i>in-vitro</i>	73
2.1.1. Induction et prolifération des cals	74
2.1.2. Irradiation des cals	74
2.1.3. Effet de la dose d'irradiation sur la croissance du cal	75
2.1.4. Effet de la dose d'irradiation sur la capacité de la régénération <i>in-vitro</i> de plants	75
2.2. Effet de la dose d'irradiation en phase <i>in-vivo</i>	77
2.2.1. Acclimatation des mutants	77
2.2.2. Evaluation de la radiosensibilité sur quelques paramètres mesurés sur les plants mutants en M1	77
3. Sélection <i>in vitro</i> pour la résistance aux éléments toxiques de <i>Pyrenophorammina</i> (isolat virulent 25 AB 15)	77
3.1. Test d'efficacité de la technique de sélection «double couche»	77
3.1.1. Test sur le paramètre «croissance relative du poids frais du cal»	78
3.1.2. Test sur le paramètre « régénération de plants »	79
3.2. Obtention de mutants sélectionnés <i>in-vitro</i> pour la résistance aux éléments toxiques de <i>Pyrenophorammina</i>	80
3.2.1. Callogénèse (induction et maintenance) et irradiation	80
3.2.2. Sélection <i>in vitro</i>	80
3.2.3. Acclimatation et analyse du comportement <i>in-vivo</i> des mutants sélectionnés	82
4. Résultats et discussion	82
4.1. Détermination des doses d'irradiation optimale	82
4.1.1. Tests de radiosensibilités en phase <i>in-vitro</i>	82
4.1.1.1. Influence de l'explant sur l'efficacité de la Callogénèse	82
4.1.1.2. Influence des auxines sur le nombre de plantules régénérées	82
4.1.1.3. Radiosensibilité du cal	83
4.1.1.4. Influence de la dose d'irradiation sur la capacité de régénération	83
4.1.1.5. Doses d'irradiation optimales en phase <i>in vitro</i>	88
4.1.2. Evaluation de la radiosensibilité sur quelques paramètres mesurés sur les plants mutants en M1 (tests <i>in-vivo</i>)	88
4.1.2.1. Analyse du pourcentage de fertilité, de la hauteur des plants et des tiges des mutants issus de la variété Tichedrett	88

4.1.2.2. Analyse du pourcentage de fertilité, de la hauteur des plants et des tiges des mutants issus de la variété Saïda	90
4.1.2.3. Doses d'irradiation optimales en phase <i>in-vivo</i>	92
4.2. Sélection <i>in vitro</i> pour la résistance aux éléments toxiques de <i>Pyrenephoragraminea</i> (isolat virulent 25 AB 15)	92
4.2.1. Test d'efficacité de la technique de sélection «double couche»	92
4.2.1.1. Test sur le paramètre «croissance relative du poids frais du cal»	92
4.2.1.2. Test sur le paramètre «régénération de plantes »	93
4.2.2. Obtention de mutants sélectionnés <i>in vitro</i> pour la résistance aux éléments toxiques de <i>Pyrenephoragraminea</i>	94
4.2.3. Acclimatation et analyse du comportement <i>in-vivo</i> des mutants régénérés sur pression de sélection	97
4.2.3.1. Acclimatation et récolte des graines M2	97
4.2.3.2. Evaluation <i>in-vivo</i> des mutants	97
Conclusion	102
CONCLUSION GENERALE	103
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	106
ANNEXES 125	

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre I

Tableau 1: Données de la production, des superficies récoltées et des rendements moyens en orge pour la période 2000-2014.

Chapitre II

Tableau 1: Bilan général de la production de plantes haploïdes doublées.

Chapitre III

Tableau 1: Liste des géotypes utilisés (3 variétés parentales et 26 lignées haploïdes doublés).

Tableau 2: Description des environnements expérimentaux.

Tableau 3: Analyse de la variance du rendement en grain pour chaque environnement.

Tableau 4: Caractérisation de la qualité agronomique des 5 environnements.

Tableau 5 : Rendement en grain moyen (q/ha) de 29 géotypes d'orge (26 HDs et 3 parents) évalués dans 5 environnements.

Tableau 6 : Analyse de la variance du rendement en grain (q/ha) de 29 géotypes d'orge (26 HDs et 3 parents) évalués dans 5 environnements.

Tableau 7 : Analyse de la variance de Finlay-Wilkinson pour la stabilité du rendement en grain sur cinq environnements.

Tableau 8 : Moyenne des rendements et paramètres de stabilité du rendement en grain de 29 géotypes d'orge (3 parents et 26 HDs).

Tableau 9 : Coefficients de corrélation de Pearson entre les différents concepts, groupes et indices de stabilité phénotypique mesurés par différents modèles d'analyse de l'interaction géotype-environnement d'une population de 29 géotypes d'orge (26 HDs et 3 parents) évalués dans 5 environnements.

Chapitre IV

Tableau 1 : Nombre de plants régénérés par variété.

Tableau 2 : Effet de la dose d'irradiation sur l'inhibition de la croissance du poids frais du cal pour chacune des auxines.

Tableau 3 : Nombre et pourcentage de régénération de plantes pour différentes doses d'irradiation gamma.

Tableau 4 : Analyse de la variance de la hauteur et de la fertilité des plants M1 d'orge (cv. Tichedrett) régénérés à partir de cals irradiés issus d'embryons immatures (maître-brin et plante).

Tableau 5: Moyennes de la hauteur et de la fertilité des plants M1 d'orge (variété Tichedrett) régénérés à partir de cals irradiés issus d'embryons immatures (maître-brin et plante).

Tableau 6: Analyse de la variance de la hauteur et de la fertilité des plants M1 d'orge (variété Saïda) régénérés à partir de cals irradiés issus d'embryons immatures (Maître-brin et plante).

Tableau 7: Moyennes de la hauteur et de la fertilité des plants M1 d'orge (variété Saïda) régénérés à partir de cals irradiés issus d'embryons immatures (maître-brin et plante).

Tableau 8: Croissance du poids frais relatif de cals issus d'embryons immatures de la variété sensible Saïda placé pendant 4 semaines sur double couche avec ou sans éléments toxiques de l'isolat 25AB15 de *P. graminea*.

Tableau 9 : Ségrégation phénotypique dans les populations de plantes M2 sélectionnées in vitro pour la résistance à l'isolat 25AB15 de *Pyrenophoragraminea* via la technique de la double couche (DC) cv. Saïda.

Tableau 10 : Criblage des populations M3 et M4 sélectionnées in vitro pour la résistance à la strie foliaire par le test «sandwich» d'inoculation in vivo de l'isolat 25AB15 de *Pyrenophoragraminea*.

LISTE DES FIGURES

Chapitre I

Figure 1. Fluctuation interannuelle de la production et du rendement des céréales (Blé, Orge, Avoine) en Algérie (2009-2016).

Figure 2. Fluctuation interannuelle de la production et du rendement de l'orge en Algérie (2000-2016). [Source des données: FAOSTAT (2015) et MADRP (2016)]

Chapitre II

Figure 1. Schéma comparatif entre la méthode de sélection classique et l'androgenèse chez les céréales. (Source : Kertesz *et al.*, 1988).

Figure 2. Protocol de production d'HDs par la culture d'anthères : a) Croissance des plantes mères en serre; b) Microspore uni-nucléée tardive (x400, P= pore, N =noyau) ; c) Repère morphologique requis identifié sur la talle (R = distance entre les deux dernières feuilles) ; d) Talles effeuillées et écourtées, e) Extraction des épis de leur gaine ; f) Epis prêts à être soumis au prétraitement; g) Mise en culture des anthères sur le milieu d'induction ; h) Induction de cal ; i) Régénération de plantules androgènes ; j) Développement des vitroplants en chambre de culture ; k) Acclimatation ; l) Développement des vitroplants en serre jusqu'à la maturité.

Chapitre III

Figure 1. Diagramme d'adaptabilité et de stabilité d'Eberhart et Russel (1966) illustrant la réponse de chaque génotype à la variation de l'environnement par la relation entre le coefficient de régression (pente b_i) et le rendement moyen de chaque génotype dans tous les environnements (μ_i). S^2d_i : Variance de la déviation de la régression (non linéarité). μ : Rendement moyen général de tous les essais. Les génotypes en caractères gras sont stables ($S^2d_i=0$). Les barres en trait discontinu délimitent les intervalles de fluctuation de (μ_i) et b_i au seuil de 5% (t-test).

Chapitre IV

Figure 1. Symptômes de la strie foliaire : a) sur le plant ; b) sur feuille de la variété Saïda.

Figure 2. Procédure utilisée pour l'obtention de mutants d'orge *in vitro*.

Figure 3. Test d'efficacité sélective de la technique de la « double couche » avec les cals non irradiés de la variété Saïda en milieu de maintenance. **a)** forte prolifération de cal sur le contrôle 1 (milieu de maintenance). **b)** forte prolifération de cal sur le Contrôle 2 (double couche PDA/milieu de régénération sans mycélium). **c)** Forte inhibition de la prolifération de cal sur le milieu sélectif S (double couche en présence du mycélium de l'isolat virulent 25AB15 de *P. graminea*).

Figure 4. Test d'efficacité sélective de la technique de la « double couche » avec les cals non irradiés de la variété Saïda en milieu de régénération. **a)** plantules et pousses vertes sur le contrôle 1 (milieu de régénération). **b)** plantules régénérées sur le Contrôle 2 (double couche PDA/milieu de régénération sans mycélium). **c)** Inhibition totale de la régénération sur le milieu sélectif S (double couche en présence du mycélium de l'isolat virulent 25AB15 de *P. graminea*).

Figure 5. Cultures en cours de sélection sur milieu de régénération.

Figure 6. Cals issus d'embryons immatures, a) : à partir de la variété Saïda sur milieu d'induction contenant le 2.4 D (3mg/l), b) : à partir de la variété Tichedrett sur milieu d'induction contenant le picloram (5 mg/l).

Figure 7. Plantules vertes régénérées à partir de cals irradiés induits sur le milieu contenant le 2, 4 D (3 mg/l) pour la variété Saïda et picloram (5mg/l) pour Tichedrett.

Figure 8. Régénération à partir de cals irradiés issus de la variété Tichedrett.

Figure 9. Courbe de réponse de la capacité de régénération (% de régénération de plantes) du cal aux différentes doses d'irradiation gamma pour la variété Tichedrett.

Figure 10. Plants M1 à maturité, (a) variété Tichedrett issus de cal irradié avec 0, 5, 10 et 20 Gy et (b) variété Saïda issus de cal irradié avec 8, 10 et 20 Gy.

Figure 11. Réaction des cals irradiés sur le milieu de sélection. **a-cal** blanc, friable proliférant mais sans régénération. **b-** Cal bruni et nécrosé. **c et d-** pousses vertes **e-** vitroplants de Saïda tolérants aux métabolites toxiques de *P. graminea* en croissance sur le milieu de développement prêt pour l'acclimatation en serre.

Figure 12. a) Morphologie de l'épi muté erectoïde (gauche) et parental cv. Saïda (droite) ; b) Extrême réduction de la distance entre les nœuds du rachis chez le mutant (gauche) par rapport à l'épi lâche du parent (droite).

Figure 13. Inoculation et screening des populations de mutants sélectionnés et du parent par l'isolat 25AB15 de *pyrenophoragraminea*, agent de la strie foliaire ; a-b-c) Graines germées infectées via la méthode « sandwich » ; d) Transfert en fertipots ; e) Croissance des plantules inoculées en serre ; f-g-h) Plants M4 sains bien développés et plants M4 malades rabougris ; i) Plants du parent Saïda sans mycélium sains ; j) Plants du parent Saïda infectés avec le mycélium décimés par la strie foliaire.

List des abréviations

CNCC : Centre National de Contrôle et Certifications des Semences et des Plants

COMENA : Commissariat à l'Energie Atomique

DL : dose létale

FAO : Food and Agriculture Organisation of United Nations

Gy :gray

HDs : haploïdes doublés

IGE : Interaction génotype x environnement

INRA : Institut National de le Recherche agronomique

INSID : Institut National des Sols, de l'Irrigation et du Drainage

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural

MS : Murashige et Skoog

OGM : Organisme génétiquement modifié

PDA : gélose dextrosée à la pomme de terre

PGM : Plante génétiquement modifiée

QTL : Quantitative trait loci

SAM : Sélection assistée par marqueurs

TE :Tichedrett × Express

TP :Tichedrett × Plaisant

Résumé

En Algérie, les rendements de la culture d'orge sont instables et de faibles niveaux et ce, en raison des conditions de culture contraignantes et variables. Pour faire face à cette situation, des variétés performantes, qui minimisent les effets de ces contraintes, ayant acquis une résistance aux stress biotiques et abiotiques doivent être développées.

Afin d'accroître l'efficacité des procédures d'obtention de nouvelles variétés, certains outils de biotechnologies doivent être mis à profit et être associés aux méthodes conventionnelles. A cet effet, deux procédures intégrant la technologie de la culture des tissus ont été utilisées en vue de la sélection de nouvelles variétés alliant stabilité et bon niveau de rendement en grain.

La première, l'haplodiploïdisation a été appliquée sur des lignées en ségrégation en F_2 issues de croisements entre la variété locale Tichdrett et deux variétés introduites. Cent quarante-huit (148) plantules vertes ont été régénérées à partir de la culture d'anthères des deux d'hybrides *Tichedrett* \times *Express* (TE) et *Tichedrett* \times *Plaisant* (TP). Soixante-quinze (75) plantules sont arrivées à acclimatation et soixante et une (61) lignées haploïdes doublées (HDs) ont achevé leur acclimatation et donné des grains. Parmi celles-ci, vingt-six (26) lignées (HDs) ainsi que les variétés parentales ont été évaluées pour leur rendement en grain et leur niveau de stabilité dans cinq environnements semi-arides. Les méthodes uniparamétriques ont été utilisées pour estimer la stabilité de chaque génotype. Une seule lignée (HD40) a montré une adaptation spécifique aux environnements défavorables ($b_i < 1$), le reste, soit 28 génotypes, a montré une adaptation générale ($b_i = 1$). Dix (10) génotypes (9 HDs et la variété Express) ont présenté une stabilité à travers les cinq environnements étudiés ($S^2_{di} = 0$, W_i , HV %, CV %, IC % et σ_i^2 de faibles valeurs et R^2 de haute valeur). Parmi celles-ci, huit ont donné des rendements élevés (Express, DH11, DH14, DH15, DH21, DH30, DH39 et HD10). Une neuvième lignée (DH5) a donné un rendement inférieur à la moyenne générale et montre une mauvaise adaptation à l'ensemble des environnements testés. La dixième lignée stable, (HD40), semble spécifiquement adaptée aux environnements défavorables. Les lignées DH26, DH65 et DH2 ont donné les meilleures performances du rendement en grain. Elles montrent une adaptation aux cinq environnements testés ($b_i = 1$ et $\mu_i > \mu$). Bien qu'instables, deux de ces lignées, DH26 et DH2, montrent plus de stabilité que le parent Tichedrett.

La deuxième, la radio mutagénèse *in-vitro* associée à la sélection *in-vitro* a été appliquée sur deux variétés locales Saïda et Tichedrett, sensibles à la strie foliaire, en vue de la sélection pour la résistance à cette maladie. Le système de régénération *in-vitro* appliqué

sur les deux variétés à partir d'embryons immatures a permis l'induction de cals et la régénération de plantules. Les deux doses d'irradiation 15 et 20 Gy appliquées sur cals induisent une stérilité totale des plantules régénérées, ces deux doses ne peuvent être utilisées en système *in-vitro*. Deux doses d'irradiation optimales ont été déterminées, 5 et 10 Gy, elles permettent d'induire de la variabilité et des mutations. Le système de radio mutagenèse *in-vitro* associé à la sélection *in-vitro*, utilisé a permis l'obtention de cinq mutants à partir de la variété Saïda, les foyers verts obtenus à partir de la variété Tichedrett n'ont pas évolué en plantules. Les tests d'inoculations *in-vivo* réalisés, à partir de la technique sandwich avec l'isolat 25AB15, sur les cinq mutants Saïda en M3 et M4 ont mis en évidence l'efficacité du système utilisé. Un taux de 16,9% de plants indemnes de maladie a été recensé sur la population des mutants en M3 contre 3% de plants indemnes pour la variété Saïda. En M4, le taux de plants indemne s'élève à 54,9% contre 8,5 % pour la variété Saïda. Ceci indique un meilleur comportement des mutants vis-à-vis de la maladie en comparaison avec le parent Saïda.

Mots clefs : Orge, zones semi-arides, stabilité, lignées haploïdes doublées, radio mutagenèse *in-vitro*, sélection *in-vitro*, mutants, *strie foliaire*

INTRODUCTION

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est l'une des plus anciennes cultures, elle a joué un rôle dans le développement de l'agriculture, des civilisations et des différentes sciences de l'agronomie. Elle est cultivée et utilisée à travers le monde entier (Ullrich, 2011).

Cette culture a vu, au cours des dernières décennies, sa productivité augmentée à un taux variable d'environ 1 à 2% dans "les pays du Nord" et ce, en raison, des progrès de l'amélioration génétique en matière de cultivars plus productifs, du contrôle plus efficace contre les maladies et insectes, de l'amélioration des systèmes de fertilisation et de l'amélioration des techniques de récolte et de stockage (Fried, 2011).

En Algérie, elle est la deuxième céréale cultivée après le blé dur. Cette culture est essentiellement destinée à l'élevage ovin, la consommation à destination humaine demeure en effet faible voire négligeable (Djermoun, 2009).

Sa zone de culture se situe dans les étages bioclimatiques semi-arides à arides (Ait-Abdallah *et al.*, 2010) aux conditions sévères et défavorables, caractérisées par des hivers froids, une pluviosité faible et irrégulière (entre **150** et **500** mm), des hautes températures, des vents chauds (sirocco) en fin de cycle et des gelées printanières tardives. Ces conditions ont une influence négative sur le niveau et la stabilité des rendements qui oscillent entre 11,06 q/ha en années sèches et 27 q/ha en années pluvieuses pour la période allant de 2000 à 2013 (MADR 2013).

L'impact de ces conditions sévères et les stress qu'elles impliquent sur cette culture sont aggravés par une gamme variétale annuellement cultivée peu diversifiée. En effet, en plus du nombre de variétés homologuées et autorisées à la production relativement faible (19 variétés en 2004 et 28 en 2015), six variétés seulement sont utilisées dans le circuit de production, parmi celles-ci les deux variétés locales, Saïda 183 et Tichedret, issues de la sélection dans les populations locales, couvrent l'essentiel des superficies qu'occupe cette espèce (Benmahammed, 2005 ; Ceccarelli *et al.*, 2011).

Pendant longtemps, l'effort national d'amélioration s'est centré sur le rendement en grain comme critère de sélection (Kadi, 2012). Cette stratégie est conditionnée par des environnements favorables et stables, des résultats limités sont obtenus dans des

environnements contraignants (Ceccarelli, 1996). Additionnellement, les variétés issues des programmes d'amélioration "des pays du Nord", connues pour leurs hautes performances, ne sont pas épargnées dans de tels environnements, celles-ci montrent une grande diminution des performances (Ceccarelli *et al.*, 1998) rendant leur introduction peu efficace.

Face à cette situation, les améliorateurs ont considéré que la question du rendement ne devait pas être abordée à travers son seul niveau, mais devait également être considérée à travers sa stabilité (Bouzerzour *et al.*, 1996 ; Bouzerzour *et al.*, 2002 ; Benmahammed *et al.*, 2010 ; Kadi *et al.*, 2010 ; Hanifi-Mekliche *et al.*, 2011 ; Jalata 2011; Menad *et al.*, 2011 ; Jalata 2012 ; Mohammadi *et al.*, 2012 ; El- Hashash et El-Absy, 2013. Hanifi-Mekliche *et al.*, 2013 et Feriani *et al.*, 2016). L'amélioration de la stabilité des rendements est donc devenue un important objectif pour les milieux variables et défavorables. Cet objectif est alors recherché à partir de la construction de variétés ayant la capacité de minimiser les effets des interactions génotype x environnement, à l'origine de leur comportement instable, par l'acquisition de la résistance aux stress biotiques et la tolérance aux stress abiotiques (Zahour, 1992). En 1988 déjà, Becker et Léon considéraient que les réactions différentielles des génotypes aux différents stress environnementaux, telles que la sécheresse et les maladies, expliquaient en partie les interactions et par conséquent, l'amélioration pour la résistance à ces stress est d'une grande importance pour l'amélioration de la stabilité des rendements.

En outre, l'amélioration du potentiel de rendement des orges reste tributaire de deux conditions liées aux particularités des environnements contraignants. En effet, les programmes d'amélioration et de sélection en milieux défavorables et variables doivent être menés en assurant l'utilisation d'un germoplasme local et la mise en œuvre du processus de sélection dans l'environnement même pour lesquels les nouvelles obtentions sont destinées (Caccarelli, 1996 ; Ceccarrelli *et al.*, 1998 ; Ceccarrelli et Grando, 2000 ; Ceccarrelli *et al.*, 2004)

Par ailleurs, depuis les années 70, l'effort national pour l'amélioration génétique s'est principalement appuyé sur les procédés de sélection classique, longs et fastidieux comparativement à certains outils de biotechnologies végétales. En effet, de nouveaux outils sont aujourd'hui disponibles. Ils occupent une place de plus en plus importante dans les programmes d'amélioration des pays du nord, en raison des possibilités d'investigations qu'ils offrent et de la performance des résultats qu'ils permettent en matière de raccourcissement des

cycles de sélection (haplodiploïdisation), en matière de l'efficacité de création de nouvelles variabilités, de l'efficacité des procédés de sélection, en matière d'analyses moléculaires et d'identifications de gènes d'intérêts et de résistances (radio mutagenèse *in-vitro*, sélection *in vitro*, sélection assistée par marqueurs, etc.) (Chawla, 2002 ; Planchenault, 2012). Plus encore, ces outils de biotechnologies, par leur puissance et leur précision ont permis à l'amélioration de s'engager vers des objectifs sans précédents tels que la biofortification nutritionnelle, le remodelage de l'architecture des plantes pour l'augmentation de l'efficacité photosynthétique etc. (Varoquaux et Pelletier, 2002 ; Baulcombe *et al.*, 2009 ; Henard et Ricroch, 2014 ; Crenn-Brulon *et al.*, 2014).

Il est important de mettre à profit ces avancées et de développer l'utilisation de tels outils en les intégrant aux méthodes classiques. Ceci permettra d'accroître l'efficacité des procédures d'obtention de nouvelles ressources recherchées pour les zones défavorables et variables : des génotypes à meilleurs niveau de stabilité et de rendement.

C'est dans cette perspective que s'inscrit le présent travail, il vise l'augmentation de la stabilité et du niveau du rendement à partir des deux variétés locales d'orge, Saïda et Tichedrett, à travers :

- la sélection de nouveaux génotypes à meilleur niveau de stabilité et de rendement au sein d'une population d'haploïdes doublés.
- la sélection de mutants d'orge résistants à un stress biotique, la strie foliaire, à partir de la radiomutagenèse *in vitro* associée à la sélection *in vitro* en vue d'un meilleur niveau de stabilité et de rendement.

La stratégie mise en œuvre s'articule autour de l'exploitation et de l'évaluation de deux types de variabilités, une variabilité induite par hybridation inter-variétale (entre une variété locale et deux introduites) et une variabilité induite par radiomutagenèse *in vitro* (à partir des deux variétés locales). L'exploitation de celles-ci est réalisée respectivement à l'aide de l'haplodiploïdisation et de la sélection *in-vitro*. L'évaluation du matériel végétal obtenu est réalisée au champ et/ou en serre.

Les thématiques suivantes ont été développées :

- L'haplodiploïdisation pour la fixation rapide, en une seule génération, de la variabilité générée par croisements entre variétés et l'obtention de lignées pures.

- L'analyse de l'interaction Génotype x Environnement et sélection pour le niveau et la stabilité du rendement en grain au sein d'une population d'haploïdes doublés (HDs).
- La sélection *in-vitro* pour la résistance à un stress biotique : la strie foliaire à partir d'un système de mutagenèse *in-vitro*.

CHAPITRE I :
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités

L'orge fait partie d'un des groupes le plus important économiquement, les Triticeae, tribu qui appartient à la famille des Poaceae (Von Bothmer et Komatsuda, 2011). De même que pour l'ensemble des espèces de cette tribu, l'orge se caractérise par des épis aux fleurs sessiles et des chromosomes de grandes tailles, reflétant un grand génome, dont le nombre de base $x = 7$. Le genre *Hordeum*, retrouvé dans toutes les zones tempérées, confère à l'orge un caractère qui lui est spécifique : des épillets uniflores groupés par 3 alternativement à chaque rang du rachis. L'ancêtre sauvage de l'orge cultivé est aujourd'hui unanimement reconnu comme étant *Hordeum spontaneum*, orge à 2 rangs. Selon Meunissier (1926) " le centre géographique de l'orge sauvage comprend le nord de l'Afrique, le Maroc, l'Abyssinie, l'Asie mineure, le nord de l'Afghanistan et la Transcaucasie". Plus tard, le centre de diversité est localisé, dans le croissant fertile par Harlan et Zohary (1966), au Moyen Orient particulièrement en Palestine et en Jordanie par Von Bothmer and Komatsuda (2011), alors que les derniers travaux attestent que cet ancêtre serait natif d'une plus vaste région de l'Eurasie comprenant les régions délimitées par les deux grands fleuves, Tigre-Didjla et l'Euphrate-El fourat jusqu' au fleuve Yangtze en Chine.

L'orge sauvage et l'orge cultivée forment, au sein de l'espèce *Hordeum vulgare*, deux sous-espèces : *Hordeum. vulgare subsp. vulgare* et *Hordeum. vulgare subsp. spontaneum* (Bothmer et Komatsuda, 2011). La théorie selon, laquelle, la domestication de l'orge serait le résultat d'un seul évènement, est abandonnée en faveur de deux évènements indépendants séparés dans le temps et dans l'espace. En effet, à l'heure actuelle, les preuves archéologiques et génétiques indiquent que l'orge a été domestiquée indépendamment dans deux régions, le Croissant Fertile au Proche Orient et, entre 1 500 à 3 000 kilomètres à l'est, dans le vaste plateau tibétain. Le premier évènement, aurait eu lieu dans la région Sud-Ouest de l'Asie au cours de la période pré-poterie néolithique il y a environ 10500 années. Les preuves de la domestication du Tibet sont, à ce jour, principalement génétique (<http://archaeology.about.com/od/domestications/g/barley.htm>). Durant ce processus de domestication, l'orge a graduellement accumulé les caractères qui facilitaient sa production agricole à savoir, le rachis non fragile, l'épi à six rangs, le caryopse nu, la réduction de la dormance et de la vernalisation, l'insensibilité à la photopériode et la cléistogamie (Bothmer et Komatsuda, 2011).

2. La culture de l'orge au plan mondial

Au cours de ces quinze dernières années (2000 – 2014), la production mondiale d'orge a varié entre 123 Mt à 154 Mt, la moyenne étant estimée à 140 Mt (Tableau 1). Toujours pour cette même période, la production moyenne des dix premiers producteurs au plan mondial a varié de 16,9 Mt, quantité produite par la fédération de Russie qui occupe la première place, à 4,9 Mt, production des Etats-Unis d'Amérique qui vient à la dixième place (Tableau 1). Le deuxième, troisième et quatrième producteurs sont, l'Allemagne, la France et le Canada avec une production moyenne respective de 11,3, 10,6 et 10 Mt. Ces productions correspondent à des superficies récoltées qui s'étendent respectivement de 8,5, 1,86, 1,67, 3,27 et 1,41 M ha pour la Fédération de Russie, l'Allemagne, la France, le Canada et les USA. En comparaison, les productions enregistrées par les pays de l'Afrique du Nord sont faibles, elles varient de 0,001 Mt à 1,9 Mt respectivement pour le Sahara Occidental et le Maroc, pour des surfaces respectives récoltées de 0,002 à 2,02 M ha. Pour les pays les moins développés (liste selon FAO, <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/F>), les productions de quelques pays pris en exemple sont encore plus faibles, elles ne dépassent pas les 0,5Mt pour des superficies récoltées inférieures à 0,5 Mha (tableau 1). Le rendement moyen de l'Afrique du Nord (1,09 t/Ha) est pratiquement équivalent à celui des pays les moins développés (1,17) alors que les rendements moyens de la Fédération de Russie, de l'Union Européenne et de l'Amérique du nord sont respectivement et quasiment équivalents au double (1,98) au quadruple (4,12) et au triple (3,32) du rendement de l'Afrique du Nord. Les exportations de l'orge au plan mondial ont atteint 25 Mt en 2011, 28 Mt en 2012 et 31 Mt en 2013. Les deux premiers pays exportateurs de l'orge, pour ces mêmes périodes, sont respectivement, l'Australie et la France avec 4 Mt chacun, l'Australie et la France avec 5 et 4 Mt, puis la France et l'Australie avec 6 et 5 Mt.

Tableau 1 : Données de la production, des superficies récoltées et des rendements moyens en orge pour la période 2000-2014.

Années	Production mondiale (Mt)		Pays	Superficies récoltées ^a (MHa)	Production moyenne ^a (Mt)		Regroupement de pays	Rendement moyen ^a (T/Ha)
2000	133	P b A N	Algérie	0,76	1,07			1,31
2001	144		Egypte	0,07	0,13			2,04
2002	136		Tunisie	0,38	0,42			1,09
2003	142		Libye	0,19	0,94			0,49
2004	153		Sahara Occidental	0,002	0,001			0,68
2005	138		Maroc	2,07	1,90			0,92
2006	139							Afrique du Nord
2007	134							
2008	154							
2009	151							
2010	123	P^c M D	Afghanistan	0,23	0,34			1,43
2011	132		Népal	0,27	0,30			1,10
2012	132		Érythrée	0,46	0,43			0,92
2013	143						Pays les moins développés	1,17
2014	146							
Moyenne	140					Rang		
			Fédération de Russie	8,50	16,9	1	Fédération de Russie	1,98
			Allemagne	1,86	11,3	2		
			France	1,67	10,6	3	Union Européenne	4,12
			Canada	3,27	10	4		
			Ukraine	4,08	9,1	5	Amérique du Nord	3,32
			Espagne	3,04	8,5	6		
			Turquie	3,23	7,8	7		
			Australie	4,10	7,6	8		
			Royaume-Uni	1,04	6	9		
			États-Unis d'Amérique	1,41	4,9	10		

a: Moyenne calculée sur quinze années ; **b** : Pays d'Afrique du Nord ; **c** : Exemple de Pays les moins développés. Tableau élaboré à partir de données FAO (<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/F>).

3. La culture de l'orge en Algérie

3.1. Situation

En Algérie, les besoins annuels en céréales (blé, orge et avoine) sont estimés à 80 Mq/an, avec une production moyenne de 44,3 Mq/an, un rendement moyen de 14 q/ha et une superficie moyenne emblavée de 3 Mh/ an pour la période allant de 2009-2016. Production et rendement en céréales se caractérisent par une grande fluctuation interannuelle (Figure 1).

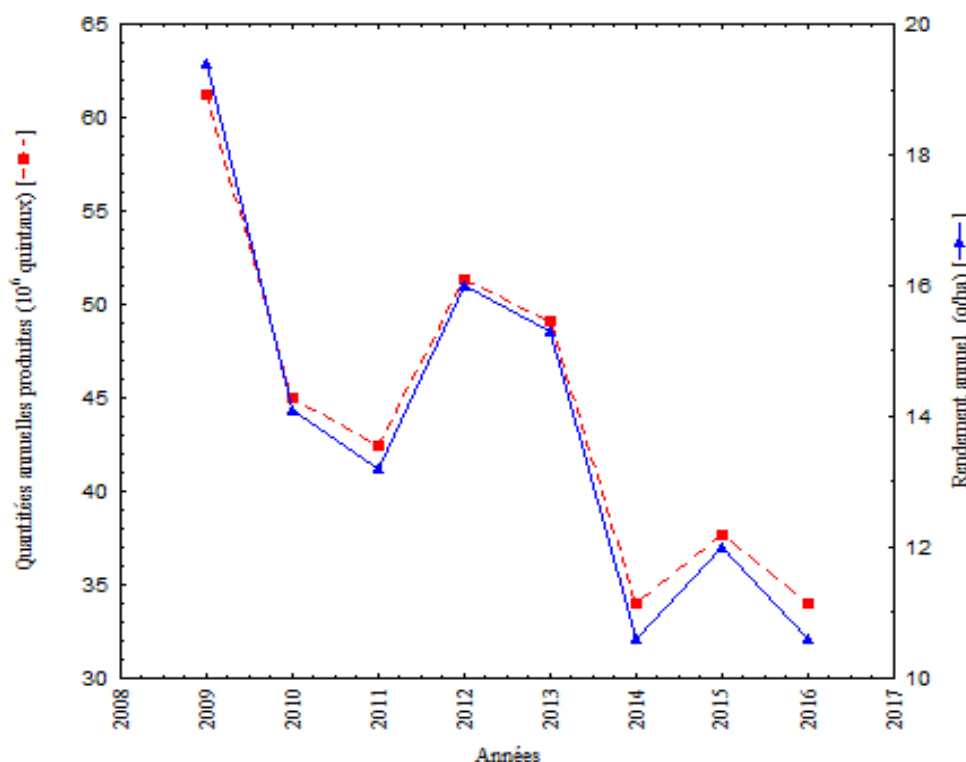


Figure 1. Fluctuation interannuelle de la production et du rendement des céréales (Blé, Orge, Avoine) en Algérie (2009-2016).

L'orge est la deuxième céréale cultivée après le blé dur avec une superficie occupée moyenne, pour la période 2000 – 2013, de 0,93 Mha/an contre 1,27 Mha/an pour le blé dur et 0,66 Mha/an pour le blé tendre (MADR, 2013). La moyenne de la superficie récoltée au cours des vingt-sept dernières années (1990-2016) est de 0,8 Mha/an (MADR, 2016). La production moyenne pour cette même période est de 10 Mq/an. Celle-ci se caractérise par de faibles niveaux et une grande fluctuation interannuelle, ainsi le plus petit niveau de production (1,6 Mq) a été enregistré en 2000 et un pic de production (22 Mq) en 2009. La tendance à la

fluctuation et à la faiblesse des niveaux de production de l'orge se poursuit au cours de ces dernières années (Figure 2). Le rendement moyen des vingt-sept dernières années, 1990-2016, est estimé à 11,4 q/ha. Les rendements annuels se caractérisent également par la faiblesse et l'instabilité de leurs niveaux, ainsi et en exemple, ils varient entre moins de 6,5 q/ha en 1993, niveau du rendement le plus faible, à plus de 18 q/ha en 2009 qui représente le plus haut niveau (Figure 2).

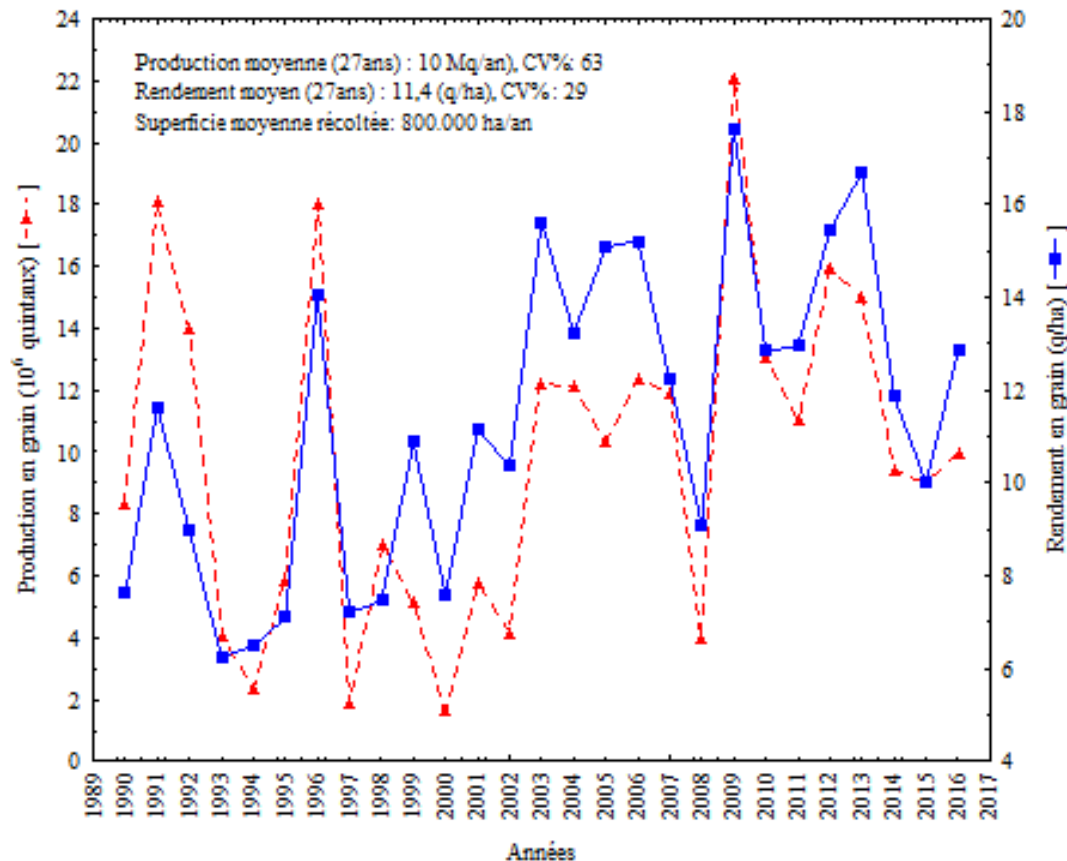


Figure 2. Fluctuation interannuelle de la production et du rendement de l'orge en Algérie (2000-2016). [Source des données: FAOSTAT (2015) et MADRP (2016)]

Parmi les pays d'Afrique du Nord, l'Algérie occupe la 2^{ème} place après le Maroc en matière de superficies récoltées et de production et la 2^{ème} place après l'Egypte en matière de niveau du rendement (voir tableau 1, page 10). Sur le plan des échanges commerciaux, l'Algérie représente un pays importateur d'orge. Ainsi en 2012, l'importation de l'orge s'est élevée à 401 781 de tonnes, pour une valeur d'environ 114 millions USD et plaçant l'Algérie à la 11^{ème} place des pays importateurs. En 2013, une augmentation est enregistrée avec une quantité

importée de 514 798 de tonnes pour une valeur avoisinant les 152 millions USD et occupant la 12^{ème} place d'importation mondiale pour cette culture (à partir de données FAO/FAOSTAT : <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/F>)

3.2. Contraintes auxquelles fait face la culture en Algérie

3.2.1. Un environnement caractérisé par divers stress abiotiques

Sous l'influence conjuguée de la mer, du relief et de l'altitude, l'Algérie, se caractérise par un climat méditerranéen extra- tropical tempéré (Nadjaroui 2003). Celui-ci se distingue par de longues périodes de sécheresse (Sahnoune *et al.*, 2013) auxquelles s'ajoutent celles des périodes estivales qui s'étalent de trois à quatre mois sur le littoral, de cinq à six mois au niveau des hautes plaines et de plus de six mois au niveau de l'Atlas Saharien (Nadjaroui, 2003).

Cinq étages bioclimatiques sont définis, l'étage Saharien représente 89,43 % de la superficie (**S**) du pays et ne reçoit pas plus de 100 mm de précipitations (**P**) par an. Le reste de la superficie, se partage entre les étages humides (**S** : 0,32 % ; $p > 900\text{mm/an}$), sub- humide (**S** : 1,42 % ; **P** : 600-900mm/ans), semi-aride (**S** : 4,12 % ; **P** : 300-600mm/ans) et aride (**S** : 4,71 % ; **P** : 100-300mm/ans) (Derouiche, 2007).

La superficie agricole totale ne représente que 3 % de la superficie totale du pays (FAO, 2005) ; 94% de la superficie agricole utile est occupée par la céréaliculture. Cette sole se situe principalement en zone semi-aride, entre les isohyètes 300 et 600 mm, où elle est menée exclusivement en régime pluvial (Smadhi et Zella, 2009). Trente-cinq (%) de cette superficie est consacrée à la culture d'orge qui est installée dans les zones les plus défavorables, là où les précipitations varient entre 250 et 450 mm (Menad *et al.*, 2011). A ce propos, bien que cette culture soit connue pour sa résistance à la sécheresse et bien que ces besoins en eau soient dépendants des variétés, des conditions climatiques et de l'objectif du rendement à atteindre, une quantité d'eau comprise entre 390 et 430 mm est nécessaire aux cultures pour atteindre un niveau de rendement optimal (http://www.fellah-trade.com/ressources/pdf/orge_grain.pdf http://www.doc-developpement-durable.org/file/Culture-plantes-alimentaires/FICHES_PLANTES/ble-cereales/barley.pdf)

Dans un tel environnement, la culture céréalière est fortement compromise en raison des effets combinés des contraintes climatiques caractérisées par :

- un stress hydrique, lié à l'irrégularité de la quantité et de la distribution des précipitations (Mekliche *et al.*, 2011),
- de longues périodes de sécheresse (Sahnoune *et al.*, 2013),
- des températures hivernales basses, des gelées printanières et de hautes températures de fin de cycle (Chenafi, 2006 ; Benmahammed *et al.*, 2010),
- une contrainte liée à la salinité des sols qui touche 3,2 millions d'hectares de terre.

Les stress abiotiques d'origine climatique, hautes et basses températures, et le manque d'eau, affectent fortement le niveau des rendements. La sécheresse est la contrainte la plus limitante, elle impacte négativement le rendement de la plupart des espèces cultivées en région aride, semi-aride et même en région humide pouvant subir un manque d'eau non structurel. Lors de températures non optimales, la productivité est considérablement affectée (Verheul *et al.*, 1996), un stress thermique pendant la floraison induit la stérilité du pollen et une diminution du nombre de grains. Les hautes températures induisent des effets négatifs sur le rendement et beaucoup de cultivars élites montrent une incapacité à survivre au froid (Larcher, 1995 *in* Phi Bang, 2013). De nouvelles obtentions d'espèces stratégiques telles que l'orge, issues de longues années de sélection, se sont révélées très sensibles aux gelées (Bouzerzour *et al.*, 2002) nécessitant le retrait du système de production de plusieurs d'entre elles.

Le stress salin se manifeste au niveau des régions arides et semi-arides, les conditions qui caractérisent ces écosystèmes, faibles et irrégulières précipitations associées aux importantes évapotranspirations, sont en effet à l'origine de l'accumulation de sels dans les sols de ces régions (Hayek et Abdelly, 2004). Ce stress constitue ainsi un facteur supplémentaire, limitant la productivité des plantes et le rendement des cultures dans les environnements semi-arides et arides (Baatour *et al.*, 2004). En Algérie, bien qu'il n'y ait pas de recensement exact, environ plus de 20 % des terres irriguées sont affectées par cette contrainte (INSID, 2008). Ces terres sont, essentiellement localisées à l'Ouest du pays sur les plaines et les vallées (le périmètre de la Mina, Cheliff, Habra, Sig et Maghnia) ; au niveau des Hautes plaines de l'Est (le Constantinois, Sétif, Bordj Bou Arreridj, Oum El Bouaghi), aux

abords des Chotts et des Sebkhass (Chott El Chergui, Chott, Gharbi, Chott Hodna, Chott El Meghir, Sebkhass d'Oran) et dans le Grand Sud (les oasis, le long des Oueds) (INSID, 2008).

De plus, en raison de sa position géographique et de ses caractéristiques climatiques, l'Algérie est vulnérable aux changements climatiques. Ainsi, plus de perturbations spatiales et temporelles des précipitations sont à craindre en raison de ces changements. A ces perturbations, s'ajoute une augmentation des températures, qui est attendue à hauteur de 1°C d'ici 2020 et de 2°C d'ici 2050 (Sahnoune *et al.*, 2013). L'aggravation de ces conditions climatiques aura plus d'impact négatif sur l'état des céréales et impliquera une aggravation du faible niveau et de l'instabilité des rendements.

3.2.2. Les stress biotiques

Les stress biotiques sont à l'origine de pertes moyennes de rendement dans le monde pouvant s'élever jusqu'à 30 % (Friedt, 2011).

Cent vingt-cinq pathogènes et quatre-vingt maladies sont répertoriés sur la culture d'orge respectivement aux USA et au Canada. Sur ce nombre, seule une poignée cause annuellement d'importantes pertes sur le plan économique. Champignons, virus, nématodes et bactéries représentent les quatre plus importants groupes de pathogènes. La première place étant occupée par les champignons en raison de leur expansion et de l'ampleur des effets qu'ils occasionnent sur les plantes (Timothy et Steffenson, 2011). Ainsi, le "*Fusarium head blight (FHB)*" peut provoquer sur les cultures d'orge une perte de rendement dépassant les 40% (Perkowski *et al.*, 1995). La "*Rouille des feuilles (Puccinia hordei)*" induit, en conditions expérimentales, une réduction du rendement variant avec le niveau du pathogène de 31,5 à 36,5%, les auteurs de ces mêmes expérimentations, Ochoa et Parlevliet (2007), ont également conclu que des niveaux importants de résistance étaient nécessaires pour prévenir des dommages importants de rendements. Ainsi, l'amélioration de la résistance de l'orge aux maladies est un objectif important à l'échelle mondiale et les programmes construits autour de cet objectif iront en s'intensifiant (Friedt, 2011).

En Algérie, les recherches menées ces dernières années mettent en évidence le risque de développement épidémique de certaines maladies cryptogamiques dans certaines régions céréalières (Oufroukh *et al.*, 2011). Sur l'orge, la strie foliaire causée par l'agent pathogène "*Pyrenophora graminea*", est la maladie la plus importante en incidence occasionnant d'importantes réductions des rendements (Sayoud *et al.*, 1999 ; Benbelkacem *et al.*, 2000a ; Aouali et Douici-Khalfi 2013). Les variétés locales, Saïda et Tichedrett montrent une grande sensibilité à cette maladie (Benbelkacem *et al.*, 2000 a et b ; Benslimane, 2002) et bien que l'utilisation de variétés résistantes reste le moyen de lutte le plus efficace et rentable (Bulgarelli *et al.*, 2004), peu de sources de résistances sont rapportées au niveau maghrébin (Sayoud *et al.*, 1999, Aouali et Douci-Khalfi, 2013).

3.2.3. La contrainte variétale

L'impact des conditions de culture sévères et des différents stress est aggravé par une gamme variétale annuellement cultivée peu diversifiée. En 2004, dix-neuf (19) variétés sont autorisées à la production et à la commercialisation (Jo, 2004), en 2015 ce nombre s'est élevé, le catalogue variétal compte vingt-huit (28) variétés homologuées et autorisées à la production (CNCC, 2015). Selon Ait-Abdallah *et al.*, 2010, seules six variétés sont utilisées dans le circuit de production, cinq sont recommandées à la production et dix ont été retirées du circuit. La gamme variétale autorisée à la production repose donc sur quatorze (**14**) variétés (Annexe 1). Celle-ci comprend dix variétés introduites et quatre variétés issues de la sélection nationale (Annexe 1). Trois de ces variétés, Saïda 183, Tichedrett et El Bahia sont constituées de matériel génétique d'origine locale. Les deux variétés locales, Saïda 183 et Tichedrett, demeurent très largement utilisées et couvrent plus de la majeure partie de la sole réservée à cette espèce (Ceccarelli *et al.*, 2011). Elles sont très appréciées des agriculteurs, pour leur bonne adaptation aux conditions de faibles pluviométries, en dépit de leurs faibles potentiels de production, de leurs sensibilités au froid et aux maladies. Si la non-adoption, par les agriculteurs, des variétés introduites peut s'expliquer, à moindre importance, par une faiblesse du système de vulgarisation, elle demeure essentiellement liée à leur faible potentiel d'adaptation aux conditions sévères et défavorables de production. En effet, l'augmentation de la productivité au niveau national passe obligatoirement par la diversification et la mise à la disposition des paysans de ces zones défavorables, de nouvelles ressources caractérisées par une adaptation, une stabilité et un gain génétique. Il est établi que l'obtention de telles variétés

est conditionnée, pour les environnements défavorables, par l'utilisation d'un germoplasme local et par la mise en œuvre du processus de sélection dans l'environnement même pour lesquelles ces nouvelles obtentions sont destinées (Ceccarelli *et al.*, 1998; Ceccarelli *et al.*, 2004).

4. Evolution des outils et objectifs de l'amélioration

L'amélioration génétique a de tout temps, que cela soit de façon inconsciente ou consciente, été menée pour satisfaire aux besoins de l'homme. En 2011, Gallais définit l'amélioration génétique comme "la science ou l'art de la création de populations homogènes, appelées variétés" et qui "correspond à l'ensemble des opérations qui permettent de passer d'un groupe d'individus, n'ayant pas certaines caractéristiques au niveau recherché, à un groupe reproductible, la variété, apportant un progrès sur certains caractères". Deux conditions président à sa réalisation : l'existence d'une variabilité ainsi que son maintien (hybridations et mutations), et la capacité de détecter et de promouvoir la reproduction de l'individu recherché (Planchenault, 2012).

Trois grands outils sont aujourd'hui disponibles et utilisés en amélioration génétique des plantes : la sélection au sens strict **(1)** qui est combinée aux systèmes de reproduction **(2)** (la panmixie, l'hybridation, la consanguinité et la multiplication végétative) et aux biotechnologies végétales **(3)** dont certaines permettent, *la création d'une variabilité* (l'hybridation interspécifique, la polyploïdie, la mutagenèse, la transgénèse) et d'autres, *une meilleure exploitation de la variabilité* (haplodiploïdisation, sélection génomique, tilling) (Gallais, 2013).

L'évolution des techniques et outils d'amélioration génétique, peut, schématiquement, être représentée par trois grandes périodes, la période préscientifique, la période scientifique et la période des biotechnologies. Celles-ci n'ont toutefois pas été limitées dans le temps et les outils développés au cours de ces périodes ont toutes leur place et se complètent : ceux d'une période restent utilisés au cours de la suivante, laquelle ajoute d'autres outils qui se combinent aux premiers (Planchenault, 2012).

4.1. Période des biotechnologies et apport des outils disponibles

Le développement des outils de biotechnologies végétales a permis de repousser des barrières biologiques, d'agir avec plus de précisions et d'efficacités pour l'acquisition de certains caractères recherchés, d'intervenir sur des caractères considérés pendant longtemps inaccessibles (rendements, adaptation), d'optimiser la sélection, et enfin, d'obtenir des plantes qui répondent de mieux en mieux aux diverses contraintes et aux besoins de l'homme. Ces biotechnologies font appel à deux types de technologies :

(1) **la technologie de la culture des tissus** qui permet des essais en grand nombre, la gestion et l'évaluation d'un grand nombre d'individus dans un espace réduit, contrôlé et soustrait des contraintes environnementales

(2) **la technologie des outils moléculaires ou "molecular breeding"** qui permet la manipulation détaillée des gènes (Chawla, 2002 ; Planchenault, 2012).

4.1.1. Technologie de la culture des tissus

Appliquée à une grande variété d'espèces végétales, **la culture de tissus** fait référence à la culture *in vitro* de tous types de cultures, **plantes, graines, embryons, cellules, protoplastes, organes (méristème, pousses, apex, bourgeon, racine, anthères, etc.)** sur milieu nutritif, en conditions aseptiques et contrôlées. Cette procédure a atteint un tel niveau de développement que n'importe quelle espèce peut être utilisée et régénérée. Son fondement, relève, de la capacité qu'ont les cellules végétales différenciées à passer à un état méristématique dédifférencié puis, à se différencier à nouveau et former une plante entière (Zryd, 1988).

Ces cultures de tissus, offrent de vastes champs d'investigations et de manipulations, elles peuvent être orientées vers de multiples utilisations et vers des objectifs très variés d'amélioration des cultures végétales, ainsi les exemples suivants peuvent être donnés.

✓ **la culture *in vitro* d'embryons matures ou immatures** dont l'objectif est l'obtention de plants viables peut être utilisée, dans le cas des embryons matures, lorsque ces derniers ne survivent pas *in vivo* ou que leur période de dormance est longue ou encore en raison de l'inhibition de la germination, exemple de son utilisation par Bigot et Foury en 1984 pour la

multiplication de l'artichaut. Dans le cas des embryons immatures, leur culture peut être réalisée en sauvetage, lors de croisements interspécifiques et intergénériques incompatibles, pour la production d'haploïdes ou le transfert de caractères de résistances : exemples de la production d'haploïdes de blé par sauvetage d'embryons (Inagaki, 2003 ; Chaudhary *et al.*, 2015) et du transfert de caractères de résistance à la salinité (*Triticum aestivum* x *Thinopyrum scribeum*), à l'hélmintosporiose (spot blotch) (*Hordeum sativum* x *H. vulgare*) aux virus, champignons, nématodes (*Lycopersicon esculentum* x *L. peruvianum*), etc. (Chawla, 2002).

✓ **La culture *in vitro* d'organes**, telle que la **culture de méristème** qui peut être utilisée pour la multiplication végétative et la production de plants indemnes de maladies (Carré *et al.*, 1979; Martin *et al.*, 1983; Mbodji., 1995; Varoquaux et Pelettier, 2002). Un autre exemple, la **culture d'anthères** qui est utilisée de façon routinière pour un grand nombre d'espèces. Ainsi plusieurs variétés, de blé (Lunghua 1, Huapei 1, G.K, Ambitus, etc.) de riz (Nonhua 5, Hirohikari, Tonfong 1, etc.) et de tabac ont été obtenues et commercialisées à partir de la culture d'anthères (Chawla, 2002). Des variétés telles que de l'orge résistantes à la rouille noire, brune et au mildiou (Steffenson *et al.*, 1995), du riz résistantes au charançon (N'Guessan *et al.*, 1994) et à la salinité (Sathish *et al.*, 1997) en sont également issues.

✓ **La culture de cals** : induit à partir de la culture d'explants de tissus ou organes différenciés (racine, feuilles, fleurs, embryons, etc.), le cal est un tissu indifférencié, plus ou moins organisé. Cette culture peut avoir plusieurs utilisations telles que la culture cellulaires pour la production de métabolites secondaires, ou encore en vue d'une variation somaclonale dont les applications dans le domaine de l'amélioration sont nombreuses. En effet, **la variation somaclonale peut être utilisée pour (i) la sélection de variants aux caractères agronomiques améliorés**, cas de l'orge (pour les caractères rendement en grain, hauteur de la plante, résistance à la verse, etc.), du blé (pour la couleur du grain, la hauteur, le nombre de talles, etc.), et pour d'autres espèces (le maïs, le sorgho, l'avoine, le riz, etc.) et pour plusieurs caractères (nombre de talles, date de floraison, amélioration de la tolérance à l'acidité des sols, hauteur, rendements, etc.). (ii) **la sélection de variants résistants aux maladies** (orge résistant à la *Rhynchosporiose*, maïs et riz à l'hélmintosporiose, canne à sucre résistante au virus de *Fidji*, à l'hélmintosporiose, etc.) (iii) **sélection de variants résistants aux stress abiotiques** (riz, blé, vigne, etc. tolérants à la salinité ; sorgho tolérant à la sécheresse, maïs tolérant aux herbicides, etc.) (Chawla, 2002).

✓ La culture de protoplastes

La première plante régénérée à partir de protoplastes (*cellule dépourvue de paroi à la suite de l'application d'une manipulation expérimentale*) remonte à 1971, à partir de *Nicotiana tabacum* (Takabe *et al.*, 1971). Depuis plus de trente années, des régénérations sont obtenues chez un grand nombre d'espèces dicotyledones (*Arabidopsis thaliana*, plusieurs espèces de *Brassica*, de *citrus*, *Prunus*, *solanum*, etc.) et monocotyledones (*Hordeum*, *Triticum*, *Sorghum vulgare*, etc.). Ajouté aux études de recherche fondamentale portant sur, la dédifférenciation, la construction d'un embryon, la morphogenèse, etc. que permet la culture de protoplasmes, c'est un outil d'intérêt dans le domaine de l'amélioration à travers trois grandes applications : la variation somaclonale, la mutagenèse, la transformation et enfin la fusion somatique (Haicour et Sihachakr, 1995). Cette dernière application a déjà enregistré d'importants succès : de nouvelles lignées mâles stériles de colza résistantes à l'atrazine (un pesticide), de la pomme de terre, *Solanum tuberosum*, résistante au virus de l'enroulement, aux virus Y et X, au mildiou et à la pourriture bactérienne ont été obtenues par hybridations somatiques (Planchenault, 2012).

4.1.2. La technologie des outils moléculaires

- **Sélection assistée par marqueur**

Les marqueurs moléculaires ont constitué un important tournant dans l'évolution de la sélection des plantes. Ils ont permis d'optimiser la gestion et l'utilisation de la variabilité génétique pour la création de génotypes possédant de plus en plus de gènes recherchés (Gallais, 2013). C'est de cette capacité, qu'offrent les marqueurs moléculaires de lire des séquences d'ADN et d'étiqueter des gènes, que dérive la sélection assistée par marqueurs (SAM), ils peuvent en effet être introduits pour assister le sélectionneur dans la gestion des ressources génétiques, dans le choix de départ des parents en sélection généalogique, dans le transfert de gènes ou de segments chromosomiques, etc. (Gallais, 2011).

La sélection assistée par marqueurs constitue un intérêt avéré dans la sélection au sens strict, en ce sens qu'elle optimise son efficacité en assurant précocité et rapidité du choix. Dans une variété qui montre des caractères recherchés (résistance à la sécheresse, résistance à certaines maladies, etc.), les séquences spécifiques, dont la présence est corrélée à ces caractères, sont recherchées dans la descendance issue du croisement avec une variété qui ne possède pas ces caractères (Planchenault, 2012).

Elle est surtout utilisée pour des caractères à déterminisme simple (exemple de la résistance aux maladies), elle est notamment avantageuse pour l'amélioration vis-à-vis des maladies et insectes (Najimi *et al.*, 2003).

Pour les caractères agronomiques, plus complexes (exemple du rendement), sous l'effet de plusieurs gènes ou QTL (Quantitative Trait Loci) qui interagissent, la sélection assistée par marqueurs a fait l'objet d'intenses travaux qui ont montré pendant longtemps peu d'efficacité (Abecassis et Bergez, 2009)

Exemple : En 2015 en Pologne, la cartographie génétique des loci impliqués dans la tolérance à la sécheresse de deux variétés d'orge, brassicole et fourragère, a révélé respectivement 18 et 15 QTL. Les principaux QTL étaient situés sur les chromosomes 4H, 5H et 7H. Ces résultats ont permis d'entreprendre d'autres investigations sur la possibilité d'utiliser la sélection assistée pour la tolérance à la sécheresse chez des lignées d'orge en ségrégations (Fiust *et al.*, 2015).

Exemple : Des variétés de pommes de terre commercialisées, résistantes au nématode à kyste *Globodera pallida* sont peu nombreuses. L'INRA France, en collaboration avec d'autres partenaires a développé et testé des constructions génétiques associant un QTL à effet faible (*GpaXIsp1*) provenant de *Solanum Sparsipilum* au QTL à effet fort (*GpaV*) cartographié sur le chromosome V de *S. sparsipilum* et *S. spgazzinii*, cette association a conduit à un blocage précoce des nématodes. Ce résultat permettrait de diversifier le spectre d'efficacité vis-à-vis de cette maladie (Kerlan *et al.*, 2016).

✓ **Le tilling**

Le tilling (Targeting Induced Local Lesions in Genomes) est une technique mise au point autour des années 2000. Il s'agit de provoquer des mutations sur des génomes connus, à partir d'outils physiques ou chimiques, de les localiser sur des séquences préalablement connues de l'ADN et d'observer les mutations correspondantes. Cette technique permet d'accélérer la caractérisation et la détection des mutations ponctuelles induites chez les individus de populations mutagénisées, elle permet l'identification de la fonction des gènes et l'identification d'une nouvelle variabilité pour l'amélioration génétique, c'est pour ces raisons qu'elle est considérée comme un outil ayant redonné vie à l'utilisation de la mutagenèse induite dans les procédures d'améliorations génétiques (Wang *et al.*, 2006 ; Chen *et al.*, 2012). Elle est utilisée pour un bon nombre d'espèces tels que l'orge, la tomate, le colza, etc. Les caractères recherchés sont la résistance et les qualités gustatives et nutritionnelles

(Planchenault, 2012). Le tilling s'est révélé robuste dans l'identification de lignées mutantes d'intérêts dans diverses cultures importantes économiquement (Tadele, 2016).

Exemple 1 : en 2008, Talamè *et al.* ont produit une population de mutants d'orge à partir du cv. Morex par utilisation d'un agent chimique (l'Azide de Sodium). Le tilling a été utilisé pour la détection et la caractérisation des mutations. Ainsi, quatre gènes d'intérêt (HvCO1, Rpg1, eIF4E and NR) ont été ciblés par les mutations et un total de 22 nouveaux allèles identifiés.

Exemple 2 : en analysant par tilling une population de mutants de blé tendre développée à partir du cultivar Jinmai 47, Chen *et al.* (2012) ont identifiés et confirmés par séquençage 31 nouveaux allèles à partir de trois gènes ciblés.

- **La transgénèse**

Il s'agit de déterminer et d'isoler des fragments d'ADN de petites tailles, puis de les incorporer dans des génomes d'autres organismes. Si l'essor de cette technique a pu être possible grâce au développement des outils moléculaires, c'est au cours des années 80, avec l'évolution des connaissances sur les agrobactéries et le développement des techniques physiques d'électroporation et de biolistique que les cellules végétales ont pu être transformées. La maîtrise de la régénération *in-vitro* d'une plante à partir d'une cellule transformée est souvent resté le principal obstacle (Varoquaux et Pelettier, 2002 ; Planchenault, 2012)

Le soja, le maïs, le coton et le colza sont les principales espèces cultivées sous forme de variétés transgéniques (OGM), les principaux traits acquis sont la résistance aux herbicides et aux insectes. Ce sont ces cultures, aux coûts de production élevés (lutte contre les ravageurs et les mauvaises herbes) et qui assurent le retour de lourds investissements engagés par des entreprises semencières internationales qui en détiennent les capacités, qui ont été les premières à être développées et commercialisées (Henard et Ricroch, 2014). De nombreux programmes continuent d'être développés avec des cibles très variées : qualités gustatives, résistance à la salinité, à la sécheresse, au froid, (Varoquaux et Pelettier, 2002) et même augmentation des rendements, efficacité d'utilisation de l'eau et de l'azote, biofortification de certaines cultures, etc. Ces programmes sont élargis à diverses espèces. Ainsi, du riz et de la pomme de terre transgénique seront prochainement commercialisés et d'autres cultures (blé, orge, manioc, banane, etc.) sont en cours de recherche. Divers essais en champ sont rapportés tels que ceux portant sur des lignées d'orge et de blé génétiquement modifiées pour une efficacité d'utilisation de l'azote, du blé génétiquement modifié pour la résistance aux

pucerons et du maïs génétiquement modifiés à destination des industriels du bio-ethanol (Henard et Ricoch, 2014 ; Grenn-Brulon *et al.*, 2014). Vingt-huit pays commercialisent déjà des plantes génétiquement modifiées (PGM), elles sont produites par 17 millions d'agriculteurs sur 170 millions d'hectares. Des programmes de développements de PGM, avec des objectifs et des niveaux d'avancements divers, sont développés dans tous les continents. En effet, si les USA et le CANADA représentent les pays les plus avancés dans ce domaine, des pays d'Asie (Inde, le Pakistant, l'Iran, etc.) et d'Afrique (Egypte, Ethiopie, Nigéria, le Ghana, Kenya, etc) commercialiseront dans les toutes prochaines années des plantes génétiquement modifiées pour un grand nombre d'espèces (blé, aubergine, pois-chiche, riz, canne à sucre, etc.) et de caractères telles que la résistance aux maladies (rouille noire UG99 pour le blé), à la sécheresse et la salinité pour le coton et la canne à sucre, etc. (FAO, 2013 ; Henard et Ricoch, 2014).

4.2. Objectifs des programmes d'amélioration

La satisfaction des besoins alimentaires croissants, la recherche permanente d'une amélioration des productions et de leurs qualités, l'obligation d'adapter les variétés aux stress rencontrés dans leurs milieux de cultures, l'ajustement des objectifs de sélections aux impératifs fixés par les transformations industriels, représentent les facteurs fondamentaux qui orientent l'amélioration des plantes (Doré *et al.*, 2006). Dans ce cadre, la sélection pour la productivité ou rendement en grain a été de tout temps un objectif constant (Bouharmont 1995, Benmahamad, 2005). De même que la résistance aux maladies, aux parasites et à divers stress abiotiques constituent une préoccupation permanente aussi bien pour les améliorateurs et sélectionneurs que pour les agriculteurs, en raison de l'impact direct de ces stress sur les rendements et des coûts de production engagés pour l'entretien et le traitement des cultures.

Par ailleurs, depuis plus d'une décennie, "Jamais les moyens de la gestion génétique de la production agricole ne seront aussi puissants et précis" (Varoquaux et Pelletier, 2002), en effet, forte des moyens dont elle dispose, l'amélioration génétique des plantes a élargi ses domaines d'investigations et s'est engagée vers des objectifs nouveaux et sans précédents. Ainsi, ajoutés aux caractères classiques (rendements, résistance aux stress biotiques et abiotiques) recherchés aujourd'hui à partir d'outils biotechnologiques tels que la SAM et la transgénèse, des traits tels que la biofortification nutritionnelle, l'efficacité de l'utilisation de l'eau et de l'azote, le remodelage de l'architecture des plantes pour l'augmentation de

l'efficacité photosynthétique ou encore la conversion en cultures pérennes, sont ciblés (Baulcombe *et al.*, 2009 ; Henard et Ricroch, 2014 ; Le Crenn-Brulon *et al.*, 2014).

En Algérie, conscient de ces apports, de plus en plus de travaux sont orientés vers l'utilisation de certains outils de biotechnologies végétales (la culture de méristème, l'haplodiploïdisation, la sélection *in-vitro*, la caractérisation moléculaire, SAM, etc.) pour optimiser les procédures de sélections, et cela, aussi bien dans les centres de recherche que dans les universités. Pour les céréales, d'une manière générale et pour l'orge de manière spécifique, dictés par les conditions défavorables des environnements de cultures, les objectifs de la sélection sont orientés prioritairement vers l'adaptation ainsi que l'augmentation de la stabilité et des niveaux des rendements et ils sont essentiellement recherchés à partir des schémas et outils d'amélioration classiques comme le montre le nombre de travaux rapporté à cette thématique (Bouzerzour *et al.*, 1996; Bouzerzour *et al.*, 2002; Benmahammed , 2005, Benmahammed *et al.*, 2010; Kadi *et al.*, 2010; Menad, 2011; Hanifi-Mekliche *et al.*, 2011, Kadi, 2012; etc).

CHAPITRE II

L'haplodiploïdisation

Résumé

En vue de l'obtention de nouvelles lignées d'orge (*Hordeum vulgare* L.), des lignées en ségrégation (F2), issues de croisements entre la variété locale cv. Tichedrett et deux variétés introduites cvs. Express et Plaisant, ont été utilisées dans un essai d'obtention d'haploïdes doublés (HDs) par culture d'anthères. Un total de 5319 anthères a été mis en culture donnant un taux d'induction moyen de néoformations de 17,8 % à savoir, 20,48 % à partir de l'hybride *Tichedrett* × *Express* (TE) et 11,81 % à partir de l'hybride *Tichedrett* × *Plaisant* (TP).

Un total de cent quatre-vingt-treize plantules a été régénéré, représentant un rendement de 21,25%. Cent soixante-treize plantules ont été obtenues à partir de l'hybride (TE) et vingt à partir de l'hybride (TP), soit un rendement respectif de 26,17 % et 8,09 %. Le pourcentage de plantules vertes obtenues à partir de (TE) est de 75,72%, le pourcentage d'albinos est de 24,27 alors que 85% de plantules vertes et 15% de plantules albinos ont été obtenues à partir de (TP). Sur soixante-quinze plantules placées en acclimatation, quarante-huit (80%) plantes fertiles ont été récoltées à partir de (TE) et treize (86%) à partir de (TP). Placées en pépinières d'observations, vingt des lignées haploïdes doublées issues de l'hybride TE et six des lignées issues de l'hybride TP ont montré un bon comportement vis-à-vis de la verse et des maladies. Elles ont été présélectionnées.

Mots clef : Orge, *Hordeum vulgare* L, croisements, culture d'anthères, haploïdes doublés

Abstract:

To obtain new barley (*Hordeum vulgare* L.) lines, segregated (F₂) lines, obtained from the crosses between the local variety cv. Tichedrett and two introduced varieties cvs. Express and Pleasant, were used experiment to obtain haploids (HDs) by anther culture. A total of 5319 anthers was cultured giving an average induction rate of 17.8%, i.e., 20.48% from the Tichedrett × Express (TE) hybrid and 11.81% from Tichedrett × Pleasant (TP). A total of 193 seedlings was regenerated, representing a yield of 21.25%. 173 seedlings were obtained from TE hybrid and 20 from TP hybrid, a respectively yield of 26.17% and 8.09%. 75.72% of the seedlings obtained from (TE) were green and 24.27% albino whereas 85% of green seedlings and 15% of albino seedlings were obtained from (TP). Of the 75 seedlings placed in acclimatization, 48 (80%) fertile plants were harvested from (TE) and 13 (86%) from (TP). Placed in nurseries for observation, twenty on the lines derived from TE hybrid and six from TP hybrid showed good lodging and disease performance, they have been pre-selected.

Key words: Barley, *Hordeum vulgare* L., hybridization, anther culture, doubled haploids

Introduction

La création variétale est un processus récurrent, dicté par le nombre de gènes impliqués dans les caractères quantitatifs et nécessitant plusieurs cycles de création variétale pour l'apport du progrès génétique. Dans ce processus, la durée des cycles est un élément important à prendre en compte (Gallais, 2013). L'effort national d'amélioration repose essentiellement sur les méthodes de sélections classiques, or l'amélioration génétique conventionnelle est longue et fastidieuse. En comparaison, l'haplodiploïdisation, outil issu des biotechnologies végétales, est le système le plus rapide pour développer l'homozygotie. C'est un puissant outil d'obtention rapide, en une seule génération (Figure 1, page 30), de nouvelles lignées pures (100% d'homozygotie) à partir d'hybrides en ségrégation permettant la simplification et le raccourcissement du cycle de sélection et un gain de temps (Ma *et al.*, 1999 ; Touraev *et al.*, 2001 ; Thomas *et al.*, 2003 ; Gomez-Pando *et al.*, 2009).

L'androgenèse

La production d'haploïdes en conditions artificielles (culture *in vitro*) peut être obtenue via trois principales voies (Szarejko, 2001): l'androgenèse (culture *in vitro* d'anthères ou de microspores isolées), la gynogenèse (culture d'ovaires ou d'ovules non fécondés) et les croisements interspécifiques ou intergénériques suivi du sauvetage *in vitro* d'embryons immatures haploïdes issus de l'élimination sélective de l'un des génomes parentaux.

L'androgenèse a démarré dans les années 60 avec la régénération de plantes haploïdes à partir des gamétophytes (anthères) de *Datura innoxia* (1964) et la culture d'étamines du tabac (1967) respectivement par Guha and Maheshwari et Bourgin and Nitsch (Picard, 1995). Selon Maluszynski *et al.* 1996, en 1980, Maheshwari *et al.*, ont dénombré 171 espèces regroupant 60 genres et 25 familles d'angiospermes et de gymnospermes chez lesquelles les techniques d'androgenèse et de gynogenèse *in vitro* ont été testées. Pour plus de la moitié de ces espèces chez qui les haploïdes doublés ont été développés, l'androgenèse est la seule technique utilisée. En 2001, Szarejko considérait que depuis vingt années déjà la production d'haploïdes doublés se faisait d'une manière routinière pour bon nombre d'espèces.

L'androgenèse consiste en la régénération de plantes haploïdes par la culture *in vitro* du gamétophyte mâle (anthères ou microspores isolées) durant laquelle le programme de développement gamétophytique naturel des microspores est réorienté vers la voie sporophytique (embryogenèse gamétique) par l'application d'un stress (Twell *et al.*, 1998), elle comprend deux étapes principales: l'induction de l'embryogenèse directe ou indirecte via la callogenèse et la régénération de plantes (Luckett et Darvey, 1992 ; Jähne et Lörz, 1995).

Chez l'orge, c'est la technique la plus utilisée pour la production de plantes HDs (Pickering et Devaux, 1992; Jähne et Lörz, 1995). Elle a pratiquement remplacé la « méthode Bulbosum » (Jensen, 1977) largement utilisée durant les décennies 1970 et 1980.

Le succès actuel de l'androgenèse est le résultat des progrès apportés par plusieurs travaux aux différents facteurs clés qui contrôlent son processus et qui ont permis d'améliorer la réponse des génotypes et la réduction du nombre de plantes albinos. Il s'agit principalement (i) de l'optimisation des conditions de croissance des plantes-mères (Hunter, 1988), (ii) des prétraitements du gamétophyte par l'introduction du stress osmotique au mannitol (Roberts-Oehlschlager et Dunwell, 1990), (iii) de la densité de culture et l'osmolarité du milieu de culture (Höekstra *et al.*, 1993) et enfin, (iiii) de la composition du milieu d'induction : le remplacement du saccharose par le maltose comme source de carbone (Hunter, 1988; Scott et Lyne, 1994), l'incorporation de la glutamine à de fortes concentrations en tant que source d'azote organique (Olsen, 1987), la balance organique et inorganique de l'azote (Mordhörst et Lörz, 1993), la concentration du cuivre (Wojnarowicz *et al.*, 2002) et les hormones (Ziauddin *et al.*, 1992).

En outre, contrairement à la « méthode Bulbosum », l'androgenèse permet la régénération de plantes HDs entièrement fertiles avec un taux allant de 70 à 90% et ce grâce au doublement spontané des chromosomes durant la phase de culture (Höekstra *et al.*, 1992; Kasha *et al.*, 2001a, Kasha *et al.*, 2001b).

Intérêt dans les programmes d'amélioration génétique et de sélection

Dans un schéma de sélection, les avantages procurés par l'haploïdie sont principalement liés au gain de temps procuré par la réduction de la durée d'obtention variétale (Touraev *et al.*, 2001, Thomas *et al.*, 2003) ainsi qu'à la réduction des coûts engendrés par l'accélération de la

fixation de la variabilité obtenue par recombinaison ou mutagenèse. En effet, l'haplodiploïdisation permet d'obtenir en une étape l'équivalent de plusieurs années d'autofécondations (Figure 1), c'est-à-dire des lignées complètement homozygotes avec l'expression simultanée des gènes dominants et récessifs (Jacquard, 2007). Outre la valorisation et l'optimisation des effets additifs et d'épistasie.

Pour Gallais (2013) l'haplodiploïdisation permet également :

- La mise en place d'une véritable récurrence ;
- La suppression de l'étape de fixation de la sélection généalogique, car en système d'haplodiploïdisation, la sélection est réalisée après fixation. Ceci assure une meilleure utilisation de la variabilité et une évaluation des performances dans différents milieux (d'où une meilleure exploitation des IGE) ;
- La fixation totale et l'absence de l'hétérozygotie résiduelle persistante pour les deux autres systèmes de reproduction en consanguinité (l'autofécondation et croisement frère X sœur).

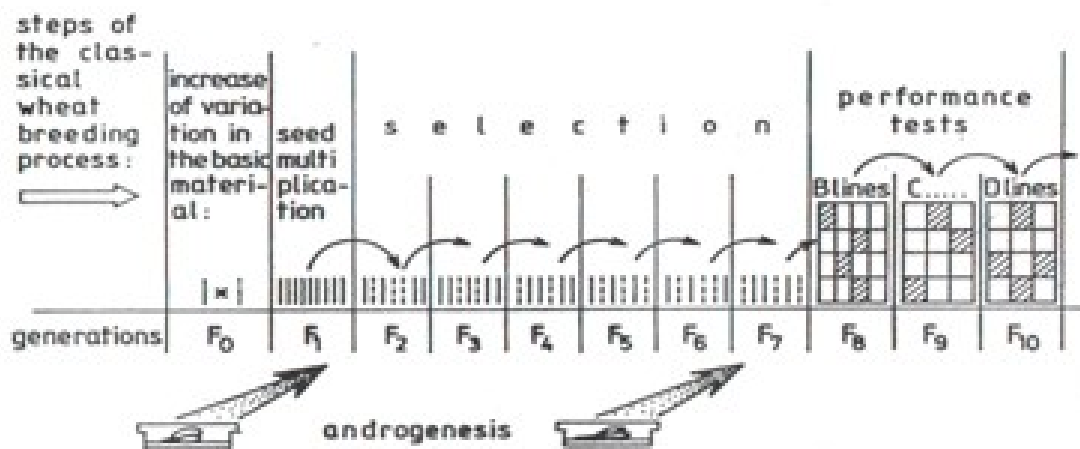


Figure 1. Schéma comparatif entre la méthode de sélection classique et l'androgénèse chez les céréales. (Source : Kertesz *et al.*, 1988).

Plusieurs travaux montrent que ces techniques permettent l'obtention de lignées haploïdes doublées (HDs) à gain génétique transgressant les valeurs parentales (Backes *et al.*, 1995 ; Reinseberg *et al.*, 1999 ; Kuczynska *et al.*, 2007 ; Gomez- Pando *et al.*, 2009). Dans les pays du Nord, ces techniques sont largement utilisées et ont grandement gagné en importance dans

les programmes d'amélioration de l'orge comme le démontre le nombre croissant des variétés HDs obtenues (Powell *et al.*, 1986 ; Picard *et al.*, 1994 ; Friedt, 2011). Il est important de mettre à profit ces avancées et de développer l'utilisation de cet outil dans les programmes d'amélioration génétique et de sélection de l'orge en Algérie. Ceci permettra d'accélérer le processus d'enrichissement du germoplasme national par l'obtention plus rapide de nouvelles variétés d'orge attendues performantes, stables et adaptées aux zones semi-arides.

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Trois variétés d'orge à six rangs, une locale (cv. Tichedrett) et deux variétés introduites d'origine française, (cv. Express) et (cv. Plaisant), ont été utilisées dans un plan de croisements pour obtenir deux hybrides simples:

Tichedrett × Express et Tichedrett × Plaisant.

La variété Tichedrett est rustique, résistante à la sécheresse, peu productive et sensible aux maladies. Les variétés Express et Plaisant sont à hauts rendements, résistantes aux maladies et sensibles à la sécheresse.

Des lignées en ségrégation F_2 ont été utilisées pour la production de lignées haploïdes doublées (HDs).

2. Obtention des lignées haploïdes doublées (HDs)

La production des lignées HDs a été réalisée selon le protocole suivant (Figure 2, page 33) :

2.1 Conditions de croissances des plants donneurs et récolte des talles

Des grains des hybrides **TE** (Tichedrett x Express) et **TP** (Tichedrett x Plaisant) en F_2 , ont été semés (trois semis échelonnés, 60 graines par semis et par hybride) dans des pots de 3 kg à raison de quatre grains par pot. Ces derniers ont été placés dans une serre semi-contrôlée [température: 21/18°C (jour/nuit), photopériode naturelle] (Figure 2a, page 33). Les talles ont été prélevées aux stades de microspores (Figure 2b, page 33) uni nucléé médian à tardif (Jähne-Gärtner et Lörz, 1999 ; Szarejko, 2001 et 2003 ; Cistué *et al.*, 2003). Ce prélèvement est réalisé à l'aide du repère morphologique « R » (Figure 2c, page 33), distance entre les deux dernières feuilles (Mordhorst et Lörz, 1993 ; Szarejko, 2001 ; Cistué *et al.*, 2003) correspondant aux stades requis des microspores. La valeur de ce repère a été déterminée lors

de cet essai. Elle était comprise dans l'intervalle entre **5 et 6 cm** pour l'hybride **TE** (Tichedrett x Express) et dans l'intervalle **3,5 et 5 cm** pour l'hybride **TP** (Tichedrett x Plaisant).

2.2. Le prétraitement des épis

Stérilisation et prétraitement au froid : Les épis extraits (Figure 2e) des talles effeuillées et écourtées (Figure 2d) puis stérilisées par aspersion à l'éthanol 70% (Mordhorst et Lörz, 1993 ; Jähne-Gärtner et Lörz, 1999 ; Castillo *et al.*, 2000 ; Cistué *et al.*, 2003) ont été placés dans des boîtes de Pétri contenant une goutte d'eau distillée stérile et soumis à un pré traitement (Figure 2f) au froid (4 °C) pour une durée de 21 à 28 jours (Szarejko, 2001 et 2003).

2.3. La culture d'anthères

Le prélèvement des anthères, leur mise en culture (Figure 2g), l'induction des cals et/ou embryons (Figure 2h) ainsi que la régénération des plantules androgènes (Figure 2i) ont été réalisés selon les procédures décrites par Szarejko (2001).

2.4. Milieux utilisés

Les milieux d'induction et de régénération utilisés sont conformes à ceux de Jacquard *et al.* (2006) avec cependant deux modifications : le remplacement de la thiamine-HCL par les vitamines FHG et l'agarose par du phytigel (3g/l). Le milieu de développement est le milieu de Murashige et Skoog (1962) modifié (la concentration en sel est diminuée de moitié et addition de 0,5 mg/l d'acide indol-butérique (AIB) et de 3 g/l de phytigel).

2.5. Acclimatation et pépinières d'observations des lignées HD₁

Après le développement des vitroplants en chambre de culture (Figure 2j), ils sont acclimatés pendant 21 jours dans un substrat constitué exclusivement de perlite (Figure 2k) à humidité saturante. Les plantules sont par la suite transférées en pot et placées dans les mêmes conditions que celles utilisées pour l'obtention des plantes mères. Ces vitroplants ont suivi leur cycle de développement (Figure 2l), le doublement spontané des chromosomes (Mordhorst et Lörz, 1993 ; Kasha *et al.*, 2001a ; Cistué *et al.*, 2003) a permis la récolte des grains.



Figure 2. Protocol de production d'HDs par la culture d'anthers : a) Croissance des plantes mères en serre ; b) Microspore uni-nucléée tardive (x400, P= pore, N =noyau) ; c) Repère morphologique requis identifié sur la talle (R = distance entre les deux dernières feuilles) ; d) Talles effeuillées et écourtées, e) Extraction des épis de leur gaine ; f) Epis prêts à être soumis au prétraitement ; g) Mise en culture des anthers sur le milieu d'induction ; h) Induction de cal ; i) Régénération de plantules androgènes ; j) Développement des vitroplants en chambre de culture ; k) Acclimatation ; l) Développement des vitroplants en serre jusqu'à la maturité.

Les lignées HD₀ fertiles ont été placées en première génération (HD₁) dans des pépinières d'observations au niveau de la station expérimentale de l'Institut Techniques des Grandes Cultures (ITGC), dans la région du littoral, aux conditions subhumide favorisant la verse et l'apparition de maladies. Les lignées ont été semées en bloc aléatoire complet à quatre (04) répétitions sur des lignes d'un mètre, avec une distance de 20 cm entre lignes et entre chaque grain. Le nombre de lignes semées a varié d'une (1) à six (6) en fonction des lignées et ce en raison du nombre de graines récoltées pour chacune d'elles en HD₀. Les observations effectuées sur ces lignées en HD₁ ont porté sur leurs comportements vis-à-vis des maladies et de la verse

3. Résultats et discussion

3.1. Bilan général de l'androgenèse en phase *in vitro*

La production d'haploïdes doublés (HDs) d'orge à partir de la culture d'anthère est un long processus au cours duquel plusieurs phases se succèdent : induction, régénération, acclimatation et doublement chromosomique et restauration de la fertilité. Chacune de ces différentes phases, qui sont soumises aux effets de plusieurs facteurs dont le génotype occupe une place importante (Luckett et Smithar 1995; Echavarri *et al.*, 2008; Kahrizi *et al.*, 2011), présentent des niveaux de réponses variables (Cistué *et al.*, 2003).

Le taux moyen d'induction de néoformations (cals et/ou embryons) obtenu (Tableau 1, page 36), dans le cadre de cet essai de production d'HDs, pour les deux hybrides est de 17,8 %, le taux le plus élevé a été obtenu à partir de l'hybride *Tichedrett × Express* (20,48 %) alors que 11,81 % d'induction est obtenu par *Tichedrett × Plaisant*. Echavarri *et al.* (2008) obtiennent des pourcentages d'induction qui varient en fonction des cultivars, ainsi 171 embryons, pour 100 anthères mises en culture, sont obtenus pour le cv. Igri, considéré comme modèle dans les études portant sur l'androgenèse de l'orge (Jähne *et al.*, 1991) et 31,5 embryons sont obtenus, pour 100 anthères mises en culture, pour le cv. Hop. Kruzckowska *et al.* (2002) obtiennent 53,1 % d'induction à partir du cultivar Mobek et 327 % avec le cultivar Igri. Une induction de l'ordre de 72,3 % est obtenue par Jacquard *et al.* (2003) sur ce même dernier génotype. Marchetti *et al.* (1995) utilisent 12 cultivars d'orge et obtiennent des pourcentages d'induction variant de 4,2 %, taux le plus faible obtenu à partir du génotype Sabarlis, à 44,7 %, taux le

plus élevé obtenu à partir du génotype Arda. Une large variation du pourcentage d'induction est également obtenue par Kahrizi *et al.* (2011) en fonction des génotypes, ils utilisent 12 génotypes iraniens et obtiennent des taux d'induction qui varient entre 3,75 % et 62,91 %. Les réponses différentielles des inductions obtenues par les deux hybrides ***Tichedrett × Express*** et ***Tichedrett × Plaisant*** sont conformes à ceux des auteurs cités, le niveau d'induction est lui, conforme aux résultats présentés par les deux derniers auteurs. Par ailleurs, des résultats obtenus sur des hybrides issus de croisements entre les variétés locales (Saïda, Tichedrett et Ras el mouche) et différentes variétés introduites montrent également des variations et des niveaux d'induction généralement similaires à ceux obtenus à partir des deux hybrides ***Tichedrett × Express*** et ***Tichedrett × Plaisant***, ainsi, Bouchkout et Akrou (2011) obtiennent à partir de différents prétraitements au froid des taux d'induction variant de 41,14 %, 50,23 %, et 52,59 % pour l'hybride ***Saïda × Exito*** (F1), de 26,32 %, 29,11 % et 52,77 % pour l'hybride ***Saïda × Plaisant*** (F1), 32,47 %, 34,93 % et 36,11 % pour l'hybride ***Saïda × Express*** (F1). Maemech et Menad (2012) obtiennent des taux d'induction variant de 29,53% pour l'hybride ***Esterel × Ras El Mouche*** (F2), 19,69 % pour l'hybride ***Saïda × Expresse*** (F2) et 23,13 % pour l'hybride ***Saïda × Rihane*** (F2). Kirari (2013) obtient à partir de l'hybride ***Express × Ras el mouche*** un taux de réactivité qui varie de 18,4 %, 15,6 % et 25 %, en fonction de différents prétraitements au mannitol. Ces résultats indiquent qu'il est nécessaire de mener des travaux afin d'optimiser le rendement de la phase induction pour le matériel végétal utilisé dans les programmes de culture d'anthères menés au niveau national.

Cent quatre-vingt-treize plantules ont été régénérées, soit un taux de 21,25% (Tableau 1). Le nombre de plantules régénérées à partir de l'hybride ***Tichedrett × Express*** s'élève à 173 (26,17 %). Vingt plantules uniquement (8,09 %) ont été régénérées à partir du second hybride ***Tichedrett × Plaisant*** (Tableau 1). Les différences obtenues entre les deux hybrides s'expliquent probablement par un effet de combinaison hybride. Par ailleurs, l'effet génotype a été signalé par plusieurs auteurs. Marchetti *et al.* (1995) obtiennent à partir de différentes variétés, testées durant 03 années, des moyennes de plantules régénérées variant de 3,03 % (représentant la plus grande moyenne obtenue à partir du génotype Arda) à 0,03 % de plantules (moyenne la plus faible obtenue à partir de Sabarlis) et ce pour 100 anthères réactives. Kruzckowska *et al.* (2002) ont obtenu 7,7 % de régénération à partir du génotype Mobek et 39,4% à partir du génotype Igri. Echavarri *et al.* (2008) rapportent, pour 100 embryons induits, 77,6 % de plantes régénérées à partir de la variété Igri, 61,1 % à partir de la variété Reinett et 45% à partir de la variété Hop.

Tableau 1 Bilan général de la production de plantes haploïdes doublées.

Hybride	PHASE D'INDUCTION			PHASE DE REGENERATION						PHASE D'ACCLIMATATION		
	NAC	NAR	%AR	NPR (%)	NPV/NPA	%PV	%PV	%PA	%PA	PVA	PF	% DN
<i>Tichedrett</i> × <i>Express</i>	3228	661	20,48	173 (26,17)	131/ 42	19,81	75,72	6,35	24,27	60	48	80
<i>Tichedrett</i> × <i>Plaisant</i>	2091	247	11,81	20 (8,09)	17/ 03	6,88	85	1,21	15	15	13	86
Total	5319	908	17,8	193 (21,25)	148/ 45	16,29	76,68	4,95	23,33	75	61	81,33

NAC = Nombre d'anthères mis en culture ; NAR = Nombre d'anthères réactives ; %AR = Pourcentage d'anthères réactives = (NAR/NAC) x100 ; NPR = Nombre de plantes régénérées ; (%) = Taux de régénération (NPR/ NAR x100) ; NPV/NPA = Nombre de plantes vertes régénérées/ Nombre de plantes albinos régénérées ; %PV = Pourcentage de plantes vertes régénérées (NPV/NAR)*100; %PV = Pourcentage de plantes vertes régénérée (NPV/NPR)*100 , %PA = Pourcentage de plantes albinos (NPA/NAR)*100 régénérées ; %PA = Pourcentage de plantes albinos(NPA/NPR)*100 , PVA = Nombre de plantes vertes acclimatées ; PF = Nombre de plantes fertiles ; % DN = % d'auto-diploïdisation (PF/PVA)*100.

Dans différents essais portant sur la production d'haploïdes doublés à partir d'hybrides issus de croisements entre variétés locales (Saïda, Tichedrett et Ras el Mouche) et différentes variétés introduites, Ramla *et al.* (2013) ont obtenu des taux de régénération variable, pouvant aller de 0,5 % de régénération (pour *Saïda* × *Esterel* en F1), à 3,79 % (pour *Saïda* × *Rihane* en F2) et à 22,37 % (pour *Rihane* × *Ras El mouche* en F1).

Parmi les 193 plantules régénérées, 148 (76,68 %) étaient vertes et 45 (23,33 %) albinos, ce qui correspond à un rendement, rapporté au paramètre anthères réactives, respectif de 16,29 % et 4,95 % (voir tableau 1, page 36). Le nombre de plantules vertes obtenu à partir de l'hybride *Tichedrett* × *Express* est de 131, soit un rendement de 19,81 %, alors que 17 plantules vertes seulement, soit un rendement de 6,88 %, sont obtenues à partir de *Tichedrett* × *Plaisant*. Bien que les rendements obtenus demeurent relativement bas, ils indiquent néanmoins que l'hybride *Tichedrett* × *Express* a mieux répondu que l'hybride *Tichedrett* × *Plaisant*. Plusieurs travaux sur l'orge, ceux de Jähne *et al.* (1991), Li *et al.* (1993), Cistué *et al.* (1994) et Caderra *et al.* (2004), ont montré que le pourcentage en plantules vertes régénérées est génotype dépendant, ceci explique les résultats obtenus dans la présente expérimentation.

Par ailleurs, rapporté au nombre de plantes régénérées, 75,72 % de plantules vertes et 24,27 % de plantules albinos ont été obtenues à partir de *Tichedrett* × *Express* et 85 % de plantes vertes et 15 % de plantes albinos pour *Tichedrett* × *Plaisant* (voir tableau 1, page 36). Caredda *et al.* (2000), rapportent avoir obtenu 87,8 % de plantes chlorophylliennes à partir de la variété Igri et 0,3 % de plantes vertes seulement à partir de la variété Cork. Jacquard *et al.* (2003), obtiennent 89,2 % de plantules vertes à partir de la variété Igri, ils rapportent que dans certains cas 100 % des plantes régénérées à partir de certains génotypes sont albinos. Un problème majeur inhérent à l'androgenèse et qui réduit son efficacité est l'albinisme (Makowska et Oleszczuk, 2014). Plusieurs auteurs ont rapporté que la capacité de régénération de plantes chlorophylliennes est dépendant des génotypes et que le pourcentage de régénération de plantes vertes en culture d'anthères d'orge est sous l'effet de gènes (Dunwell *et al.*, 1987; Larsen *et al.*, 1991). Caredda *et al.* (2000), parlent de "cultivars produisant des albinos (cv. Cork)" et de "cultivars ne produisant pas d'albinos (cv. Igri)". A ce propos, il est important de relever que les pourcentages de plantes vertes régénérées à partir des deux hybrides utilisés dans la présente étude, indiquent que ces derniers ne sont pas sous l'effet de la contrainte de l'albinisme. Contrairement à ce résultat, des hybrides contenant du matériel génétique local (*Saïda* et *Ras el mouche*) ont montré, en réponse à la culture

d'anthères, des résultats opposés. Ainsi et à titre d'exemple, 93,61 % de plantes albinos ont été régénérées à partir de la culture d'anthère de l'hybride *Saïda* × *Plaisant*, 91,42 % à partir de *Saïda* × *Express*, 87,5 % à partir de *Saïda* × *Rihane*, 63 % à partir de *Esterel* × *Ras el mouche* et 53,15 % à partir de *Rihane* × *Ras el mouche* (Ramla *et al.*, 2013).

Malgré les progrès apportés par plusieurs travaux aux différents facteurs clés qui contrôlent le processus de la culture d'anthère (Hunter, 1988 ; Roberts-Oehlschlager et Dunwell, 1990 ; Höekstra *et al.*, 1993 ; Hunter, 1988 ; Scott et Lyne, 1994 ; Olsen, 1987 ; Mordhörst et Lörz, 1993 ; Wojnarowicz *et al.*, 2002 ; Ziauddin *et al.*, 1992) et qui ont permis le succès actuel de la technique, un certain nombre de facteurs continuent d'influencer fortement son efficacité (Sangaré, 2008). Deux des trois paramètres, le pourcentage d'anthères réactives et le pourcentage de régénération, qui déterminent la réponse des génotypes à la culture d'anthères ont montré des résultats qui demeurent relativement faibles dans la présente expérimentation (17,8% d'anthères réactives et 21,25% de plantes régénérées). A ce propos, un travail d'optimisation de ces paramètres mérite d'être entrepris même si, de telles optimisations sont le plus souvent assez complexes en raison du nombre de facteurs qui les régissent (Sangaré, 2008). En effet, malgré tous les efforts, les progrès réalisés, l'haplodiploïdisation n'est toujours pas maîtrisée. Gallais (2013) considère que la maîtrise de cette technique bouleverserait la création variétale, il s'étonne qu'une technique aussi importante pour l'amélioration des plantes n'ait pas fait l'objet de recherches pour assurer des taux élevés de production d'HDs quels que soient l'espèce et le génotype.

3.2. Acclimatation et pépinières d'observations

Soixante-quinze plantules vertes ont été acclimatées, soixante issues de l'hybrides *Tichdrett* × *Express* (TE) et quinze de l'hybride *Tichdrett* × *Plaisant* (TP). Sur l'ensemble de ces lignées mises en acclimatation, quarante-huit HDs issus de l'hybrides TE et treize HDs issus de l'hybrides TP ont permis la récolte de grains, donnant des pourcentages d'auto-diploïdisation respectivement de 80 % et 86 % (voir tableau 1, page 36). Ces derniers résultats corroborent ceux obtenus par plusieurs auteurs tels que ceux de Höekstra *et al.* (1992) ; Kasha *et al.* (2001a) et Kasha *et al.* (2001b). De même que vingt-six lignées HDs, vingt issues de l'hybride TE et six lignées issues de l'hybride TP ont montré, en pépinière d'observation, un bon comportement vis-à-vis de la verse et des maladies, elles ont été retenues pour être évaluées dans cinq environnements semi-arides.

Conclusion

Les résultats obtenus au cours de cet essai, en matière d'induction, de régénération en plantes vertes et de fertilité, ont montré que le matériel végétal utilisé, des lignées contenant du matériel génétique local, répond à la culture d'anthères. Des réponses ont, en effet, été obtenues pour chacune des phases d'obtention des haploïdes doublés. Le niveau de ces réponses est cependant bas et nécessite un travail d'optimisation. Les deux hybrides utilisés ont répondu en régénérant des plantes vertes (148) et fertiles (61) et des lignées haploïdes doublées, vingt-six, ont été présélectionnées. Ces lignées fixées, ont été obtenues en un laps de temps court, en comparaison avec le temps qui aurait été nécessaire par l'utilisation du schéma classique, permettant ainsi un gain de temps important dans le processus de sélection et d'amélioration. Ceci montre l'intérêt du développement et d'une large utilisation de ce procédé dans les programmes d'amélioration nationaux pour des cultures aussi stratégiques que les céréales.

Chapitre III

Analyse de l'interaction Génotype x Environnement et sélection pour le niveau et la stabilité du rendement en grain au sein d'une collection d'haploïdes doublés (HDs)

Résumé

L'obtention de nouveaux génotypes caractérisés par une stabilité et un bon niveau de rendement est un important objectif dans les environnements semi-arides à conditions contraignantes et variables. A cet effet, vingt-six lignées haploïdes doublées (HDs), issues de la culture d'anthères à partir d'hybrides *Tichedrett* × *Express* (TE) et *Tichedrett* × *Plaisant* (TP), et leurs parents ont été évalués pour leur rendement en grain et leur niveau de stabilité dans cinq environnements semi-arides. L'analyse de la variance combinée a mis en évidence un effet très hautement significatif de l'environnement, du génotype et de l'interaction génotype × environnement (GE). La régression conjointe a été utilisée pour analyser l'interaction GE. Plusieurs paramètres de stabilité, *le coefficient de régression (bi)*, *la déviation de la régression (S^2_{di})*, *le coefficient de détermination R^2 de Pinthus*, la variance environnementale spécifique à chaque génotype (S^2_i), *l'écovalence de Wricke (w_i)*, *la stabilité de la variance de Shukla (σ_i^2)* *l'hétérogénéité de la variance (% HV)*, *les corrélations incomplètes (% IC)*, *les coefficients de variation (CV %)* et *le paramètre de Plaisted (P)*, ont été utilisés pour évaluer le niveau de stabilité de chaque génotype. Sur l'ensemble des génotypes, 28 ont des coefficients de régression égal à 1 ($b_i = 1$) et une seule lignée, DH40 TE, a une pente b_i significativement < 1 . Cependant, seules 10 génotypes (9 HDs et la variété Express) ont montré une stabilité à travers les milieux étudiés ($S^2_{di} = 0$, w_i , HV %, CV %, IC % et σ_i^2 de faibles valeurs et R^2 élevée). Sur ces 10 génotypes 8 ont donné des rendements élevés (Express, HD11, HD14, HD15, HD21, HD30, HD39 et HD10).

Les lignées DH26 TE, DH65 TP et DH2 TE ont donné les meilleurs rendements moyens mais sont instables ($S^2_{di} > 0$). La majorité des lignées HDs issues de TE ont montré plus de stabilité que le parent *Tichedrett* et un rendement égal à la moyenne générale (μ), à l'exception des génotypes HD26 TE et HD2 TE. Les lignées les plus instables sont celles issues du croisement *Tichedrett* × *Plaisant* (HD59 TP et HD54 TP). Des corrélations ont été obtenues à l'intérieur des deux groupes de paramètres à concept de stabilité statique (S^2_i et CV%) et dynamique (b_i , R^2 , S^2_{di} , w_i , σ_i^2 , P, HV %, IC %), signifiant la possibilité d'utilisation d'un seul paramètre par groupe.

Mots clefs : Haploïdes doublés d'orge, zones semi-arides, Interaction génotype X environnement, stabilité.

Absract

Production of new barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes with stable grain yield is an important challenge in variable and harsh climatic conditions such semi-arid zones. For this purpose, twenty-nine 6-row barley genotypes, 26 barley anther culture-derived doubled haploid lines obtained from F2 plants of 2 biparental crosses, along with 3 parental cultivars were tested for grain yield and stability level at five semi-arid environments in Algerian highlands barley grown areas. Combined variance analysis showed a very highly significant effect of the environment, the genotype and genotype \times environment interaction (GE). The joint regression was used to analyze the GE interaction. Several stability parameters such, regression coefficient (b_i), deviation from regression (S^2_{di}), Pinthus' coefficient (R^2), environmental variance (S^2_i), coefficient of variation (CV%), Wricke's genotypic ecovalence (W_i), Shukla's stability variance (σ_i^2), heterogeneity variance (%HV), incomplete correlation (%IC) and Plaisted's stability Parameter (P), were used to assess the stability of each genotype. Twenty eight genotypes showed a wide adaptability ($b_i = 1$) and only a single line (DH40) showed a specific adaptation ($b_i < 1$). About 10 genotypes showed yield stability over the environments studied ($S^2_{di} = 0$, low values of W_i , %HV, %CV, %IC, σ_i^2 and high R^2). Upon these 10 genotypes, eight gave high yields (Express, DH11, DH14, DH15, DH21, DH30, DH39 and DH10). The DH26, DH65 and DH2 lines have given the best yields but are unstable. The majority of doubled haploid lines derived from Tichedrett \times Express hybrid, showed more stability than the local parent and a yield equal to the general mean yield. The most unstable lines are those derived from the cross Tichedrett \times Plaisant (DH59 TP and DH54 TP). Significant correlations were obtained within the two groups of parameters of static stability concept and dynamic stability concept, indicating the possibility of using a single stability parameter per group.

Key words: Barley doubled haploids, semi-arid zones, genotype \times environment interaction, stability.

Introduction

En Algérie, la sévérité et la variabilité des conditions de culture de l'orge, se traduisant par la faiblesse et l'instabilité du niveau des rendements, suggèrent une stratégie d'amélioration principalement orientée vers la création de variétés productives, au rendement stable. En effet, dans les régions aux conditions de culture défavorables, la création de variétés à gain génétique et stables constitue un important objectif de recherche (Ceccarelli *et al.*, 1998

Dès les années soixante-dix, la recherche a entrepris de sélectionner des variétés capables d'améliorer sensiblement la production dans ces zones. Cet effort national a permis l'apparition de plusieurs nouvelles variétés mais leur rendement est resté faible et variable avec une capacité différentielle des rendements de certaines de ces nouvelles obtentions variant de -4,5 à 20 % (Bouzerzour *et al.*, 2002). C'est ainsi que les deux variétés Tichedrett et Saïda, issues de la sélection dans les populations locales, demeurent les principales variétés cultivées et couvrent l'essentielle des superficies qu'occupent cette espèce (Benmahammed, 2005 ; Ceccarelli *et al.*, 2011).

Les variétés nouvelles ont le plus souvent été sélectionnées directement sur la base de leur seul niveau de rendement sans tenir compte des caractères adaptatifs (Kadi, 2012). Cette stratégie a permis, en milieux favorables, un gain génétique et l'obtention de cultivars à haut potentiel de production et stable, mais en milieux de culture variables et contraignants des résultats souvent contraires et négatifs sont obtenus (Ceccarelli, 1996). Depuis lors, l'objectif des améliorateurs est de développer de plus en plus de variétés sélectionnées à la fois pour la stabilité et pour le niveau du rendement.

Bien que la sélection pour la stabilité du rendement ne soit pas un objectif généralement aisé à atteindre ; certains auteurs tels que Muhleisen *et al.* (2014) considèrent même qu'il s'agit d'un objectif impossible à atteindre en raison du nombre requis d'environnements à tester qui dépasse la capacité commune des programmes de sélection de l'orge ; il n'en demeure pas moins que cet objectif constitue une préoccupation centrale pour les sélectionneurs comme l'attestent les nombreux travaux menés sur ce sujet, tels que ceux de Bouzerzour *et al.* (1996) ; Bouzerzour *et al.* (2002) ; Unay et Konak (2004) ; Mustatea *et al.* (2009) ; Benmahammed *et al.* (2010) ; Kadi *et al.* (2010) ; Jalata (2011) ; Menad *et al.*

(2011) ; Hanifi-Mekliche *et al.* (2011) ; Jalata (2012) ; Mohammadi *et al.* (2012) ; El-Hashash et El-Absy (2013) ; Hanifi-Mekliche *et al.* (2013) et Feriani *et al.* (2016).

La présence d'interactions génotypes \times environnement est à l'origine du comportement instable des variétés qui montrent des fluctuations de rendements à travers les différents environnements (Becker et Léon, 1988; Alberts, 2004).

Depuis longtemps, l'importance majeure de l'interaction génotype \times environnement dans le processus d'amélioration a été signalée, car pouvant compromettre les progrès de la sélection en rendant difficile la classification et la détermination des variétés supérieures (Eberhart et Russell, 1966 ; Powell *et al.*, 1986).

Plusieurs méthodes d'analyses existent pour exploiter positivement les interactions génotype \times environnement et contrôler les sélections en estimant le degré de stabilité des génotypes, voir pour certaines en estimant leur adaptabilité. Ceci permet de garantir l'introduction de nouveaux génotypes et leur adoption par les paysans des zones défavorables. Toutes ces méthodes comportent des avantages et des inconvénients (Sabaghnia *et al.*, 2013) et montrent entre elles certaines liaisons (Brancourt-Hulmel *et al.*, 1997). Ces analyses sont néanmoins, pour leur conduite, toutes tributaires d'une stratification des environnements et de la réalisation de plusieurs essais d'évaluations à travers les années et les différents sites (Basford et Cooper, 1998; Ülker *et al.*, 2006). Certaines de ces méthodes sont paramétriques, elles regroupent les modèles à effet fixes (méthodes uniparamétriques et multiparamétrique) et les modèles mixtes et les autres sont non-paramétriques.

Les méthodes uniparamétriques, mesurent différents concepts de stabilités tels que décrits par Lin *et al.* (1986) et Becker et Léon (1988) (Brancourt-Hulmel *et al.*, 1997) : Stabilité statique de Becker et Léon (1988) ou encore de type 1 de Lin *et al.* (1986) et stabilité dynamique de Becker et Léon (1988) qui correspond à la stabilité de type 2 et 3 de Lin *et al.* (1986). Elles sont préférées en raison de leur utilisation et interprétation facile (Dehghani *et al.*, 2008). En effet, elles demeurent, jusqu'à présent, largement utilisées comme l'attestent de nombreux travaux récents tels que ceux de Ashraf *et al.*(2001) ; Raffi *et al.* (2004) ; Unay et Konak (2004) ; Ülker *et al.*(2006) ; Mustatea *et al.*(2009) ; Karimizadeh *et al.* (2012) ; Kılıç (2012) ; Sabaghnia *et al.* (2013); Hassan *et al.*(2013) ; Temesgen *et al.*(2015).

Selon Brancourt-Hulmel *et al.* (1997), ces méthodes reposent sur :

- **Un modèle prenant en compte uniquement l'effet génotype**

Les paramètres de stabilité de ce modèle repose sur l'écart par rapport à l'effet moyen du génotype : Deux paramètres intègrent ce modèle, la variance environnementale (S^2_i), telle que décrite par Roemer (1917) citée par Becker et Léon en (1988) et le coefficient de variation environnemental (CV%) tel que décrit par Francis et kannenberg (1978). Un génotype est stable si sa variance mesurée à travers différents environnements est la plus faible ou nulle. De tels génotypes ont des rendements réguliers et ne sont pas sensibles aux variations des environnements. Ces deux paramètres relèvent du concept de stabilité statique ou de type 1 qui est généralement associé à un niveau relativement bas du rendement (Becker et Léon, 1988 ; Lin et Binns, 1991).

- **Un modèle prenant en compte les effets d'interaction génotype-milieu**

Ce modèle recouvre plusieurs méthodes classées selon le concept de stabilité dynamique ou encore de type 2 et 3 suivant lequel, un génotype est stable si sa réponse au milieu ne présente pas de déviation par rapport à la réponse au milieu de l'ensemble des génotypes étudiés. Parmi ces méthodes peuvent être citées :

- l'écovalence (w_i) telle que défini par Wricke (1962) : il s'agit de la contribution du génotype (g) à la somme totale des carrés des écarts de l'interaction,
- la variance de Shukla (σ^2) telle que définie par Shukla (1972) : Il s'agit d'une combinaison linéaire de l'écovalence (Brancourt-Hulmel *et al.*, 1997).
Un génotype stable sera caractérisé par de faibles valeurs de l'écovalence et de la variance de Shukla.
- Le paramètre (P) de Plaisted (1960) : Il s'agit de l'omission successive des génoypes dans l'analyse de la variance combinée pour le calcul de la composante d'interaction chez les génotypes restants. Plus la composante sera grande et plus la stabilité du génotype omis sera grande.

- La régression conjointe et ses dérivées :

Un progrès considérable a été obtenu pour étudier et expliquer les interactions par l'utilisation de cette technique qui reste la technique qui a été la plus largement utilisée (Brancourt-Hulmel *et al.*, 1997).

Reprenant les travaux de Yates et Cochran (1938), Finlay et Wilkinson (1963) caractérisent chaque environnement par le rendement moyen de tous les génotypes évalués dans ce même environnement et calculent pour chaque génotype la régression du rendement individuel sur ce rendement moyen de tous les génotypes dans chaque environnement. Ils caractérisent la variété par son rendement (μ) et son coefficient de régression (b_i) et les classent en variétés à adaptation spécifiques aux environnements favorables ($b_i > 1$; $\mu_{var} > \mu_g$) ; variétés à adaptation spécifiques aux environnements défavorables ($b_i < 1$; $\mu_{var} < \mu_g$) ; variétés pauvrement adaptées à l'ensemble des environnements ($b_i = 1$; $\mu_{var} < \mu_g$) ; variétés moyennement adaptées à l'ensemble des environnements ($b_i = 1$; $\mu_{var} = \mu_g$) ; variété adaptées à l'ensemble des environnements ($b_i = 1$; $\mu_{var} > \mu_g$). Ce paramètre est de concept statique et dynamique (Becker et Léon, 1988).

Eberhart and Russell (1966), ajoutent à ces paramètres la somme des carrés des écarts par rapport à la droite de régression ($S^2 di$). Le génotype est alors défini stable si $b_i = 1$ et $S^2 di = 0$.

Le coefficient de détermination R^2 (Pinthus, 1973) définit le rapport entre la variation expliquée par le modèle et la variation totale. Il reflète la proximité des points expérimentaux autour de la droite de régression.

- **Selon la partition de l'interaction génotype x environnement de Muir**

Muir *et al.* (1992) ont proposé un algorithme pour la décomposition de la variance de l'interaction (GxE) en 2 composantes assignables à des génotypes ou environnements individuels. L'interaction GE peut être exprimée sous forme de corrélation génotypique ou environnementale imparfaite (interaction croisée), changement dans l'ordre de classement ou d'hétérogénéité de la variance entre les environnements, changement de graduation ou de grandeur.

La présente étude a été menée pour (i) analyser la significativité et la magnitude de l'interaction génotype × environnement sur le rendement en grain et évaluer le niveau de stabilité de 26 lignées haploïdes doublées et leurs parents dans cinq environnements semi-arides en vue de sélectionner de nouveaux génotypes à meilleur niveau de stabilité et de rendement (ii) et évaluer le niveau de corrélations entre les paramètres de stabilité utilisés.

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Une population de 26 lignées HDs (Tableau 1), obtenue à partir de la culture d'anthères de deux l'hybrides *Tichedrett* × *Express* et *Tichedrett* × *Plaisant* ont été utilisées dans des essais multi-locaux afin d'évaluer leur comportement et d'analyser leur interaction avec les environnements.

Tableau 1: Liste des génotypes utilisés (3 variétés parentales et 26 lignées haploïdes doublés).

Génotypes	Code	Génotypes	Code
Tichedrett	T	HD26 F2 Tichedrett × Express	HD26
Express	E	HD30 F2 Tichedrett × Express	HD30
Plaisant	P	HD31 F2 Tichedrett × Express	HD31
HD1 F2 Tichedrett × Express	HD1	HD37 F2 Tichedrett × Express	HD37
HD2 F2 Tichedrett × Express	HD2	HD39 F2 Tichedrett × Express	HD39
HD5 F2 Tichedrett × Express	HD5	HD40 F2 Tichedrett × Express	HD40
HD10 F2 Tichedrett × Express	HD10	HD43 F2 Tichedrett × Express	HD43
HD11 F2 Tichedrett × Express	HD11	HD46 F2 Tichedrett × Express	HD46
HD13 F2 Tichedrett × Express	HD13	HD54 F2 Tichedrett × Plaisant	HD54
HD14 F2 Tichedrett × Express	HD14	HD55 F2 Tichedrett × Plaisant	HD55
HD15 F2 Tichedrett × Express	HD15	HD59 F2 Tichedrett × Plaisant	HD59
HD16 F2 Tichedrett × Express	HD16	HD60 F2 Tichedrett × Plaisant	HD60
HD21 F2 Tichedrett × Express	HD21	HD63 F2 Tichedrett × Plaisant	HD63
HD24 F2 Tichedrett × Express	HD24	HD65 F2 Tichedrett × Plaisant	HD65
HD25 F2 Tichedrett × Express	HD25		

2. Méthodes

2.1. Dispositif expérimental et environnements

Vingt-six lignées haploïdes doublées (HDs) et trois variétés parentales ont été évaluées pour leur comportement vis-à-vis du rendement en grain dans cinq environnements semi-arides (Tableau 2, page 50). Les génotypes ont été semés en bloc aléatoire complet à trois répétitions, à une densité de 275 grains/m² sur des parcelles élémentaires de 6 m² (6 lignes de 5 m, avec 20 cm entre les lignes). La mesure du rendement en grain a été effectuée sur les plantes issues de la récolte d'une placette de 2 m linéaires se situant au centre de chaque parcelle élémentaire.

2.2. Variable analysé et études statistiques des données

Le rendement en grain a d'abord été analysé au sein de chaque environnement individuellement, afin d'analyser la performance des lignées HDs pour ce caractère. A cet effet, une analyse de la variance des données du rendement a été réalisée afin de tester l'effet du génotype, d'analyser le comportement et de classer les lignées (HDs) à l'aide du test de Newman et Keuls.

Une analyse de la variance combinée des données de l'ensemble des environnements a été réalisée afin de tester l'effet de l'interaction GE et d'obtenir les composantes de la variance.

Les données sont analysées selon le modèle :

$$X_{ij} = \mu + G_i + E_j + (GE)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Où, X_{ij} est la moyenne du génotype (i) dans l'environnement (j); μ est la moyenne générale de tous les essais; G_i est l'effet du génotype i, E_j est l'effet de l'environnement j, $(GE)_{ij}$ est l'interaction du génotype (i) avec l'environnement (j) et ε_{ij} est la moyenne de l'erreur aléatoire.

La régression conjointe a été utilisée pour analyser l'interaction GE pour le rendement en grain et aborder la stabilité des génotypes. A cet effet, l'analyse de la variance de Finlay et Wilkinson (1963) a été réalisée à l'aide du programme "GEST", élaboré par Ukai (2007), et basé sur le modèle de Eberhart and Russell (1966) :

$$\mu_{ij} = \mu_i + b_i \times I_j + \delta_{ij}$$

où μ_{ij} est la moyenne de la variété (i) dans l'environnement (j) ; μ_i est la moyenne de la variété (i) dans tous les environnements ; b_i est le coefficient de régression mesurant la réponse de la variété (i) aux variations de l'environnement ; I_j est l'indice environnemental (moyenne de toutes les variétés dans l'environnement j) et ij est la déviation par rapport à la régression linéaire.

Chaque génotype a été caractérisé par sa moyenne μ_i , son coefficient de régression (b_i) et sa déviation de la régression ($S^2 di$), celui-ci est à large adaptation si $b_i = 1$, il est stable si $b_i = 1$ et $S^2 di = 0$. Les tests de Student et de Fisher ont été respectivement utilisés pour tester la significativité de la différence du coefficient de régression (b_i) par rapport à "1" et de la déviation de la régression ($S^2 di$) par rapport à "0" pour chaque lignée HDs. L'écovalence (w_i) (Wricke, 1962), la stabilité de la variance de Shukla (σ_i^2) (Shukla, 1972), l'hétérogénéité de la variance (% HV) et les corrélations incomplètes (% IC) (Muir *et al.*, 1992) ont également été estimées à partir du programme "GEST". Le coefficient de détermination R^2 (Pinthus, 1973), la variance environnementale spécifique à chaque génotype (S^2_i) (Roemer, 1917) ainsi que le paramètre de stabilité de Plaisted (Plaisted, 1960) ont été rapportés pour chaque génotype. La stabilité des génotypes a également été abordée à partir du coefficient de variation (CV %) tel que défini par Francis et kannenberg (1978). Les génotypes ont été considérés d'autant plus stables que la valeur de ces paramètres est faible, à l'exception de R^2 et Plaisted dont les valeurs les plus élevées expriment le plus de stabilité. Le degré de liaison entre les paramètres de stabilité utilisés a été estimé à partir des corrélations de Pearson.

Tableau 2 : Description des environnements expérimentaux.

Site expérimental	Code	Coordonnées géographiques	Altitude (m)	Type de climat	Pluviométrie cumulée ^c (mm)
Station expérimentale de l'ITGC ^a d'EL- Khroub	E1-Khroub 2010-11	Hautes plaines 36° 26' N 6° 66' E	640	Type méditerranéen Semi-aride	593
	E2-Khroub 2011-12				470
Sidi Bel Abbas	E3-SBB 2011-12	Hauts plateaux 35°11' N 0°38' O	486	Type méditerranéen Semi-aride	335
Station expérimentale de l'ITGC de Sétif	E4-Setif 2011-12	Haut plateaux 36° 09' N 5°26' E	981	Type continental, semi-aride, à hiver froid et pluvieux, à été chaud et sec. Risque précoce de sirocco et de gel tardif au printemps	303
Station expérimentale de l'INRAA ^b de Sétif	E5-Setif 2012-13	Haut plateaux 36° 15' N 5° 37' E	1081		394

^a Institut Technique des Grandes Cultures, ^b Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, ^c de Septembre à Juin

3. Résultats et discussion

3.1. Analyse de la performance du rendement en grain des géotypes par environnement

L'analyse de la variance du rendement en grain par environnement met en évidence un effet géotype significatif pour les environnements E1, E2, E3, E5 ($p < 0,001$) et E4 ($p < 0,05$) (Tableau 3, page 52). Cet effet indique l'existence d'une diversité génétique utilisable pour la sélection. Le rendement moyen en grain par environnement varie de 20 q/ha à 39 q/ha (tableau 4, page 52). Le rendement en grain le plus élevé est obtenu au niveau d'E2-Khroub 2011-12 (39 q/ha), suivi de celui obtenu au niveau de E3-SBB 2011-2012 (38,4 q/ha), ces deux sites sont les plus favorables et occupent la première place (selon le test de Newman Keul's). Par contre E5-Sétif 2012-13 et E1-Khroub 2010-11 occupent la seconde place avec des rendements respectifs de 31,8 q/ha et 31,3 q/ha. Le site expérimental E4-Sétif 2011-12 constitue l'environnement le moins favorable, enregistrant le rendement moyen le plus faible, 20 q/ha (Tableau 4, page 52). La moyenne des rendements par géotype (Tableau 5, page 53) varie de 12,3 q/ha (HD54 sur le site E4 de Sétif) à 57 q/ha, (HD59 sur le site E3 de Sidi bel

Abbes). Ainsi, au niveau du site E1-Khroub 2010-11, le rendement en grain varie de 18,5 q/ha enregistré par la lignée HD59, à 42,2 q/ha pour la lignée HD63. Au niveau d'E2-Khroub 2011-12, la lignée HD31 enregistre le rendement le plus bas (28,4 q/ha), alors que le parent Tichedrett et la lignée HD65 enregistrent les valeurs les plus élevées avec respectivement, 50,7 et 50,2 q/ha. Pour le site E3-SBB 2011-12, c'est la lignée HD40 qui enregistre la plus petite valeur du rendement (24,8 q/ha) et la lignée HD59, la valeur la plus élevée (57 q/ha).

Au niveau d'E4-Sétif 2011-12, la lignée HD65 se distingue une deuxième fois et enregistre la valeur la plus importante (26,4 q/ha), cette première place est également occupée par la lignée HD26 (25,6 q/ha), qui se distingue par un deuxième meilleur score (45,5 q/ha) au niveau du site expérimental E5- Sétif 2012-13. Les rendements les plus bas au niveau des deux derniers sites cités sont respectivement enregistrés par la lignée HD54 (12,3 q/ha) et la lignée HD24 (19,7 q/ha). Le classement différentiel des lignées à travers les environnements indique la présence d'une interaction GE (Becker *et al.*, 1988), laquelle est confirmée par l'analyse de la variance combinée (Tableau 6, page 54).

Source de la variation	Carrés moyens des écarts					
	d.f	E1-Khroub	E2-Khroub	E3-SBB	E4-Sétif	E5- Sétif
Génotype	28	55,19***	102,3***	203,8***	33,35*	152,88***
Erreur	58	17,35	19,6	17,00	17,31	23,97
Racine carré de l'erreur		4,16	4,43	4,12	4,16	4,90
CVr%		13,3	11,3	10,7	20,8	15,4

*, *** respectivement significatif à $p < 0,05$ et $p < 0,001$.

Environnements	¹ E _j (q/ha)	² IC 95% (N=87)	³ I _j (E _j -μ) (q/ha)	I _j (%)	Sig. (H ₀ :E _j = μ) (t-test)	Diff.	Potentialités des environnements	Variance génotypique (n=87)	⁴ ETR (q/ha)
E2-Khroub-2011-12	39.0 ^a	37,5- 40,4	+6,9	+21,5	***	E2>μ	Favorable	46,5	4.43
E3-SBB-2011-12	38.4 ^a	36,6- 40,3	+6,3	+19,9	***	E3>μ	Favorable	77,8	4.12
E1-Khroub-2010-11	31.3 ^b	30,1- 32,5	-0,8	-2,4	NS	E1=μ	Moyen	29,7	4.16
E5-Sétif-2012-13	31.8 ^b	30,1- 33,5	-0,3	-0,9	NS	E5=μ	Moyen	65,9	4.90
E4-Sétif-2011-12	20.0 ^c	19,0- 21,0	-12,1	-37,7	***	E4<μ	Défavorable	22,5	4.16
Moyenne générale μ (q/ha)	32.1	31,2- 33,0							

*** significatifs au seuil de 0,001 ; NS : Non significatif au seuil de 0,05. **1** : Rendement moyen du j^{ème} environnement ; les valeurs affectées de la même lettre ne sont pas significativement différentes (test de Newman et Keuls) au seuil de 5%. **2** : intervalle de confiance à 95% de sécurité. **3** : Indice d'environnement. **4** : écart-type résiduel pour chaque essai (ANOVA). μ : Rendement moyen général de tous les essais.

Tableau 5 : Rendement en grain moyen^a (q/ha) de 29 géotypes d'orge (26 HDs et 3 parents) évalués dans 5 environnements.

Géotypes	Environnements					
	E1-Khroub	E2-Khroub	E3-SBB	E4-Sétif	E5-Sétif	Moyenne du rendement (N=5)
Tichedrett	28,0±0,7 ^{bc}	50,7±1,5 ^a	37,8±2,8 ^{def}	23,5±1,9 ^{ab}	23,1±2,7 ^{defg}	32,6 ^{bcd}
Express	33,1±2,1 ^{abc}	38,4±4,7 ^{abcde}	36,7±0,4 ^{def}	22,4±1,6 ^{ab}	34,4±2,1 ^{abcdef}	33,0 ^{bcd}
Plaisant	31,9±1,1 ^{abc}	41,9±3,7 ^{abcd}	30,8±0,2 ^{efg}	18,6±2,6 ^{ab}	22,6±2,0 ^{efg}	29,2 ^{de}
DH1	29,7±2,1 ^{abc}	37,9±1,7 ^{abcde}	37,5±2,6 ^{def}	25,4±2,0 ^{ab}	40,8±0,5 ^{ab}	34,3 ^{bcd}
DH2	38,3±1,2 ^{ab}	47,0±0,1 ^{ab}	33,7±0,4 ^{defg}	23,6±2,4 ^{ab}	42,0±1,0 ^{ab}	36,9 ^{abc}
DH5	28,7±2,0 ^{bcd}	33,7±1,6 ^{bcde}	25,8±1,9 ^{fg}	16,7±2,0 ^{ab}	28,9±5,8 ^{bcdefg}	26,8 ^e
DH10	29,1±0,9 ^{bcd}	30,9±2,7 ^{de}	37,0±1,4 ^{def}	18,0±2,0 ^{ab}	29,0±0,9 ^{bcdefg}	28,8 ^{de}
DH11	31,0±1,9 ^{abc}	35,9±2,4 ^{bcde}	41,3±1,5 ^{cde}	19,5±1,3 ^{ab}	31,0±1,5 ^{bcdefg}	31,7 ^{bcd}
DH13	31,9±2,5 ^{abc}	42,8±0,7 ^{abcd}	39,7±1,3 ^{cde}	18,8±2,1 ^{ab}	39,1±0,3 ^{abc}	34,5 ^{bcd}
DH14	32,5±1,3 ^{abc}	44,7±4,4 ^{abc}	34,0±3,5 ^{defg}	19,3±3,3 ^{ab}	37,4±2,7 ^{abcd}	33,6 ^{bcd}
DH15	33,4±0,3 ^{abc}	34,0±2,1 ^{bcde}	32,6±0,6 ^{efg}	19,1±2,9 ^{ab}	32,3±3,9 ^{abcdefg}	30,3 ^{de}
DH16	30,5±4,0 ^{abc}	39,6±1,2 ^{abcde}	34,5±1,5 ^{defg}	22,6±1,6 ^{ab}	40,2±2,9 ^{abc}	33,5 ^{bcd}
DH21	32,2±0,8 ^{abc}	34,0±2,5 ^{bcde}	35,9±1,8 ^{defg}	18,3±3,8 ^{ab}	30,0±2,8 ^{bcdefg}	30,1 ^{de}
DH24	35,5±2,5 ^{abc}	36,6±1,6 ^{bcde}	45,0±1,7 ^{bcd}	22,6±2,4 ^{ab}	19,7±2,3 ^g	31,9 ^{bcd}
DH25	35,2±1,6 ^{abc}	39,6±2,0 ^{abcde}	34,5±1,7 ^{defg}	13,2±1,4 ^{ab}	25,9±2,4 ^{cdefg}	29,7 ^{de}
DH26	31,7±0,8 ^{abc}	42,4±1,1 ^{abcd}	51,8±3,0 ^{ab}	25,6±0,5 ^a	45,5±2,5 ^a	39,4 ^a
DH30	27,8±3,3 ^{bc}	43,1±1,1 ^{abcd}	29,3±4,8 ^{efg}	19,3±2,7 ^{ab}	34,6±3,8 ^{abcdef}	30,8 ^{de}
DH31	31,2±2,4 ^{abc}	28,4±2,7 ^e	38,0±2,6 ^{def}	21,5±2,4 ^{ab}	37,4±1,2 ^{abcde}	31,3 ^{de}
DH37	28,2±4,5 ^{bcd}	40,6±2,1 ^{abcde}	33,7±2,2 ^{defg}	22,4±0,8 ^{ab}	39,1±1,3 ^{abc}	32,8 ^{bcd}
DH39	30,2±3,0 ^{abc}	40,3±4,2 ^{abcde}	40,5±2,6 ^{cde}	16,3±0,6 ^{ab}	27,4±4,6 ^{bcdefg}	31,0 ^{de}
DH40	28,2±3,3 ^{bc}	33,3±1,9 ^{cde}	24,8±0,8 ^g	21,2±1,4 ^{ab}	26,0±1,5 ^{cdefg}	26,7 ^e
DH43	30,1±1,7 ^{abc}	47,1±0,8 ^{ab}	35,5±1,8 ^{defg}	17,9±1,1 ^{ab}	36,2±2,8 ^{abcde}	33,4 ^{bcd}
DH46	30,8±1,4 ^{abc}	43,0±1,6 ^{abcd}	36,0±0,9 ^{defg}	20,0±1,9 ^{ab}	39,5±0,3 ^{abc}	33,9 ^{bcd}
DH54	36,1±2,5 ^{abc}	30,7±0,1 ^{de}	52,0±2,9 ^{ab}	12,3±2,6 ^b	21,2±1,3 ^{fg}	30,5 ^{de}
DH55	24,6±2,8 ^{cd}	37,7±3,3 ^{abcde}	50,3±4,8 ^{ab}	17,6±2,6 ^{ab}	36,5±2,7 ^{abcde}	33,3 ^{bcd}
DH59	18,5±0,1 ^d	40,0±4,7 ^{abcde}	57,0±0,0 ^a	18,4±4,3 ^{ab}	24,3±2,0 ^{defg}	31,6 ^{cde}
DH 60	33,0±3,8 ^{abc}	30,8±4,3 ^{de}	51,3±3,3 ^{ab}	19,8±2,5 ^{ab}	28,8±7,0 ^{bcdefg}	32,7 ^{bcd}
DH 63	42,2±0,6 ^a	35,4±2,1 ^{bcde}	29,2±3,0 ^{efg}	19,0±3,9 ^{ab}	23,2±2,0 ^{defg}	29,8 ^{de}
DH 65	34,1±4,8 ^{abc}	50,2±0,6 ^a	48,7±3,0 ^{abc}	26,4±3,4 ^a	25,8±2,6 ^{cdefg}	37,0 ^{ab}
Me ^b ± se	31,3^b±0,8±	39,0^a±1,1	38,4^a±1,5	20,0^c±0,6	31,8^b±1,3	32,1±0,53
Variance	18,4	34,1	68,0	11,1	51,0	8,0
CV%	13,7	14,9	21,4	16,5	25,5	8,8

a: Moyenne ±erreur standard (±se). b: Moyenne du rendement par essai (q/ha). Les valeurs d'une même colonne affectées de lettres différentes indiquent une différence significative selon le test de Newman Keuls à P<0,05.

La proportion de la variation la plus importante (57,2 %) a pour source l'environnement, indiquant des environnements contrastés. La part de la variation due au génotype ne représente que 9,4 %, cette faible proportion s'explique certainement par l'origine même des lignées évaluées. En effet, toutes ces lignées ont en commun un seul et même parent local, Tichedrett, de plus, vingt de ces lignées sont issues d'un seul et même croisement (Tichedrett × Express), le reste des lignées sont issues du croisement Tichedrett × Plaisant. La part de la variation expliquée par l'interaction GE est élevée, elle représente 33,4 % du total de la somme des carrés des écarts (G + E + GEI) (Tableau 6). Ces proportions, la plus grande part représentée par l'environnement suivi de l'interaction GE, puis la plus faible pour le génotype, sont en accord avec celles rapportées par Bantayehu (2009) et Kadi (2012). Par ailleurs, la confirmation de la présence de l'interaction GE, nécessite de mener l'analyse de la stabilité du rendement en grain pour identifier les lignées stables et performantes.

Tableau 6: Analyse de la variance du rendement en grain (q/ha) de 29 génotypes d'orge (26 HDs et 3parents) évalués dans 5 environnements.						
Source de la variation	Degrés de liberté	SCE	CME	Variation (% SCE de (G+E+GEI))		
Génotype	28	3380,7	120,7***	9,4		
Environnement	4	20468,2	5117,1***	57,2		
génotype x Environnement	112	11951,9	106,7***	33,4		
Block	2	161,6	80,8**			
Moyenne générale	32,1					
Racine carré de l'erreur	4,41					
CVr(%)	13,7					
, * respectivement significatif à p<0, 01, et p<0,001. NS= Non significatif au seuil de 5 %						

3.2. Analyse de la stabilité du rendement en grain et performance moyenne des variétés parentales et des lignées HDs

L'analyse de la variance de Finlay et Wilkinson (Tableau 7) révèle que la composante linéaire (hétérogénéité des régressions) est non significative par contre la composante non linéaire (déviation par rapport à la régression) est significative ; ceci indique que toute l'interaction est expliquée par la composante non linéaire (85,7 %) alors que l'hétérogénéité des régressions ne représente que 14,3 % de l'interaction GE.

Tableau 7: Analyse de la variance de Finlay-Wilkinson pour la stabilité du rendement en grain sur cinq environnements.						
Source de la variation	ddl	SCE	Variation (% SCE de G+E+IGE)	Variation (% SCE de IGE)	CME	F _{obs}
Génotype (G)	28	1144,138	9,6		40,862***	2,27
Environnement (E)	4	6769,794	56,8		1692,449***	94,03
Génotype x Environnement (IGE)	112	4014,427	33,7		35,843***	1,99
Hétérogénéité des régressions	28	573,76		14,3	20,491 ^{NS}	1,14
Déviations par rapport à la régression	84	3440,668		85,7	40,96***	2,29
erreur groupée	224	4144,4			18,5	

*** Significatif à p<0,001. NS: non significatif

Les 28 des génotypes testés ont des coefficients de régression $b_i = 1$ (Table 8, page 60 ; Annexe 2), ils présentent donc une réponse moyenne à la variation de l'environnement conformément à Becker *et al.*, (1988). Ce sont des génotypes à large adaptation. Une seule lignée, HD40, a une pente b_i significativement < 1 , elle se caractérise donc par une adaptation spécifique.

Conformément à la définition de l'adaptabilité de Finlay et Wilkinson (1963), les lignées DH26, DH65 et DH2 qui se caractérisent par des pentes égales à l'unité et une performance du rendement en grain significativement supérieur à la moyenne générale (μ) (Tableau 8, page 60), respectivement égale à $39,4^{+***}$, $37,0^{+*}$ et $36,9^{+**}$, sont des lignées bien adaptées aux cinq environnements testés. La lignée DH5 a également une pente égale à 1 mais un rendement en grain significativement inférieur à la moyenne générale (μ), $26,8^{**}$, cette lignée a une mauvaise adaptation à l'ensemble des environnements testés. Quant à la lignée HD40 dont la pente est significativement inférieure à 1 et un rendement significativement inférieur à la moyenne générale (μ), ($26,7^{***}$), elle se caractérise par une adaptation spécifique aux environnements défavorables. Les variétés parentales et le reste des lignées HDs ont des pentes égales à l'unité et un rendement égal à la moyenne générale, ce sont des génotypes à adaptation générale et à stabilité moyenne. Conformément à Eberhart and Russell (1966), sur la base des deux paramètres (b_i) et (S^2_{di}), les lignées HD14, HD11, HD39, HD30, HD15, HD21, HD10, HD5 et le parent Express, qui ont des pentes égales à 1 et des déviations de la régression $S^2_{di} = 0$, sont des lignées stables. Le reste des lignées ont des S^2_{di} significativement différents de 0, elles sont donc, sur la base de ce paramètre, caractérisées par une instabilité (Tableau 8, page 60; Figure 1, page 58 et Annexe 2).

Le coefficient de détermination (R^2) de Pinthus (1973), varie de 25,6 % à 84,8 %, les 10 lignées les plus instables, aux coefficients les plus faibles, variant de 25,6% à 51,1%, sont respectivement, HD63, HD31, HD40, HD60, HD5, DH24, DH1, HD30, Tichedrett et HD37. Les dix premières lignées les plus stables, celles dont les coefficients (R^2) sont les plus élevés, variant de 84,8 % à 64,4 %, sont respectivement, HD13, HD11, HD25, HD43, HD39, HD10, HD46, HD21, Express et HD26 (Tableau 8, page 60).

La variance environnementale spécifique à chaque génotype (S^2_i) varie de 20,0 à 278,6. Considérant ce paramètre, les dix génotypes les plus stables, S^2_i variant de 20 à 57,4, sont respectivement HD40, Express, HD15, HD5, HD31, HD10, HD21, HD16 et HD37 et les dix plus instables, S^2_i variant de 109,6 à 278,6, sont respectivement HD25, HD24, HD26, HD43, HD60, Tichedrett, HD65, HD55, HD54 et HD59 (Tableau 8, page 60).

Le coefficient de variation (CV %) varie de 16,8 à 52,8, selon ce paramètre, les génotypes les plus stables sont HD40, HD1, Express, HD15, HD16 et les plus instables sont HD59, HD54, HD55, Tichedrett, HD25 et HD60 (Tableau 8, page 60).

L'analyse des résultats de l'écovalence (W_i) et de la stabilité de la variance de Shukla (σ_i^2) varient respectivement de 15,2 à 568,4 et de 2,7 à 151,3. L'analyse de ces deux paramètres montre que les génotypes les plus stables sont respectivement la variété introduite Express avec $w_i = 15,2$ et $\sigma_i^2 = 2,7$, la lignée HD11 ($w_i = 17,2$ et $\sigma_i^2 = 3,3$), la lignée HD10 ($w_i = 28,8$ et $\sigma_i^2 = 6,4$), la lignée HD39 ($w_i = 34,1$ et $\sigma_i^2 = 7,8$), la lignée HD13 ($w_i = 43,8$ et $\sigma_i^2 = 10,4$), alors que les génotypes les plus instables sont la variété locale Tichedrett ($w_i = 236,6$ et $\sigma_i^2 = 62,2$), la lignée HD 60 ($w_i = 240,9$ et $\sigma_i^2 = 63,4$), la lignée HD63 ($w_i = 266,5$ et $\sigma_i^2 = 70,2$), la lignée HD54 ($w_i = 432$ et $\sigma_i^2 = 114,7$) et la lignée HD59 ($w_i = 568,4$ et $\sigma_i^2 = 151,3$) (Tableau 8, page 60).

Le paramètre de stabilité de Plaisted (P) varie de 110,2 à 94,4, identifiant ainsi différents niveaux de stabilité. Le niveau le plus stable est caractérisé par Express (P = 110,2), HD21 (P = 110,2), HD11 (P = 110,1), suivi des lignées HD10 (P = 109,8), HD39 (P = 109,7), HD13 (P = 109,4) et HD15 (P = 109,3). Le niveau le plus instable est caractérisé par Tichedrett (P = 103,9), suivi des lignées HD60 (P = 103,7), HD63 (P = 103,0), HD54 (P = 98,2) et HD59 (P = 94,4) représentant la lignée la plus instable (Tableau 8, page 60).

L'hétérogénéité de la variance (HV %) ne représente que 21,01 % (Tableau 8, page 60) de l'interaction GE, son utilisation dans l'évaluation de la stabilité est peu efficace, comme le rapportent Grada et Ciulca (2013), contrairement à la corrélation incomplète (CI %) qui explique 79,99 % de l'interaction GE (Tableau 8, page 60). Ainsi sur la base de ce dernier paramètre, le cv. Express (IC % = 1,4 %), les lignées HD10 (IC % = 1,8) et HD15 (IC % = 1,9 %) sont les plus stables à travers les différents environnements et les lignées HD63 (5,9 %), HD54 (6,4 %) et HD59 (7,2 %), sont les plus instables à travers les cinq environnements (Tableau 8, page 60).

Le cv Express, classé le plus stable selon IC %, se situe parmi les plus instables selon l'hétérogénéité de la variance (HV % = 3,9). Les valeurs les plus élevées des HV % sont 9,8 % et 14,9 % obtenues respectivement par HD54 et HD59 qui sont donc les plus instables. Ces lignées sont également les plus instables sur la base de l'écovalence (w_i), de la stabilité de la variance de Shukla (σ_i^2), de la corrélation incomplète, de Plaisted, du CV % et de la variance (S_i^2). Si la majorité des paramètres cités placent, sans équivoque, ces deux lignées aux rangs des plus instables (Tableau 8, page 60), cela n'est pas le cas pour le classement du reste des lignées qui montre certaines différences en fonction des paramètres.

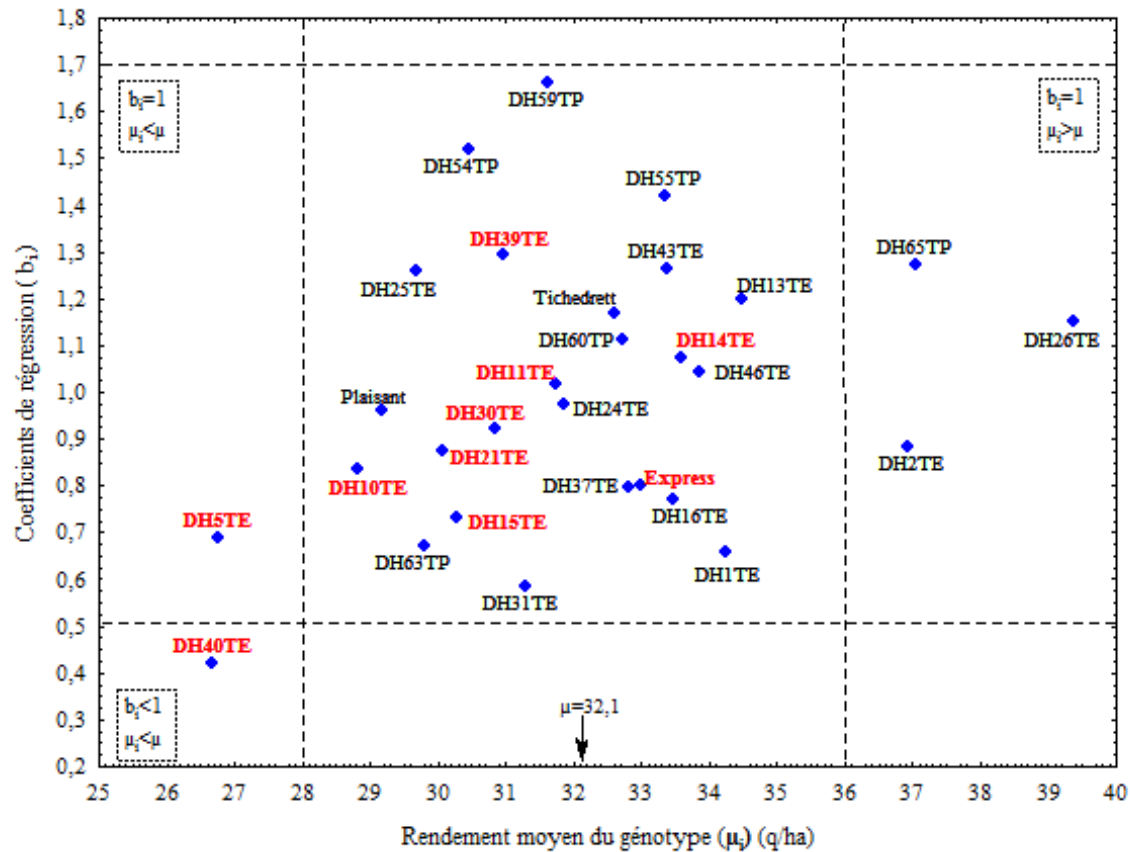


Figure 1. Diagramme d'adaptabilité et de stabilité d'Eberhart et Russel (1966) illustrant la réponse de chaque génotype à la variation de l'environnement par la relation entre le coefficient de régression (pente b_i) et le rendement moyen de chaque génotype dans tous les environnements (μ_i). $S^2 d_i$: Variance de la déviation de la régression (non linéarité). μ : Rendement moyen général de tous les essais. Les génotypes en caractères gras sont stables ($S^2 d_i = 0$). Les barres en trait discontinu délimitent les intervalles de fluctuation de (μ_i) et b_i au seuil de 5% (t-test).

Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres auteurs qui rapportent des classements différents des lignées selon les paramètres (Bantayehu 2009, El-Hashash et El-Absy, 2013, Sabaghnia *et al.*, 2013). Il est également important de signaler, pour ces environnements testés, que le parent introduit Express, bien que de même niveau de performance que le parent local Tichedrett, a montré généralement, un bon niveau de stabilité contrairement au parent local et au cv. Plaisant (Tableau 8). Par ailleurs, la lignée HD5 qui dérive du croisement entre le parent local et le parent introduit Express, a montré une importante stabilité et une performance du rendement en grain inférieur à la moyenne (μ) et aux deux parents. Cela est en accord avec les conclusions de Bouzerzour *et al.*, (1998), qui rapportent qu'en milieux contraignants les géotypes les plus stables sont les moins performants. Le reste des lignées issues de ce croisement a montré le plus souvent, plus de stabilité que le parent Tichedrett (Tableau 8). Ces lignées ont montré des performances en rendement en grain égales à la moyenne générale (μ), excepté les lignées HD26 et HD2 qui ont donné des rendements en grain supérieurs à la moyenne (μ) et aux deux parents.

Les lignées qui ont montré le plus d'instabilité sont celles issues du croisement entre la variété locale et le cv. Plaisant (Tableau 8), ceci est peut-être le résultat du niveau d'instabilité de ces deux parents. La grande instabilité des lignées HDs qui en sont issues serait alors due à des transgressions négatives résultant de l'association des allèles à effets négatifs contenus dans chaque parent (Urbano et Frey 1980 ; Reiseberg *et al.*, 2003). Les deux lignées provenant de ce croisement et montrant le plus d'instabilité sont HD59 et HD54. Concernant les lignées HDs issues de ce croisement, hormis la lignée HD 65 qui se caractérise par un rendement en grain supérieur à la moyenne générale (μ) et aux deux parents Tichedrett et Plaisant, le reste se caractérise par des rendements en grain égal à la moyenne μ (voir tableau 5, page 53 ; tableau 8).

Tableau 8 : Moyenne des rendements et paramètres de stabilité du rendement en grain de 29 géotypes d'orge (3 parents et 26 HDs).

Géotypes	μ^a (q/ha)	b_i^c	S^2_{di}	R^2 (%)	S^2_i	CV%	W_i	σ_i^2	P	HV (%)	IC (%)
DH26	39,4 ^{****}	1,15 ^{NS} (bi=1)	137,1 ^{***}	64,4	112,1	26,9	140,7	36,5	106,6	2,1	3,8
DH65	37,0 ^{†*}	1,27 ^{NS} (bi=1)	177,1 [*]	57,7	139,2	31,9	194,5	50,9	105,1	3,2	4,4
DH2	36,9 ^{***}	0,88 ^{NS} (bi=1)	131,8 ^{***}	55,3	78,8	24,0	136,3	35,3	105,1	1,8	3,9
DH13	34,5 ^{NS}	1,20 ^{NS} (bi=1)	34,2 [*]	84,8	92,8	27,9	43,8	10,4	109,4	1,8	2,4
DH1	34,3 ^{NS}	0,66 ^{NS} (bi=1)	63,7 [*]	46,7	41,4	18,8	90,3	22,9	108,0	3,6	2,7
DH46	33,9 ^{NS}	1,05 ^{NS} (bi=1)	65,6 ^{**}	75,3	80,4	26,5	66,3	16,5	108,7	1,8	2,8
DH14	33,6 ^{NS}	1,07 ^{NS} (bi=1)	72,6 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	60,6	85,6	27,5	75,4	18,9	108,5	1,7	2,9
DH16	33,5 ^{NS}	0,77 ^{NS} (bi=1)	71,0 [*]	51,4	52,6	21,7	83,8	21,2	108,3	2,7	2,8
DH43	33,4 ^{NS}	1,27 ^{NS} (bi=1)	74,2 ^{**}	78,0	112,3	31,8	93,1	23,7	108,0	2,2	3,1
DH55	33,3 ^{NS}	1,42 ^{NS} (bi=1)	166,3 [*]	63,0	159,8	37,9	206,7	54,2	104,7	4,5	4,3
Express	33,0 ^{NS}	0,80 ^{NS} (bi=1)	6,0 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	67,1	38,3	18,8	15,2	2,7	110,2	3,9	1,4
DH37	32,8 ^{NS}	0,80 ^{NS} (bi=1)	80,6 [*]	51,1	57,4	23,1	91,4	23,2	108,0	2,4	3,0
DH60	32,7 ^{NS}	1,11 ^{NS} (bi=1)	241,5 [*]	39,7	132,9	35,2	240,9	63,4	103,7	3,0	5,2
Tichedrett	32,6 ^{NS}	1,17 ^{NS} (bi=1)	227,0 ^{***}	50,8	137,1	35,9	236,6	62,2	103,9	3,2	5,1
DH24	31,9 ^{NS}	0,97 ^{NS} (bi=1)	219,5 ^{***}	45,7	110,4	33,0	218,4	57,3	104,4	2,1	5,1
DH11	31,7 ^{NS}	1,02 ^{NS} (bi=1)	18,3 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	83,1	65,4	25,5	17,2	3,3	110,1	2,1	1,9
DH59	31,6 ^{NS}	1,66 ^{NS} (bi=1)	465,9 ^{***}	53,9	278,6	52,8	568,4	151,3	94,4	14,9	7,2
DH31	31,3 ^{NS}	0,59 ^{NS} (bi=1)	108,3 ^{**}	34,6	46,4	21,8	140,6	36,4	106,5	3,2	3,6
DH39	31,0 ^{NS}	1,30 ^{NS} (bi=1)	13,2 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	76,1	101,6	32,6	34,1	7,8	109,7	1,9	2,2
DH30	30,8 ^{NS}	0,92 ^{NS} (bi=1)	110,5 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	47,1	77,6	28,6	114,1	29,3	107,4	1,8	3,5
DH54	30,5 ^{NS}	1,52 ^{NS} (bi=1)	372,5 ^{***}	56,4	228,2	49,6	432,0	114,7	98,2	9,8	6,4
DH15	30,3 ^{NS}	0,73 ^{NS} (bi=1)	31,2 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	58,9	39,3	20,7	47,7	11,5	109,3	3,9	1,9
DH21	30,1 ^{NS}	0,87 ^{NS} (bi=1)	14,1 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	69,3	48,2	23,1	45,0	10,7	110,2	3,4	2,0
DH63	29,8 ^{NS}	0,67 ^{NS} (bi=1)	240,0 ^{**}	25,6	86,4	31,2	266,5	70,2	103,0	1,7	5,9
DH25	29,7 ^{NS}	1,26 ^{NS} (bi=1)	67,1 [*]	78,4	109,6	35,3	83,0	21,0	108,3	2,1	2,9
Plaisant	29,2 ^{NS}	0,96 ^{NS} (bi=1)	109,2 ^{**}	57,3	81,3	30,9	111,5	28,6	107,5	1,7	3,5
DH10	28,8 ^{NS}	0,84 ^{NS} (bi=1)	24,0 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	75,3	47,2	23,8	28,8	6,4	109,8	3,1	1,8
DH5	26,8 ^{***}	0,69 ^{NS} (bi=1)	47,8 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	43,6	39,8	23,6	71,1	17,8	108,6	3,8	2,3
DH40	26,7 ^{****}	0,42 ^{NS} (bi=<1)	38,3 ^{NS} ($S^2_{di}=0$)	35,2	20,0	16,8	120,9	31,1	107,3	7,1	2,2
μ^b	32,1										
Total										21,01	78,99

a: Rendement en grain de chaque géotype à travers l'ensemble des environnements. **b:** μ = Moyenne générale du rendement en grain des 29 géotypes à travers les 05 environnements. +*, +**, +***: Respectivement significativement supérieur à μ à $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ conformément au test de student; **ns:** non significativement différent de μ selon le test de student; -, **, -***: Respectivement significativement inférieur à μ à $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ selon le test de student. **bi:** Coefficient de régression, **c:** L'analyse de la régression linéaire donne tous les bi sont significativement différent de zéro. bi est testé à "1" conformément au test de student, at (0.05). **S^2_{di} :** Déviation de la régression, S^2_{di} est testé à "0" à partir du test de Fisher. **R^2 %:** coefficient de détermination. **S^2_i :** Variance phénotypique. **CV %:** coefficient de variation (%). **W_i :** Ecovalence de Wricke. **σ_i^2 :** Stabilité de Shukla. **P:** Paramètre de stabilité de Plaisted. **%HV:** Hétérogénéité de la variance (%). **% CI:** corrélation incomplète.

3.3. Evaluation du niveau de corrélations des paramètres de stabilité utilisés

Le rendement en grain n'a montré aucune corrélation significative avec les paramètres de stabilité utilisés (Tableau 9). Ce résultat est conforme à ceux de Sabaghnia *et al.* (2013) et El-Hashash et El-Absy (2013) qui n'obtiennent aucune corrélation entre certain paramètre de stabilité et le caractère rendement en grain.

Les paramètres utilisés dans cette analyse font référence à deux concepts de stabilités, statique et dynamique. Les corrélations entre paramètres du groupe à concept statique ($CV\%$ - S^2_i , $CV\%$ - b_i , S^2_i - b_i) sont toutes positives et significatives à $P < 0,001$, ceci indique une tendance à une estimation similaire de la stabilité des lignées par ces paramètres.

Pour le second groupe à concept dynamique, toutes les corrélations entre les différents paramètres de ce groupe sont significatives (à $P < 0,05$ et à $P < 0,001$) sauf pour le paramètre $HV\%$ qui ne montre aucune relation avec b_i et R^2 (Tableau 9). A l'intérieur de ce groupe des corrélations positives et négatives sont identifiées. Les corrélations significatives et négatives entre R^2 et S^2_{di} , R^2 et W_i , R^2 et σ_i^2 , R^2 et $IC\%$ ainsi qu'entre P et b_i , P et S^2_{di} , P et W_i , P et σ_i^2 , P et $HV\%$ et P et $IC\%$ (Tableau 9) indiquent une évaluation similaire du niveau de stabilité des génotypes par ces paramètres. Il en est de même pour le reste des corrélations significatives et positives à l'exception de la corrélation entre R^2 - b_i qui suggère une évaluation opposée.

A l'exception de l'absence de relation entre $CV\%$ et R^2 et S^2_i et R^2 le reste des paramètres appartenant aux deux différents groupes, statiques et dynamiques, ont également montré des corrélations significatives (à $P < 0,05$ et à $P < 0,001$) entre eux : $(CV\% - S^2_{di})^{***}$, $(CV\% - W_i)^{***}$, $(CV\% - \sigma_i^2)^{***}$, $(CV\% - P)^{***}$, $(CV\% - HV\%)^{**}$, $(CV\% - IC\%)^{***}$, $(S^2_i - S^2_{di})^{***}$, $(S^2_i - W_i)^{***}$, $(S^2_i - \sigma_i^2)^{***}$, $(S^2_i - P)^{***}$, $(S^2_i - HV\%)^{**}$, $(S^2_i - IC\%)^{***}$. L'ensemble de ces corrélations positives, comme les deux négatives entre $CV\%$ et P et S^2_i et P indiquent une estimation similaire de la stabilité par ces différents paramètres.

Les résultats obtenus par Bantayehu (2009) dans une étude portant sur l'analyse de la stabilité de différents cultivars d'orge sont conformes avec ceux de la présente étude concernant les relations entre l'écovalence (w_i) et R^2 de Pinthus, (S^2_{di}), et la variance de shukla, ainsi qu'entre (S^2_i) et $CV\%$. Les résultats de cette présente étude sont également en accord avec ceux obtenus par El-Hashash et El-Absy (2013) concernant l'existence de

Tableau 9 : Corrélations (coefficient de corrélation de Pearson) entre les différents concepts¹, groupes et indices de stabilité phénotypique mesurés par différents modèles d'analyse de l'interaction génotype-environnement d'une population de 29 génotypes d'orge (26 HDs et 3 parents) évalué dans 5 environnements.

Paramètres à stabilité statique				Paramètres à stabilité dynamique							
				Type2	Qualité d'ajustement du model de régression	Type3	Type2		Changement de graduation (grandeur)		Changement dans l'ordre de classement (reclassement)
		CV _i	S ² _i	b _i	R ²	S ² _{di}	W _i	σ ² _i	P	HV %	IC (%)
μ _i	-	0,02 ^{NS}	0,21 ^{NS}	0,32 ^{NS}	0,22 ^{NS}	0,10 ^{NS}	0,02 ^{NS}	0,02 ^{NS}	- 0,06 ^{NS}	-0,22 ^{NS}	0,14 ^{NS}
CV		-	0,96 ^{***}	0,86 ^{***}	0,05 ^{NS}	0,83 ^{***}	0,82 ^{***}	0,82 ^{***}	-0,80 ^{***}	0,55 ^{**}	0,80 ^{***}
S ² _i			-	0,88 ^{***}	0,05 ^{NS}	0,87 ^{***}	0,86 ^{***}	0,86 ^{***}	-0,85 ^{***}	0,63 ^{***}	0,82 ^{***}
b _i				-	0,47 ^{**}	0,54 ^{***}	0,52 ^{***}	0,52 ^{***}	-0,51 ^{***}	0,36 ^{NS}	0,50 ^{***}
R ²					-	-0,40 ^{**}	-0,41 ^{**}	-0,41 ^{**}	0,41 ^{**}	-0,19 ^{NS}	-0,45 ^{**}
S ² _{di}						-	0,98 ^{***}	0,98 ^{***}	-0,98 ^{***}	0,65 ^{***}	0,98 ^{***}
W _i							-	1,00 ^{***}	-0,99 ^{***}	0,75 ^{***}	0,94 ^{***}
σ ² _i								-	-0,99 ^{***}	0,75 ^{***}	0,94 ^{***}
P									-	-0,73 ^{***}	-0,95 ^{***}
HV %										-	0,49 ^{***}
IC											-

*, **, *** significatifs au seuil de 0,05, 0,01 et 0,001 respectivement. Ns : Non significatif au seuil de 0,05. **I** : Classification selon Becker et Léon (1988) ; Lins et al. (1986). S_i² : Variance phénotypique inter-environnementale spécifique à l'ⁱ^{ème} génotype; CV_i : Coefficient de variation phénotypique spécifique l'ⁱ^{ème} génotype ; W_i : Ecovalence de Wricke (1962) ; σ_i² : Variance de Shukla (1972) ; P : Indice de stabilité de Plaisted (1960); B_i : Coefficient de régression linéaire ; S²_{di} : Variance de la déviation de la régression (non linéarité) ; R² : Coefficient de détermination ; %HV : Hétérogénéité des variances génétiques ; %IC : Corrélation génétique imparfaite pour le rendement.

corrélations entre la variance de Shukla σ^2 et CV %, σ^2 et bi, ainsi qu'entre CV % et S^2_{di} , et ceux de Sabaghnia *et al.* (2013) concernant la relation entre S^2_i et CV%.

Les relations entre paramètres à l'intérieur de chaque groupe sont donc attendues comme le révèlent Becker (1981) et Becker *et al.* (1988); ceci implique une similarité dans la détection de génotypes stables par les paramètres de chaque groupe (excepté HV%) et donc la possibilité de simplifier l'analyse par l'utilisation d'un seul paramètre par groupe (Mekliche *et al.*, 2013). L'existence de corrélations entre paramètres des deux différents groupes signifie également certaines similarités dans le niveau de stabilité des génotypes déterminés par ces paramètres, et peuvent indiquer l'existence de lignées HDs à stabilité statique et dynamique tels que les lignées HD15 TE, HD21 TE, et HD11 TE, ceci peut-être dû à l'origine même de ces génotypes et du fait qu'ils ont un fond génétique identique.

Conclusion

Les résultats indiquent que les haploïdes doublés d'orge sont un matériel approprié pour l'analyse des interactions génotype \times environnement. Les performances de leurs rendements en grain sont influencées par les effets de ces interactions. Ceci a entraîné une instabilité au sein de la population HDs. De plus, les résultats ont indiqué que la population HDs contenait des génotypes désirables en termes de stabilité et de performance. Les lignées HD14, HD11, HD39, HD30, HD15, HD21 et HD10 sont identifiées comme étant des lignées adaptées et stables avec un bon niveau de rendement et les lignées HD26 et HD2 sont les deux lignées les plus performantes, adaptées et plus stables que le parent local Tichedrett. Pour ces raisons, l'ensemble de ces lignées peut être considéré comme prometteur, il doit être valorisé et recommandé pour les environnements semi-arides testés sous réserve d'effectuer quelques analyses supplémentaires (qualités technologiques et caractérisation moléculaires). Les corrélations significatives indiquent qu'il peut être suffisant d'utiliser un seul paramètre de chacun des deux groupes testés pour sélectionner les génotypes recherchés dans un programme d'amélioration d'orge.



Research Article

Grain Yield Stability Analysis of Barley Doubled Haploid Lines in Algerian Semi-arid Zones

^{1,2,4}D. Ramla, ²M.S. Yakhou, ²N. Bilek, ²M. Hamou, ²A. Hannachi, ³A. Aissat and ⁴L. Mekliche-Hanifi

¹Biotechnology and Plant Breeding Division, National Institute of Agronomic Research of Algeria, Algeria

²National Institute of Agronomic Research of Algeria, Algeria

³Department of Agronomy, University Saad Dahlab Blida, Algeria

⁴Department of Plant Science, National Agronomic Graduate School, Belfort, El-Harrach, Algiers, Algeria

Abstract

Aim: Production of new barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes with stable grain yield is an important challenge in variable and harsh climatic conditions such semi-arid zones. **Methodology:** For this purpose, twenty-nine 6-row barley genotypes, 26 barley anther culture-derived doubled haploid lines obtained from F2 plants of 2 biparental crosses, along with 3 parental cultivars were tested for grain yield and stability level at five semi-arid environments in Algerian highlands barley grown areas. Several stability parameters such, regression coefficient (b_i), deviation from regression (S^2_{di}), Pinthus' coefficient (R^2), environmental variance (S^2_e), coefficient of variation (CV%), Wricke's genotypic ecovalence (W_j), Shukla's stability variance (σ_i^2), heterogeneity variance (%HV), incomplete correlation (%IC) and Plaisted's stability Parameter (P), were used to assess the stability of each genotype. **Results:** Twenty eight genotypes showed a wide adaptability ($b_i = 1$) and only a single line (DH40) showed a specific adaptation ($b_i < 1$). About 10 genotypes showed yield stability over the environments studied ($S^2_{di} = 0$, low values of W_j , %HV, %CV, %IC, σ_i^2 and high R^2). Upon these 10 genotypes, eight gave high yields (Express, DH11, DH14, DH15, DH21, DH30, DH39 and DH10). The DH26, DH65 and DH2 lines have given the best yields but are unstable. The majority of doubled haploid lines derived from Tichedrett \times Express hybrid, showed more stability than the local parent and a yield equal to the general mean yield. **Conclusion:** Significant correlations were obtained within the two groups of parameters of static stability concept and dynamic stability concept, indicating the possibility of using a single stability parameter per group.

Key words: Genotype \times environment interaction, stability, barley doubled haploids, semi-arid zones

Received: February 17, 2016

Accepted: March 02, 2016

Published: March 15, 2016

Citation: D. Ramla, M.S. Yakhou, N. Bilek, M. Hamou, A. Hannachi, A. Aissat and L. Mekliche-Hanifi, 2016. Grain yield stability analysis of barley doubled haploid lines in Algerian semi-arid zones. Asian J. Crop Sci., 8: 43-51.

Corresponding Author: D. Ramla, Institut National de la Recherche, Agronomique d'Algerie, 2 Avenue des freres Ouadek, BP 200, Hassen Badi, El-Harrach, Alger, Algeria

Copyright: © 2016 D. Ramla *et al.* This is an open access article distributed under the terms of the creative commons attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Competing Interest: The authors have declared that no competing interest exists.

Data Availability: All relevant data are within the paper and its supporting information files.

INTRODUCTION

In Algeria, barley (*Hordeum vulgare* L.) is the second rainfed conditions cultivated cereal after durum wheat (*Triticum durum* Desf.) with 1 million ha harvested areas. Its area production is mainly located in highland semi-arid agro-climatic zone (300–400 mm rainfall) characterized by variability and severity of climate conditions (irregular quantity and distribution of rainfall, spring frost, low winter temperatures and high temperatures of end cycle). These harsh climatic conditions have a negative impact on the level and stability of grain yields which varied between 11.0 q ha⁻¹ in dry years and 27 q ha⁻¹ in rainy years¹. For a long time, the national improvement efforts focused on grain yield as criterion of selection but because this strategy was conditioned by favorable and stable conditions², limited results have been obtained. So, varieties were released but because their low potential of adaptation and their instability, they have not been adopted by the farmers and only the two varieties, Tichedrett and Saida, selected within local population, remain widely used and cover the major surfaces occupied by this specie³. Since then, the objective of barley breeders is to develop more and more varieties characterized by both stability and good yield level. The compartment unstable of varieties, which show yield fluctuations across the different environments, is due to the presence of Genotype × Environment Interactions (GEI)⁴. The importance of GEI in the process of improvement has been reported for a long time because that compromises the progress of the selection by making difficult the classification and the identification of superior varieties⁵. To mitigate this problem and exploit positively the GEI, stratification of the environments and multi environments trials are necessary to identify stable and high yielding genotypes⁶. Muhleisen *et al.*⁷ considered that

selection for yield stability is not usually feasible due to the required number of test environments, which exceed the common capacity of barley breeding programs. However, this objective remains a central concern and many studies are conducted to investigate stability of barley genotype under different environments⁸⁻¹⁴. Several statistical methods were developed to analyze GEI. These analyses provide the ability of characterizing genotypes towards their adaptation and their degrees of stability. Among these methods, the parametric univariate stability statistics¹⁵ which were frequently used¹⁶ can be cited. The majority of reported work on this subject concern the promising genotypes derived from the final stages of the conventional plant breeding, few have concerned doubled haploids lines which are however considered as suitable material for GEI studies¹⁷.

The present study was carried out to assess the significance and magnitude of grain yield GEI, the stability of performance and the correlations among the stability parameters for 26 doubled haploid barley lines (DHs) and their parents under five semi-arid environments of Algeria.

MATERIALS AND METHODS

Crop material and field experiments: The crop material used in the experiment consisted in twenty-nine 6-row barley genotypes including 26 doubled haploid lines (DHs) and three parental varieties (local drought resistant and low yielding variety: The cv. Tichedrett and two commercial high yielding French introductions: The cvs. Express and Plaisant) (Table 1). This material was evaluated for grain yield at five semi-arid environments (locations × years) in 3 Algerian highlands barley growing areas during 3 years in 2011-2012 and 2013. The environments (locations × years) were

Table 1: Name and code of tested genotypes (parental varieties and doubled haploid lines)

Genotypes	Codes	Genotypes	Codes
Tichedrett	T	DH26 F2 Tichedrett × Express	DH26
Express	E	DH30 F2 Tichedrett × Express	DH30
Plaisant	P	DH31 F2 Tichedrett × Express	DH31
DH1 F2 Tichedrett × Express	DH1	DH37 F2 Tichedrett × Express	DH37
DH2 F2 Tichedrett × Express	DH2	DH39 F2 Tichedrett × Express	DH39
DH5 F2 Tichedrett × Express	DH5	DH40 F2 Tichedrett × Express	DH40
DH10 F2 Tichedrett × Express	DH10	DH43 F2 Tichedrett × Express	DH43
DH11 F2 Tichedrett × Express	DH11	DH46 F2 Tichedrett × Express	DH46
DH13 F2 Tichedrett × Express	DH13	DH54 F2 Tichedrett × Plaisant	DH54
DH14 F2 Tichedrett × Express	DH14	DH55 F2 Tichedrett × Plaisant	DH55
DH15 F2 Tichedrett × Express	DH15	DH59 F2 Tichedrett × Plaisant	DH59
DH16 F2 Tichedrett × Express	DH16	DH60 F2 Tichedrett × Plaisant	DH60
DH21 F2 Tichedrett × Express	DH21	DH63 F2 Tichedrett × Plaisant	DH63
DH24 F2 Tichedrett × Express	DH24	DH65 F2 Tichedrett × Plaisant	DH65
DH25 F2 Tichedrett × Express	DH25		

principally differentiated by annual and seasonal rainfall variations (Table 2). The DHs lines were obtained in 2009 in the framework of INRAA's barley breeding program by plant biotechnology tools. The DH lines were developed from F2 hybrids of 2 biparental single crosses between the local variety and the two introductions (F2 Tichedrett×Express, F2 Tichedrett×Plaisant) using anther culture procedure as described by Szarejko^{18,19}, Cistue *et al.*²⁰ and Jacquard *et al.*²¹. The field experiments were conducted at each location in a randomized complete block design with three replications. The experimental plots consisted of 5 m in length and 1.20 m in width (6 rows). Row to row distance was 20 cm. The seeding rate was 275 seeds m⁻². The crop was harvested at maturity and the grain yield was obtained from 1 m section of 2 interior rows in the middle of each plot.

Data analysis: The variance analysis of data grain yield was realized by single environment to test the genotype effect and analyze the compartment and classify the genotypes using a Newman-Keuls's test. A combined variance analysis of data of all environments was realized to test GE interaction effect and obtain variance components. The joint regression was used to analyze GE interaction for grain yield and approach the stability of genotypes. For this purpose, variance analysis of Finlay and Wilkinson²² was performed using "GEST" program, based on the model of Eberhart and Russell²³ and developed by Ukai²⁴. Each genotype was characterized by its regression coefficient (bi) and its variance of deviations from regression

(S²_{di}). A genotype with wide adaptation was defined as one with (bi = 1) and stable as one with (S²_{di} = 0). The significance of regression slope (bi) from unity and deviation from regression (S²_{di}) for each genotype were tested by t-test and F-test, respectively. The stability of genotypes was also approached through 2 static stability parameters such environmental variance²⁵ (S²_e) and coefficient of variation²⁶ (%CV) in addition to six dynamic stability parameters consisted of Plaisted's GE variance component²⁷ (P), Wricke's genotypic ecovalence²⁸ (W_i), Shukla's stability variance²⁹ (σ_i²), Pinthu's coefficient of determination³⁰ (R²), heterogeneity variance (%HV) and incomplete correlation³¹ (%IC). Higher values for Pinthu's coefficient (R²) and Plaisted's stability parameter (P) indicate better genotypic stability. Lower values of remained parameters indicate higher stability. The relation magnitude between the used stability statistics was estimated from Pearson's correlation coefficient.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of grain yield performance of genotypes by environment: The variance analysis of the grain yield by environment showed a significant genotype effect for the environments E1-Khroub 2010-11, E2-Khroub 2011-12, E3-SBB 2011-12, E5-Setif 2012-13 (p<0.001) and E4-Setif 2011-12 (p<0.05) (Table 3). This effect indicated the existence of a usable genetic diversity for the selection. The average grain yield by environment varied from 20-39 q ha⁻¹ (Table 4).

Table 2: Testing environments description

Experimental sites	Code location-cropping season	Geographic coordinates	Altitude (masl)	Climate type	Rainfall (mm) ^c
EL-Khroub experimental station ITGC ^a	E1-Khroub 2010-11	High plains	640	Mediterranean type, semiarid	593
	E2-Khroub 2011-12	36°26' N 6°66' E			470
Sidi Bel Abbes	E3-SBB 2011-12	Highlands 35°11' N 0°38' W	486	Mediterranean type, semiarid	335
Setif experimental station ITGC ^a	E4-Setif 2011-12	Highlands 36°09' N 5°26' E	981	Mediterranean type, continental, semiarid, with cold and rainy winter, hot and dry summer. Early risk of hot winds (sirocco) and late frost in spring	303
Setif experimental station INRAA ^b	E5-Setif 2012-13	Highlands 36°15' N 5°7' E	1081		394

^aTechnical Institute of Field Crops, ^bNational Institute of Agronomic Research of Algeria and ^cFrom September to June

Table 3: One way analysis of variance for grain yield in each of 5 environments tested

Source of variation	df	Mean squares				
		E1-Khroub 2010-11	E2-Khroub 2011-12	E3-SBB 2011-12	E4-Setif 2011-12	E5-Setif 2012-13
Genotype	28	55.19***	102.30***	203.80***	33.35*	152.88***
Error	58	17.35	19.60	17.00	17.31	23.97
Square root error		4.16	4.43	4.12	4.16	4.90
CVr (%)		13.3	11.30	10.70	20.80	15.40

*,***Significant at p<0.05 and p<0.001, respectively

Table 4: Mean yield performance^a (q ha⁻¹) of 29 barley genotypes (26 DHs and 3 parents) field tested across 5 environments

Genotype	Environments					Mean yield (N = 5)
	E1-Khroub	E2-Khroub	E3-SBB	E4-Setif	E5-Setif	
Tichedrett	28.0±0.7 ^{bc}	50.7±1.5 ^a	37.8±2.8 ^{def}	23.5±1.9 ^{ab}	23.1±2.7 ^{defg}	32.6 ^{bcd}
Express	33.1±2.1 ^{abc}	38.4±4.7 ^{abcde}	36.7±0.4 ^{def}	22.4±1.6 ^{ab}	34.4±2.1 ^{abcdef}	33.0 ^{bcd}
Plaisant	31.9±1.1 ^{abc}	41.9±3.7 ^{abcd}	30.8±0.2 ^{efg}	18.6±2.6 ^{ab}	22.6±2.0 ^{efg}	29.2 ^{de}
DH1	29.7±2.1 ^{abc}	37.9±1.7 ^{abcde}	37.5±2.6 ^{def}	25.4±2.0 ^{ab}	40.8±0.5 ^{ab}	34.3 ^{bcd}
DH2	38.3±1.2 ^{ab}	47.0±0.1 ^{ab}	33.7±0.4 ^{defg}	2.60±2.4 ^{ab}	42.0±1.0 ^{ab}	36.9 ^{abc}
DH5	28.7±2.0 ^{bcd}	33.7±1.6 ^{bcdde}	25.8±1.9 ^{fg}	16.7±2.0 ^{ab}	28.9±5.8 ^{bcddefg}	26.8 ^e
DH10	29.1±0.9 ^{bcd}	30.9±2.7 ^{de}	37.0±1.4 ^{def}	18.0±2.0 ^{ab}	29.0±0.9 ^{bcddefg}	28.8 ^{de}
DH11	31.0±1.9 ^{abc}	35.9±2.4 ^{bcde}	41.3±1.5 ^{cde}	19.5±1.3 ^{ab}	31.0±1.5 ^{bcddefg}	31.7 ^{bcd}
DH13	31.9±2.5 ^{abc}	42.8±0.7 ^{abcd}	39.7±1.3 ^{cde}	18.8±2.1 ^{ab}	39.1±0.3 ^{abc}	34.5 ^{bcd}
DH14	32.5±1.3 ^{abc}	44.7±4.4 ^{abc}	34.0±3.5 ^{defg}	19.3±3.3 ^{ab}	37.4±2.7 ^{abcd}	33.6 ^{bcd}
DH15	33.4±0.3 ^{abc}	34.0±2.1 ^{bcdde}	32.6±0.6 ^{efg}	19.1±2.9 ^{ab}	32.3±3.9 ^{abcdefg}	30.3 ^{de}
DH16	30.5±4.0 ^{abc}	39.6±1.2 ^{abcde}	34.5±1.5 ^{defg}	22.6±1.6 ^{ab}	40.2±2.9 ^{abc}	33.5 ^{bcd}
DH21	32.2±0.8 ^{abc}	34.0±2.5 ^{bcdde}	35.9±1.8 ^{defg}	18.3±3.8 ^{ab}	30.0±2.8 ^{bcddefg}	30.1 ^{de}
DH24	35.5±2.5 ^{abc}	36.6±1.6 ^{bcdde}	45.0±1.7 ^{bcd}	22.6±2.4 ^{ab}	19.7±2.3 ^g	31.9 ^{bcd}
DH25	35.2±1.6 ^{abc}	39.6±2.0 ^{abcde}	34.5±1.7 ^{defg}	13.2±1.4 ^{ab}	25.9±2.4 ^{cddefg}	29.7 ^{de}
DH26	31.7±0.8 ^{abc}	42.4±1.1 ^{abcd}	51.8±3.0 ^{ab}	25.6±0.5 ^a	45.5±2.5 ^a	39.4 ^a
DH30	27.8±3.3 ^{bc}	43.1±1.1 ^{abcd}	29.3±4.8 ^{efg}	19.3±2.7 ^{ab}	34.6±3.8 ^{abcdef}	30.8 ^{de}
DH31	31.2±2.4 ^{abc}	28.4±2.7 ^e	38.0±2.6 ^{def}	21.5±2.4 ^{ab}	37.4±1.2 ^{abcde}	31.3 ^{de}
DH37	28.2±4.5 ^{bcd}	40.6±2.1 ^{abcde}	33.7±2.2 ^{defg}	22.4±0.8 ^{ab}	39.1±1.3 ^{abc}	32.8 ^{bcd}
DH39	30.2±3.0 ^{abc}	40.3±4.2 ^{abcde}	40.5±2.6 ^{cde}	16.3±0.6 ^{ab}	27.4±4.6 ^{bcddefg}	31.0 ^{de}
DH40	28.2±3.3 ^{bc}	33.3±1.9 ^{cdde}	24.8±0.8 ^g	21.2±1.4 ^{ab}	26.0±1.5 ^{cddefg}	26.7 ^e
DH43	30.1±1.7 ^{abc}	47.1±0.8 ^{ab}	35.5±1.8 ^{defg}	17.9±1.1 ^{ab}	36.2±2.8 ^{abcde}	33.4 ^{bcd}
DH46	30.8±1.4 ^{abc}	43.0±1.6 ^{abcd}	36.0±0.9 ^{defg}	20.0±1.9 ^{ab}	39.5±0.3 ^{abc}	33.9 ^{bcd}
DH54	36.1±2.5 ^{abc}	30.7±0.1 ^{de}	52.0±2.9 ^{ab}	12.3±2.6 ^b	21.2±1.3 ^{fg}	30.5 ^{de}
DH55	24.6±2.8 ^{cd}	37.7±3.3 ^{abcde}	50.3±4.8 ^{ab}	17.6±2.6 ^{ab}	36.5±2.7 ^{abcde}	33.3 ^{bcd}
DH59	18.5±0.1 ^d	40.0±4.7 ^{abcde}	57.0±0.0 ^a	18.4±4.3 ^{ab}	24.3±2.0 ^{defg}	31.6 ^{de}
DH 60	33.0±3.8 ^{abc}	30.8±4.3 ^{de}	51.3±3.3 ^{ab}	19.8±2.5 ^{ab}	28.8±7.0 ^{bcddefg}	32.7 ^{bcd}
DH 63	42.2±0.6 ^a	35.4±2.1 ^{bcdde}	29.2±3.0 ^{efg}	19.0±3.9 ^{ab}	23.2±2.0 ^{defg}	29.8 ^{de}
DH 65	34.1±4.8 ^{abc}	50.2±0.6 ^a	48.7±3.0 ^{abc}	26.4±3.4 ^a	25.8±2.5 ^{cddefg}	37.0 ^{ab}
Mean±SE ^b	31.3±0.8 ^b	39.0±1.1 ^a	38.4±1.5 ^a	20.0±0.6 ^c	31.8±1.3 ^b	32.1±0.53
Variance	18.4	34.1	68.0	11.1	51.0	8.0
CV%	13.7	14.9	21.4	16.5	25.5	8.8

^aData are given Mean±SE, ^bMean grain yield per trial (q ha⁻¹). Values within the same column without the same letters indicate a significant difference according to Newman Keuls's test at p<0.05

The highest grain yield was obtained at E2-Khroub 2011-12 (39.4 q ha⁻¹), followed by that obtained at E3-SBB 2011-12 (38.4 q ha⁻¹), these two sites were the most favorable and occupied the first place (according to Newman-Keul's test). The E5-Setif 2012-13 and E1-Khroub 2010-11 occupied the second place with respective yields of 31.8 and 31.3 q ha⁻¹. The E4-Setif constituted the least favourable environment, registering the lowest average yield, 20.4 q ha⁻¹ (Table 4). The average yields for genotypes (Table 4) varied from 12.3 q ha⁻¹ (DH54 at E4-Setif site) to 57 q ha⁻¹ (DH59 at E3-SBB 2011-12 site). Thus, at the E1-Khroub 2010-11 site, grain yield varied from 18.5 q ha⁻¹, recorded by line DH59, to 42.2 q ha⁻¹ for DH63 line. At E2-Khroub 2011-12, DH31 recorded the lowest yield (28.4 q ha⁻¹), while the parental cv. Tichedrett and DH65 line recorded the highest values respectively, 50.7 and 50.2 q ha⁻¹. At E3-SBB 2011-12 site, DH40 line registered the lowest value performance (24.8 q ha⁻¹) and DH59 line, the highest value (57 q ha⁻¹). At E4-Setif 2011-12, the DH65 line

distinguished itself again and registered the most important value (26.4 q ha⁻¹), the first place was also occupied by the DH26 line (25.6 q ha⁻¹), which distinguished itself by second one better score (45.5 q ha⁻¹) at the experimental site E5-Setif 2012-13. The lowest yields at the two latter sites were respectively registered by DH54 line (12.3 q ha⁻¹) and DH24 line (19.7 q ha⁻¹). The differential ranking of lines through the environments indicated the presence of a GE interaction³², which was confirmed by combined variance analysis (Table 5). The most important proportion of the variation (57.2%) had for source the environment, indicating contrasting environments. The part of the variation, which was due to genotype, represented only 9.4%, this weak proportion is certainly explained by the origin of the estimated lines. Indeed, all these lines have in common the same local parent Tichedrett, furthermore twenty of these lines were derived from a single cross (Tichedrett×Express) and the remaining lines from Tichedrett×Plaisant cross. The

proportion of the variation explained by the GE interaction was high; it represented 33.4% of the total sum of square deviations (G+E+GEI) (Table 5). These proportions, it means, the largest part represented by the environment, followed by that of GE interaction and the lowest represented by the genotype, are in accordance with those reported by Bantayehu³³ and Kadi *et al.*⁸. Besides that, the confirmation of the presence of the GE interaction required to conduct the analysis of grain yield stability to identify the stable and performing lines.

Analysis of grain yield stability and average performance of parental varieties and DHs lines:

Variance analysis of Finlay and Wilkinson²² (Table 6) revealed that the joint regression was unsuitable to explain the GE interaction. In fact, heterogeneity of regression represented only 14.3% of the sum of squares of the GE interaction, while the deviation of the regression was explained most of the interaction (85.7%). More, heterogeneity of regression and pooled deviation from regression were respectively not significant and significant ($p < 0.001$). Becker and Leon³² consider that only a small part of the GE interaction could be generally explained by the heterogeneity of regressions. It is because the majority of bi slopes have a value close to 1. This was confirmed in the present study, indeed 28 of the tested genotypes had a slopes $b_i = 1$ (Table 7), these genotypes were classified at wide adaptation. A single line, the DH 40, had a slope b_i significantly lower than unity; it was characterized by a specific adaptation.

According to the adaptability definition of Finlay and Wilkinson²², DH26, DH65 and DH2 lines, which had a slopes equal to the unity and a grain yield significantly superior to the general mean yield (μ) (Table 7), respectively equal to 39.4***, 37* and 36.9**, showed to be well adapted to the five tested environments. The DH5 line also had a slope equal to 1 but a grain yield significantly lower than (μ) 26.8**, this line was classified poorly adapted to all environments tested. Regarding the DH40 line whose slope was significantly less than 1 and a yield significantly inferior to (μ) 26.7***, was characterized by a specific adaptation to unfavorable environments. The parents varieties and the rest of DHs lines, had slopes equal to the unity and yield equal to (μ), they were classified as genotypes at wide adaptation and average stability. According to Eberhart and Russell²³, who defined the stability of genotypes on the basis of two parameters (b_i) and (S^2_{di}), the DH14, DH11, DH39, DH30, DH15, DH21, DH10 and DH5 lines and parental cv. Express, which had regression slopes equal to 1 and deviations from the regression $S^2_{di} = 0$ were defined as stable lines. The remaining lines had S^2_{di} significantly different from 0, were therefore based on this parameter and characterized by instability. The Pinthus's (R^2), varied from 25.6-84.8%. The most unstable 10 genotypes, with the lowest coefficients (25.6-51.1%) were, HD63, DH31, DH40, DH60, HD5, HD24, HD1, HD30, HD37 and Tichedrett, respectively. The first ten most stable lines, those with the highest coefficients (84.8-64.4%) were, DH13, DH11, DH25, DH43, DH39, DH10, DH46, DH21, Express and DH26,

Table 5: Combined analysis of variance for grain yield of 29 genotypes grown in five environments

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	Variation (Percentage of total SS)
Genotype	28.00	3380.7	120.7***	9.4
Environment	4.00	20468.2	5117.1***	57.2
Genotype × environment	112.00	11951.9	106.7***	33.4
Block	2.00	161.6	80.8**	
Genotype × block	56.00	1024.7	18.3 ^{NS}	
Environment × block	8.00	185.9	23.2 ^{NS}	
Error	224.00	4144.6	18.5	
Total	434.00	41317.3		
Overall mean	32.10			
Square root error	4.41			
Cvr (%)	13.70			

,*Significant at $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively, NS: Not significant at 5% level

Table 6: Finlay-Wilkinson variance analysis for grain yield stability over five environments

Source of variation	df	Sum of squares (SS)	SSG+E+GEI (%)	SS GEI (%)	Mean squares	¹ F _{obs}	F _{obs}
Genotype (G)	28	1144.138	9.6		40.862***	2.27	
Environment (E)	4	6769.794	56.8		1692.449***	94.03	
Genotype × Environment Interaction (GEI)	112	4014.427	33.7		35.843***	1.99	
Heterogeneity of regressions	28			14.3	20.491 ^{NS}	1.14	0.50
Pooled deviation from regression	84	3440.668		85.7	40.96***	2.29	
Pooled pure error	224	4144.4			18.5		

¹Calculated by comparing all mean squares to pooled pure error, ²Calculated by comparing pooled deviation from regression mean square to Pooled deviation from regression, ***Significant at $p < 0.001$, NS: No significant

Table 7: Mean yield performance and stability parameters values of 29 barley genotypes (26 DHs and 3 parents) for grain yield

Genotypes	μ^a (q ha ⁻¹)	b_i^c	S_{di}^2	R ² (%)	S_i^2	CV (%)	W_i	σ_i^2	P	HV (%)	IC (%)
DH26	39.4 ^{****}	1.15 ^{NS} (bi = 1)	137.1 ^{***}	64.4	112.1	26.9	140.7	36.5	106.6	2.1	3.8
DH65	37.0 ⁺ *	1.27 ^{NS} (bi = 1)	177.1 [*]	57.7	139.2	31.9	194.5	50.9	105.1	3.2	4.4
DH2	36.9 ^{***}	0.88 ^{NS} (bi = 1)	131.8 ^{***}	55.3	78.8	24.0	136.3	35.3	105.1	1.8	3.9
DH13	34.5 ^{NS}	1.20 ^{NS} (bi = 1)	34.2 [*]	84.8	92.8	27.9	43.8	10.4	109.4	1.8	2.4
DH1	34.3 ^{NS}	0.66 ^{NS} (bi = 1)	63.7 [*]	46.7	41.4	18.8	90.3	22.9	108.0	3.6	2.7
DH46	33.9 ^{NS}	1.05 ^{NS} (bi = 1)	65.6 ^{**}	75.3	80.4	26.5	66.3	16.5	108.7	1.8	2.8
DH14	33.6 ^{NS}	1.07 ^{NS} (bi = 1)	72.6 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	60.6	85.6	27.5	75.4	18.9	108.5	1.7	2.9
DH16	33.5 ^{NS}	0.77 ^{NS} (bi = 1)	71.0 [*]	51.4	52.6	21.7	83.8	21.2	108.3	2.7	2.8
DH43	33.4 ^{NS}	1.27 ^{NS} (bi = 1)	74.2 ^{**}	78.0	112.3	31.8	93.1	23.7	108.0	2.2	3.1
DH55	33.3 ^{NS}	1.42 ^{NS} (bi = 1)	166.3 [*]	63.0	159.8	37.9	206.7	54.2	104.7	4.5	4.3
Express	33.0 ^{NS}	0.80 ^{NS} (bi = 1)	6.0 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	67.1	38.3	18.8	15.2	2.7	110.2	3.9	1.4
DH37	32.8 ^{NS}	0.80 ^{NS} (bi = 1)	80.6 [*]	51.1	57.4	23.1	91.4	23.2	108.0	2.4	3.0
DH60	32.7 ^{NS}	1.11 ^{NS} (bi = 1)	241.5 [*]	39.7	132.9	35.2	240.9	63.4	103.7	3.0	5.2
Tichedrett	32.6 ^{NS}	1.17 ^{NS} (bi = 1)	227.0 ^{***}	50.8	137.1	35.9	236.6	62.2	103.9	3.2	5.1
DH24	31.9 ^{NS}	0.97 ^{NS} (bi = 1)	219.5 ^{***}	45.7	110.4	33.0	218.4	57.3	104.4	2.1	5.1
DH11	31.7 ^{NS}	1.02 ^{NS} (bi = 1)	18.3 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	83.1	65.4	25.5	17.2	3.3	110.1	2.1	1.9
DH59	31.6 ^{NS}	1.66 ^{NS} (bi = 1)	465.9 ^{***}	53.9	278.6	52.8	568.4	151.3	94.4	14.9	7.2
DH31	31.3 ^{NS}	0.59 ^{NS} (bi = 1)	108.3 ^{**}	34.6	46.4	21.8	140.6	36.4	106.5	3.2	3.6
DH39	31.0 ^{NS}	1.30 ^{NS} (bi = 1)	13.2 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	76.1	101.6	32.6	34.1	7.8	109.7	1.9	2.2
DH30	30.8 ^{NS}	0.92 ^{NS} (bi = 1)	110.5 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	47.1	77.6	28.6	114.1	29.3	107.4	1.8	3.5
DH54	30.5 ^{NS}	1.52 ^{NS} (bi = 1)	372.5 ^{***}	56.4	228.2	49.6	432.0	114.7	98.2	9.8	6.4
DH15	30.3 ^{NS}	0.73 ^{NS} (bi = 1)	31.2 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	58.9	39.3	20.7	47.7	11.5	109.3	3.9	1.9
DH21	30.1 ^{NS}	0.87 ^{NS} (bi = 1)	14.1 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	69.3	48.2	23.1	45.0	10.7	110.2	3.4	2.0
DH63	29.8 ^{NS}	0.67 ^{NS} (bi = 1)	240.0 ^{**}	25.6	86.4	31.2	266.5	70.2	103.0	1.7	5.9
DH25	29.7 ^{NS}	1.26 ^{NS} (bi = 1)	67.1 [*]	78.4	109.6	35.3	83.0	21.0	108.3	2.1	2.9
Plaisant	29.2 ^{NS}	0.96 ^{NS} (bi = 1)	109.2 ^{**}	57.3	81.3	30.9	111.5	28.6	107.5	1.7	3.5
DH10	28.8 ^{NS}	0.84 ^{NS} (bi = 1)	24.0 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	75.3	47.2	23.8	28.8	6.4	109.8	3.1	1.8
DH5	26.8 ^{-***}	0.69 ^{NS} (bi = 1)	47.8 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	43.6	39.8	23.6	71.1	17.8	108.6	3.8	2.3
DH40	26.7 ^{-***}	0.42 [*] (bi = <1)	38.3 ^{NS} ($S_{di}^2 = 0$)	35.2	20.0	16.8	120.9	31.1	107.3	7.1	2.2
μ^b	32.1										
Total										21.0	79.0

^aGrain yield of each genotype across all environments, ^b μ = General means yield of the 29 barley genotypes across 5 environments, ⁺, ^{**}, ^{***}, ^{****}Significantly superior to μ at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively, according to student test, NS: No significantly different to μ at $p < 0.05$, according to student test, ⁻, ^{-*}, ^{-**}, ^{-***}Significantly inferior to μ at $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$, respectively, according student test, bi: Regression coefficient, 'All bi are significantly different from zero based on linear regression analysis, bi was tested against "1" according to student test, at (0.05), S_{di}^2 : Deviation of regression, S_{di}^2 was tested against "0" according F-test (regression analysis), R² (%): Coefficient of determination, S_i^2 : Phenotypic variance, CV (%): Coefficient of variation (%), W_i : Wricke's ecovalence, σ_i^2 : Shukla's stability, P: Plaisted's stability parameter, HV (%): Variance heterogeneity (%), IC (%): Incomplete correlation

respectively. The environmental variance specific at each genotype (S_i^2) varied from 20.0-278.6. According to this parameter, the 10 most stable genotypes, S_i^2 from 20-57.4 were DH40, Express, DH15, DH5, DH31, DH10, DH21, DH16 and DH37, respectively and the ten more unstable, S_i^2 from 109.6-278.6 were, DH25, DH24, HD26, DH43, HD60, Tichedrett, HD65, DH55, DH54 and DH59, respectively. The coefficient of variation (CV%) varied from 16.8-52.8, depending on this parameter, the more stable genotypes were DH40, DH1, Express, DH15, DH16 and the more unstable were DH59, DH54, DH55, Tichedrett, DH25 and DH60. Genotypic ecovalence (W_i) and stability of the variance of Shukla (σ_i^2) parameters, varied from 15.2-568.4 and 2.7-151.3, respectively. These two parameters showed, that the most stable genotypes were respectively the introduced variety Express ($W_i = 15.2$ and $\sigma_i^2 = 2.7$), the line DH11 ($W_i = 17.2$ and $\sigma_i^2 = 3.3$), the line DH10 ($W_i = 28.8$ and $\sigma_i^2 = 6.4$), the line DH39

($W_i = 34.1$ and $\sigma_i^2 = 7.8$), the line DH13 ($W_i = 43.8$ and $\sigma_i^2 = 10.4$), while the most unstable genotypes were the local variety Tichedrett ($W_i = 236.6$ and $\sigma_i^2 = 62.2$), the line DH60 ($W_i = 240.9$ and $\sigma_i^2 = 63.4$), the line DH63 ($W_i = 266.5$ and $\sigma_i^2 = 70.2$), the line DH54 ($W_i = 432$ and $\sigma_i^2 = 114.7$) and the line DH59 ($W_i = 568.4$ and $\sigma_i^2 = 151.3$). Plaisted parameter stability (P) varied from 110.2-94.4, thus identifying different levels of stability. The most stable level was characterized by Express (P = 110.2), DH21 (P = 110.2), DH11 (P = 110.1), followed by DH10 lines (P = 109.8), DH39 (P = 109.7), DH13 (P = 109.4) and DH15 (P = 109.3). The most unstable level was characterized by Tichedrett (P = 103.9), followed by DH60 lines (P = 103.7), DH63 (P = 103.0), DH54 (P = 98.2) and DH59 (P = 94.4), the most unstable line. Heterogeneity of variance (% HV) represented only 21.01% of the GE interaction (Table 7), its use in the assessment of the stability was not very effective, as reported by Grada and Ciulca³⁴, contrary to the

incomplete interaction (%IC) which explained 79.99% (Table 7) of the GE interaction. According to this last parameter, the cv. Express (%IC = 1.4%), the lines DH10 (%IC = 1.8%) and DH15 (%IC = 1.9%) were the most stable across the five environments, whereas the lines DH63 (5.9%), DH54 (6.4%) and DH59 (7.2%) were the most unstable (Table 7). The cv. Express, which was classified the most stable according to %IC, was among the most unstable according to the heterogeneity of variance (%HV = 3.9). The highest values of %HV (9.8 and 14.9%) were obtained respectively by DH54 and DH59, they were the most unstable. These lines were also the most unstable based on the genotypic ecovalence (W_i), Shukla stability variance (σ_i^2), the incomplete correlation (%IC), Plaisted parameter (P), the %CV and the variance (S^2). If the majority of the parameters cited placed unequivocally these two lines in the ranks of the most unstable (Table 7), it was not the case for the ranking of the remaining lines, which showed some differences depending on the parameters. These results are in agreement with those of other authors who reported different rankings of lines according to the parameters^{33,13,16}. It is important to indicate, for these tested environments that the introduced parent Express, although of the same level performance as the local parent Tichdrett, showed generally a good level of stability in contrast to the local parent and cv. Plaisant (Table 7). Moreover, DH5 line that derived from the cross between the local parent and the introduced cv. Express, showed a high stability and a grain yield performance below the general mean (μ) and both parents. This is in agreement with the conclusions of Bouzerzour *et al.*³⁵ who reported that in unfavorable environments the most stable genotypes were less performing. The remaining lines derived from this crossing showed most of the time more stability than the parent Tichdrett (Table 7). These lines had a grain yield performance equal to the general mean (μ), except for DH26 and DH2 lines, which exhibited a grain yield superior to the general mean (μ) and to both parents. Even if, they were unstable, these two lines distinguish themselves from the rest and can be considered promising (Table 4 and 7). The lines that showed most instability were those derived from the cross between the local variety and cv. Plaisant (Table 7). This may be the result of the level of instability of both parents. The high instability of the DHs lines derived from this cross would be due to negative transgressions resulting from the association of alleles with negative effects contained in each parent^{36,37}. The two lines from this crossing, which showed most instability, were DH59 and DH54. These lines were characterized by grain yields lower than the local parent (cv. Tichdrett) and of the same level as the introduced parent Plaisant, whose yield was among the lowest. Regarding the

remaining DHs lines derived from this crossing, except for the DH65 line, which was characterized by a grain yield higher than the general mean yield (μ), both lines, DH63 and DH55 had grain yields equal to the general mean μ (Table 4).

Assessment of the level of correlations of the parameters of stability used:

The majority of the correlations were significant ($p < 0.05$ - $p < 0.001$) except for correlations with the general mean yield and between bi-%HV, R^2 - S^2_{di} , R^2 -CV%, R^2 -%HV. According to Sabaghnia *et al.*¹⁶ and El-Hashash and El-Absy¹³ no correlation between the average performance and the rest of the parameters is observed. Correlations between R^2 - S^2_{di} , R^2 - W_i , R^2 - σ_i^2 , R^2 -IC and the majority of the correlations with the parameter P were generally negative with the exception of correlations between P- R^2 and R^2 -bi. These negative correlations, such as positive between P and R^2 indicated a similar assessment of the level of stability of genotypes. While the positive correlation between R^2 -bi suggested an opposite assessment. The regression coefficient (bi) was significantly and positively correlated with S^2_{di} ($r = 0.54^{***}$), R^2 ($r = 0.47^{**}$), S^2_i ($r = 0.88^{***}$), CV% ($r = 0.86^{***}$), W_i ($r = 0.52^{***}$), σ_i^2 ($r = 0.52^{***}$) and %IC ($r = 0.50^{***}$), a single negative correlation was obtained between this parameter and P ($r = -0.51^{***}$). The deviation from the regression (S^2_{di}), was strongly and positively correlated with S^2_i ($r = 0.87^{***}$), CV% ($r = 0.83^{***}$), W_i ($r = 0.98^{***}$), σ_i^2 ($r = 0.98^{***}$), %IC ($r = 0.98^{***}$), %HV ($r = 0.65^{***}$) and negatively correlated with R^2 ($r = -0.40^{**}$) and P ($r = -0.98^{***}$). The coefficient of determination of Pinthu's (R^2) revealed significant and negative correlations with ecovalence W_i ($r = -0.41^{**}$), Shukla's stability of the variance σ_i^2 ($r = -0.41^{**}$), %IC ($r = -0.45^{**}$) and positive with P ($r = 0.41^{**}$). Phenotypic variance S^2_i was positively and significantly correlated to the coefficient of variation CV% ($r = 0.96^{***}$), to the ecovalence W_i ($r = 0.86^{***}$), to the stability of the variance of Shukla σ_i^2 ($r = 0.86^{***}$), to %HV ($r = 0.63^{***}$), %IC ($r = 0.82^{***}$) and negatively correlated with P ($r = -0.85^{***}$). The coefficient of variation (CV%) was significantly and positively correlated with ecovalence W_i ($r = 0.82^{***}$), stability of the variance of Shukla σ_i^2 ($r = 0.82^{***}$), %HV ($r = 0.55^{**}$), %IC ($r = 0.80^{***}$) and negatively correlated with P ($r = -0.81^{***}$). The ecovalence W_i showed a complete correlation with the stability of variance of Shukla (1.00^{***}), a positive correlations with %HV ($r = 0.75^{***}$), %IC ($r = 0.94^{***}$) and a strong negative correlation with P ($r = -0.99^{***}$). The stability of the variance of Shukla (σ_i^2) revealed identical correlations with %HV, %IC and Plaisted's variance P like those revealed with genotypic ecovalence, $r = 0.75^{***}$, $r = 0.94^{***}$ and $r = -0.99^{***}$,

respectively. Finally Plaisted's variance P showed a negative correlation with %HV ($r = -0.73^{***}$), a strong and negative correlation with %IC ($r = -0.95^{***}$) and %HV showed a positive correlation with %IC ($r = 0.49^{***}$). Regarding the relations between the ecovalence (W_i) and Pinthu's R^2 (S^2_{di}) and the variance of Shukla's (σ_i^2), as well as between (S^2_i) and CV%, the present results are in accordance with those of Bantayehu³³. The results of the present study, are also in agreement with those obtained by El-Hashash and El-Absy¹³ about the existence of correlations between stability variance of Shukla's parameter σ_i^2 and %CV, σ_i^2 and b_i and between %CV and S^2_{di} . The results are also in accordance with those of Sabaghnia *et al.*¹⁶ about the relationship between %CV and S^2_{iv} , while they finds a perfect positive correlation between W_i and Plaisted's P ($r = 1.00$). The parameters which were used in this study refer to two concepts of stability, static stability (b_i , S^2_i and %CV) and dynamic stability (b_i , R^2 , S^2_{div} , W_i , σ_i^2 , %HV and %IC). Relations between parameters within each group, as revealed by Becker³⁸ and Becker and Leon³² were expected. This implies a similarity in the detection of stable genotypes by the parameters of each group (except for HV%) and therefore the possibility to simplify the analysis by the use of only one parameter per group³⁹. The existence of correlations between parameters of the two different groups, also mean some similarities in the level of stability of genotypes determined by these parameters and may indicate the existence of DHs lines to static and dynamic stability as DH15, DH21, DH11 and DH10 lines. This may be due to the origin of these lines and the fact that they have identical genetic background.

CONCLUSION

The results indicated that barley doubled haploid population was suitable material for $G \times E$ interaction analysis. Grain yield performance was influenced by $G \times E$ interaction effects. This was resulted instability within the DHs population. Moreover, the results indicated that the DHs population contained desirable genotypes in terms of stability and performance. The DH14, DH11, DH39, DH30, DH15, DH21 and DH10, were identified as adapted and stable lines with a good average yield, DH26 and DH2 as the two best performing lines, adapted and more stable than the local parent. Therefore, all these doubled haploids lines can be considered as promising genotypes and can be recommended for the semi-arid environments tested. Significant correlations revealed that it could be sufficient to use only one parameter of each group to select genotypes of interest in a barley breeding program.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded by the national fond of Algerian research of Ministry of Higher Education and Research. Thanks to M. Teffahi and A. Chikr for the installation of the trials (El-Khroub site) and the performance of measurements.

REFERENCES

1. MADR, 2014. Ministere de l'agriculture et du developpement rural. Serie B, Statistiques Agricoles. DSASI.
2. Ceccarelli, S., 1996. Adaptation to low/high input cultivation. *Euphytica*, 92: 203-214.
3. Ceccarelli, S., S. Grando and F. Capettini, 2011. Barley Breeding History, Progress, Objectives and Technology-Near East, North and East Africa And Latin America. In: Barley: Production, Improvement and Uses, Ullrich, S.E. (Ed.). Wiley, New York, ISBN: 9780813801230, pp: 210-220.
4. Alberts, M.J.A., 2004. Comparison of statistical methods to describe genotype environment interaction and yield stability in multi-location maize trials. M.Sc. Thesis, University of the Free State.
5. Powell, W., P.D.S. Caligari, M.S. Phillips and J.L. Jinks, 1986. The measurement and interpretation of genotype by environment interaction in spring barley (*Hordeum vulgare*). *Heredity*, 56: 255-262.
6. Basford, K.E. and M. Cooper, 1998. Genotype x environment interactions and some considerations of their implications for wheat breeding in Australia. *Aust. J. Agric. Res.*, 49: 153-174.
7. Muhleisen, J., H.P. Piepho, H.P. Maurer, Y. Zhao and J.C. Reif, 2014. Exploitation of yield stability in barley. *Theor. Applied Genet.*, 127: 1949-1962.
8. Kadi, Z., F. Adjel and 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.
9. Jalata, Z., A. Ayana and F. Fufa, 2011. Assessment of yield stability and disease responses in Ethiopian barley (*Hordeum vulgare*L.) landraces and crosses. *Int. J. Agric. Res.*, 6: 754-768.
10. Hanifi-Mekliche, L., A. Mekliche and P. Monneveux, 2011. Genotype x environment interaction and stability analysis on barley (*Hordeum vulgare*L.) lines in Algeria. *Acta Agronomica Hungarica*, 59: 325-336.
11. Jalata, Z., 2012. Evaluation of ICARDA Barley genotypes for yield stability and lodging resistance in southeastern Ethiopia highlands. *Electron. J. Plant Breed.*, 3: 722-732.
12. Mohammadi, R., B. Vaezi, A. Mehraban, H. Ghoghgh, R. Mohammadi and N. Heidarpour, 2012. Analysis of multi-environment trials of rainfed barley in warm regions of Iran. *J. Crop Improvement*, 26: 503-519.

13. El-Hashash, E.F. and K.M. El-Absy, 2013. Genotype X environment interaction, environmental indices and stability analyses for some selected genotypes of Barley. *J. Applied Sci. Res.*, 9: 4371-4377.
14. Feriani, W., S. Rezgui and M. Cherif, 2016. Grain yield assessment of genotype by environment interaction of Tunisian doubled-haploid Barley lines. *J. New Sci.*, 27: 2286-5314.
15. Flores, F., M.T. Moreno and J.I. Cubero, 1998. A comparison of univariate and multivariate methods to analyze GxE interaction. *Field Crops Res.*, 56: 271-286.
16. Sabaghnia, N., M. Mohammadi and R. Karimizadeh, 2013. Yield stability of performance in multi-environment trials of barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun.*, 61: 787-793.
17. Choo, T.M., E. Reinbergs and K.J. Kasha, 1985. Use of haploids in breeding barley. *Plant Breed. Rev.*, 3: 219-252.
18. Szarejko, I., 2001. *In vitro* androgenesis for Doubled Haploid Production in Barley (*Hordeum vulgare* L.) and Wheat (*Triticum aestivum* L.). In: Manual on General Genetics and Basic Methods in Plant Biotechnology, Szarejko, I. and R.N. Jones (Eds.). Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego, Katowice, Poland, ISBN: 9788322610855, pp: 159-173.
19. Szarejko, I., 2003. Anther Culture for Doubled Haploid Production in Barley (*Hordeum vulgare* L.). In: Doubled Haploid Production in Crop Plants: A Manual, Maluszynski, M., K.J. Kasha, B.P. Forster and I. Szarejko (Eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp: 35-42.
20. Cistue, L., M.P. Valles, B. Echavarri, J.M. Sanz and A. Castillo, 2003. Barley Anther Culture. In: Doubled Haploid Production in Crop Plants: A Manual, Maluszynski, M., K.J. Kasha, B.P. Forster and I. Szarejko (Eds.). Springer Science and Business Media, New York, USA., ISBN-13: 9781402015441, pp: 29-34.
21. Jacquard, C., R. Asakaviciute, A.M. Hamalian, R.S. Sangwan, P. Devaux and C. Clement, 2006. Barley anther culture: Effects of annual cycle and spike position on microspore embryogenesis and albinism. *Plant Cell Rep.*, 25: 375-381.
22. Finlay, K.W. and G.N. Wilkinson, 1963. The analysis of adaptation in a plant-breeding programme. *Aust. J. Agric. Res.*, 14: 742-754.
23. Eberhart, S.A. and W.A. Russell, 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.*, 6: 36-40.
24. Ukai, Y., 2007. GEST98 for Win 98, Vp. <http://lbn.ab.a.u-tokyo.ac.jp/~ukai/gest98.html>.
25. Roemer, J., 1917. Sind die ertragreichen sorten ertragssicherer? *Mitt DLG.*, 32: 87-89.
26. Francis, T.R. and L.W. Kannenberg, 1978. Yield stability studies in short-season maize. I. A descriptive method for grouping genotypes. *Can. J. Plant Sci.*, 58: 1029-1034.
27. Plaisted, R.L., 1960. A shorter method for evaluating the ability of selections to yield consistently over locations. *Am J. Potato Res.*, 37: 166-172.
28. Wricke, G., 1962. Evaluation method for recording ecological differences in field trials. *Z. Pflanzenzucht.*, 47: 92-96.
29. Shukla, G.K., 1972. Some statistical aspects of partitioning genotype-environment components of variability. *Heredity (Edinb.)*, 29: 237-245.
30. Pinthus, M.J., 1973. Estimates of genotypic value: A proposed method. *Euphytica*, 22: 121-123.
31. Muir, W., W.E. Nyquist and S. Xu, 1992. Alternative partitioning of the genotype-by-environment interaction. *Theor. Applied Genet.*, 84: 193-200.
32. Becker, H.C. and J. Leon, 1988. Stability analysis in plant breeding. *Plant Breed.*, 101: 1-23.
33. Bantayehu, M., 2009. Analysis and correlation of stability parameters in malting barley. *Afr. Crop Sci. J.*, 17: 145-153.
34. Grada, F. and S. Ciulca, 2013. Analysis of genotype x environment interaction for yield in some maize hybrids. *J. Hortic. For. Biotechnol.*, 17: 192-196.
35. Bouzerzour, H., A. Djekoun, A. Benmahammed and K.L. Hassous, 1998. Contribution de la biomasse aeriennne, de l'indice de recolte et de la precocite a l'epiaison au rendement grain de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone d'altitude. *Cahiers de l'Agriculture*, 8: 133-137.
36. Vega, U. and K.J. Frey, 1980. Transgressive segregation in inter and intraspecific crosses of barley. *Euphytica*, 29: 585-594.
37. Rieseberg, L.H., A. Widmer, A.M. Arntz and J.M. Burke, 2003. The genetic architecture necessary for transgressive segregation is common in both natural and domesticated populations. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 358: 1141-1147.
38. Becker, H.C., 1981. Correlations among some statistical measures of phenotypic stability. *Euphytica*, 30: 835-840.
39. Mekliche, A., F. Dahlia and L. Hanifi-Mekliche, 2013. Agro-morphological diversity and stability of durum wheat lines (*Triticum durum* Desf.) in Algeria. *Acta Agronomica Hungarica*, 61: 149-159.

CHAPITRE IV

Sélection *in-vitro* en vue d'une résistance à un stress biotique :

La strie foliaire

Résumé

La radio mutagénèse *in-vitro* associée à la sélection *in-vitro* a été appliquée sur deux variétés locales Saïda et Tichedrett, sensibles à la strie foliaire, en vue de la sélection pour la résistance à cette maladie. Le système de régénération *in-vitro* appliqué sur les deux variétés à partir d'embryons immatures a permis l'induction de cals et la régénération de plantules. Les deux doses d'irradiation **15 et 20 Gy** appliquées sur cals induisent une stérilité totale des plantules régénérées, ces deux doses ne peuvent être utilisées en système *in-vitro*. Deux doses d'irradiation optimales ont été déterminées, 5 et 10 Gy, elles permettent d'induire de la variabilité et des mutations. Le système, de radio mutagénèse *in-vitro* associé à la sélection *in-vitro*, utilisé a permis l'obtention de cinq mutants à partir de la variété Saïda, les foyers verts obtenus à partir de la variété Tichedrett n'ont pas évolué en plantules. Les tests d'inoculations *in-vivo* réalisés, à partir de la technique sandwich avec l'isolat 25AB15, sur les cinq mutants Saïda en M3 et M4 ont mis en évidence l'efficacité du système utilisé. Un taux de 16,9% de plants indemnes de maladie a été recensé sur la population de mutants en M3 contre 3% de plants indemnes pour la variété Saïda. En M4, le taux de plants indemne s'élève à 54,9% contre 8,5 % pour la variété Saïda. Ceci indique un meilleur comportement des mutants vis-à-vis de la maladie en comparaison avec le parent Saïda.

Mots clefs : Orge, variétés locales, radio mutagénèse *in-vitro*, sélection *in-vitro*, *strie foliaire*

Abstract

In-vitro radio mutagenesis associated to *in-vitro* selection was applied to the two sensitive leaf stripe local varieties, Saïda and Tichedrett, to select for disease resistance. *In-vitro* regeneration system applied to both varieties from immatures embryos allowed induction of callus and regeneration of plants. Both irradiation doses, 15 and 20 Gy, applied on callus induce total sterility of regenerated plants; these doses cannot be used in *in-vitro* system. Two optimal irradiation doses were determined, 5 and 10 Gy, they allow inducing variability and mutations. The system used, permitted obtaining five mutants from Saïda variety, the green spots selected from Tichedrett variety have not evolved in plants. The *in-vivo* inoculation tests, realized from sandwich technique/ isolate 25AB15, on five Saïda mutants on M3 and M4 have established the effectiveness of the system used. A rate of 16.9% of disease free plants was identified on M3 mutant's population against 3% of free plants for Saïda variety. On M4, the rate of disease free mutants plants amounted to 54.9% against 8.5% for Saïda variety. This indicates better behaviour of mutants relative to the disease compared to Saïda parent.

Key word: Barley, locales varieties, *in-vitro* radio mutagenesis, *in-vitro* selection, leaf stripe.

Introduction

La variabilité des conditions environnementales de culture est à l'origine des variations du rendement pour une variété donnée. L'apparition de maladies par exemple a un impact négatif direct sur le niveau et la stabilité des rendements d'une variété sensible. Ainsi, l'acquisition de la résistance aux maladies contribue à réduire les interactions génotype × environnement et permet d'améliorer la stabilité des rendements (Zahour, 1992). L'amélioration du niveau de la résistance aux maladies est donc un objectif essentiel mais cependant difficile à assurer car les pathogènes ont l'aptitude de s'adapter à la résistance variétale, nécessitant une récurrence de l'amélioration vis-à-vis des maladies. (Bouharmont, 1995).

La strie foliaire, causée par l'agent pathogène "*Pyrenophora graminea*", est une maladie spécifique à l'orge, elle est plus fréquente que les autres maladies. Selon Benbelkacem *et al.* (2000a) cette maladie occasionne la perte de 1/3 de la production potentielle. En 1995 déjà, Sayoud et Bendif révélaiient une incidence moyenne de la strie foliaire de 60 % (<http://www.plantwise.org/KnowledgeBank/Datasheet.aspx?dsid=46115>). En 1999, Sayoud *et al.* classaient cette maladie avec la rayure réticulée (*Pyrenophora teres*) comme très importante, en comparaison avec le charbon couvert, le charbon nu, la pourriture racinaire, la rouille brune, la rouille jaune ou encore la Rhynchosporiose, considérées comme des maladies rares à peu importantes. En 2013, cette tendance est maintenue voire accentuée, la strie foliaire reste la maladie la plus répandue avec une incidence atteignant jusqu'à 80 % ; celle-ci provoque d'importants dégâts et, est très nuisible, car pour les variétés sensibles, les plantes attaquées sont quasiment sans grains (Figure 1a, page 69) (Aouali et Douici-Khalfi, 2013).

Cette maladie occasionne des pertes de rendement sévères à travers le monde (Delogu *et al.*, 1995, Mueller *et al.*, 2003), peu de données existent en Algérie sur la quantification de l'impact de cette maladie en matière de réduction des rendements; Benbelkacem *et al.* en 2000, ont estimé la réduction de rendement à 29 kg à l'hectare pour une incidence de la maladie équivalente à 1 %.

L'agent pathogène de la maladie cause des infections systémiques. Les premiers symptômes apparaissent très tôt sur les feuilles sous forme de stries jaunâtres. Au tallage, ces stries s'assombrissent et s'étendent sur toute la surface des feuilles qui finissent par se dessécher et se fendre longitudinalement (Figure 1b, page 69). Les plantes infectées sont de taille réduite (Sayoud *et al.*, 1999 ; Rappilly, 1971 in Benslimane 2002). Chez les variétés

sensibles, définies comme celles présentant plus de 60% d'infections après inoculation de l'agent pathogène (Shands and Arny, 1944 in Benbelkacem *et al.*, 2000 b), la maladie peut entraîner aussi bien des fontes de semis que l'absence de graines sur les plantes. La strie foliaire est transmise uniquement par la semence. Les premiers symptômes commencent à se manifester par l'apparition de strie sur les feuilles quelque temps après la levée. A l'épiaison, les rares épis formés sont rabougris et quasiment stériles. Lors de l'apparition des symptômes, les conidies produites sur les stries sont disséminées par l'air et vont infecter les plantes saines. Le champignon survit sous forme de mycélium dans le péricarpe et le tégument de la graine, mais pas dans l'embryon. Lors de la germination des graines et si la température du sol est inférieure à 12°C, la maladie se développe (Arru *et al.*, 2003); le mycélium pénètre dans la coléorhize et colonise la plante (Haegi *et al.*, 1998).

L'utilisation de variétés résistantes ou tolérantes à l'égard de la strie foliaire est le moyen de lutte le plus efficace et économiquement le plus rentable, les gènes de résistance constituent donc un grand intérêt pour le contrôle de la maladie (Bulgarelli *et al.*, 2004). La résistance à la strie foliaire est contrôlée par deux gènes Rdg (Resistance to Drechslera graminea) : Rdg1a identifié chez *Hordeum spontaneum* a été cartographié sur le bras long du chromosome 2H (Arru *et al.*, 2002 ; Biselli *et al.*, 2010) et Rdg2a identifié chez *Hordeum vulgare*, cartographié sur le bras court du chromosome 7 HS et cloné à partir du cv. Thibaut, il confère une immunité à l'isolat Dg2 (Tacconi *et al.*, 2001 ; Bulgarelli *et al.*, 2004 et 2010). Ces gènes provoquent une dégénérescence des hyphes dans la partie basale du coléorhize et préviennent l'apparition des symptômes de la strie sur les feuilles de plants jeunes ou âgés (Haegi *et al.*, 2008 ; Bulgerrelli *et al.*, 2004). Ces deux gènes ont largement été utilisés dans les programmes d'amélioration conventionnels (Bulgarelli *et al.*, 2010). Des QTLs conférant une résistance partielle ont également été localisés sur les chromosomes 7H (cv. Protector), 2H et 3H (cv. Steptoe) (Pecchioni *et al.*, 1996).

Au niveau Maghrébin, bon nombre d'auteurs et de professionnels ont rapporté la non disponibilité de sources de résistances (Sayoud *et al.*, 1999, Aouali et Douci-Khalfi, 2013). En Algérie, les deux variétés locales Saïda183 et Tichedrett, variétés les plus utilisées, se caractérisent par une sensibilité à cette maladie (Benbelkacem *et al.*, 2000 a et b ; Benslimane, 2002). Récemment, deux variétés issues du programme de création variétale national **El Bahia** et **El fouara** (Annexe 1) sont définies comme étant résistantes à cette maladie (CNCC, 2015).



Figure 1. Symptômes de la strie foliaire : a) sur le plant; b) sur feuille de la variété Saïda.

La variabilité est une condition indispensable pour aboutir à la sélection de plantes recherchées. Pendant très longtemps, les hybridations, les recombinaisons et les mutations spontanées ont constitué les seules voies de création et d'augmentation de la variabilité.

La variabilité issue de mutations spontanées étant trop faible pour permettre une quelconque utilisation pratique de celles-ci, l'utilisation d'agents mutagènes a été suggérée (chimiques et physique) afin d'augmenter leurs fréquences. En effet, si la source de variabilité pour un caractère recherché n'existe pas, alors l'induction de mutations devient la seule approche possible. S'agissant d'événement ponctuel, dans le cas de variétés bien adaptées, il est peu probable que le background génétique soit perturbé. Le choix du traitement (les agents physiques sont de puissants outils d'augmentations des fréquences), sa dose et la taille de la population sont les facteurs qui conditionnent la réussite de la mutagenèse (Donini et Sonnino, 1998).

Depuis les années trente, dans le monde entier, plus de 2250 variétés ont été développées par mutagenèse soit directement soit à partir de leurs descendances (Ahloowalia *et al.*, 2004). La mutagenèse induite s'est avérée très efficace lorsque l'amélioration d'un ou deux caractères (facilement identifiables) est recherchée dans une variété élite bien adaptée. Un grand nombre de caractères (rendement, réduction de la taille des plants, précocité, amélioration de la qualité des graines, amélioration de l'adaptabilité) dont la résistance aux pathogènes a ainsi été améliorée (Donini *et al.*, 1984) et les plus grands succès ont été obtenus chez l'orge, le riz et le blé dur.

Le nombre de variétés d'orge issu de la mutagenèse à avoir été homologué s'élève à 310 variétés mutantes. Un peu plus de 20% de ces mutants ont été développés par irradiation aux rayons gamma (principalement à 100 Gy) sur graines et 75% par hybridations avec, pour un des deux parents, un mutant. Les principaux caractères améliorés des variétés mutantes sont la résistance aux maladies (mildiou, rouilles, jaunisse nanisante, etc.), la tolérance aux herbicides, les hauts rendements, la large adaptabilité, la résistance à la sécheresse, la résistance à la verse et aux gelées, la précocité à la maturité, etc. ([https://mvd.iaea.org/#!/Search?Criteria\[0\]\[val\]=barley](https://mvd.iaea.org/#!/Search?Criteria[0][val]=barley)).

Le développement des technologies de cultures de tissus a été dicté par la nécessité de disposer d'outils performants de soutien et d'aide à l'amélioration conventionnelle des plantes (Henry *et al.*, 1998). L'amélioration des plantes dispose aujourd'hui d'un grand nombre de

techniques *in vitro* (sauvetage d'embryons, culture de cals, embryogenèse somatique, culture d'anthères et d'ovaires, fusion de protoplastes, etc.) qui augmente d'une part l'efficacité d'obtention de variations génétiques générées par les cultures de tissus et communément désignées par variation somaclonales (Brar et Jain, 1998) et qui, d'autre part augmente également l'efficacité de la sélection et de la reproduction du génotype recherché.

En effet, ce qui en condition naturelle met des années à être accompli, peut se faire en un temps extrêmement court par ces nouveaux procédés (Remotti, 1998). Alors que la procédure conventionnelle de sélection requiert elle des milliers de plants, plusieurs saisons et plusieurs milieux, les cultures *in vitro* permettent le screening de larges populations de cellules (Maliga, 1984) et la régénération de plantes dans un espace limité et dans un environnement contrôlé, contrairement aux essais champs. Permettant ainsi, de les soustraire aux interactions avec les environnements facilitant de ce fait la sélection.

L'efficacité du système de sélection *in vitro* réside dans le fait qu'il est possible de cultiver des millions de cellules dans une boîte de Pétri et de réaliser rapidement la multiplication cellulaire. La régénération de plants peut être réalisée en condition de sélection *in vitro* en exposant les cellules et les tissus en régénération à des conditions de stress (pression de sélection). Ces plantes régénérées sont par la suite testées en champ. Les caractères susceptibles d'être sélectionnés *in vitro* sont nombreux : la tolérance aux hautes températures, le froid, les gelées, la tolérance au sel, la résistance aux champignons et aux bactéries (par co-culture de l'hôte avec la toxine ou le pathogène), la tolérance à la sécheresse, la résistance aux herbicides, aux antibiotiques, à la toxicité d'un métal, etc.

La sélection *in vitro* pour la résistance aux maladies a été utilisée avec succès comme le soulignent les synthèses établies par Remotti, 1998 ; Svabova et. Lebeda, 2005, Lebeda et Svabova 2010 et Rao et Sandhya 2016. Ainsi, plus de 100 travaux ont porté, ces dernières décennies, sur l'utilisation de la sélection *in vitro* pour l'amélioration du niveau de résistance, de plus de 30 espèces végétales, à différents pathogènes. Ces travaux font part de l'utilisation de différents types de cultures *in vitro* et de différents agents sélectifs issus de 40 pathogènes différents (Lebeda et Svabova, 2010). La sélection *in vitro* pour la résistance à un pathogène peut avoir lieu quand les cultures *in vitro* sont exposées aux toxines produites par l'agent pathogène, au filtrat de toxine du pathogène, aux extraits du pathogène ou au pathogène lui-même (Daube, 1986). Ainsi, du filtrat de culture de *Fusarium oxysporum f. sp. Medicagnis* a

été utilisé avec succès pour la sélection de cals résistants à partir de *Medicago sativa*. Des plantes régénérées et évaluées *in vivo* ont montré une résistance au pathogène (Arcioni *et al.*, 1987). L'utilisation du filtrat de culture de *Drechslera teres* en milieu de régénération en présence de cals issus d'embryons immatures, a montré l'existence d'une corrélation entre la tolérance *in vitro* à la toxine et la résistance *in vivo* au pathogène pour l'orge (Hunold *et al.*, 1992). Des orges résistantes au pathogène *Helminthosporium. sativum* et au *Fusarium* sp ont également été sélectionnées *in vitro* par l'utilisation, respectivement de la toxine partiellement purifiée et d'acide fusarique, comme agents sélectifs dans les milieux de cultures en présence de cultures de cals (Chawla et Wenzel, 1987a et b ; Kole et Chawla, 1993). Du blé, résistant au pathogène *Helminthosporium. sativum* sélectionné *in vitro* à partir de la toxine partiellement purifiée a également été rapporté (Chawla et Wenzel, 1987a et 1989). L'utilisation des métabolites secondaires de *Mycosphaerella fijiensis*, comme agent sélectif, en présence de pousses méristématiques en culture a conduit à l'activation des mécanismes de défense chez des cultivars de banane (Hoss *et al.*, 2000). Toutes ces applications dépendent, cependant, de la disponibilité de systèmes d'induction de cultures et de régénération de plantes, *in vitro* établis et fiables.

La culture de tissus associée à la mutagenèse est un puissant outil au service de l'amélioration, en effet, l'application additionnelle aux cultures de tissus, d'agents mutagènes s'ajoute aux variations somaclonales et augmente la fréquence des mutations (Khan *et al.*, 2009). Ce système, peut accélérer les programmes d'amélioration à travers la création de variabilité, la sélection et la multiplication de génotypes souhaités et c'est le développement de procédures de cultures *in vitro* efficaces qui a permis l'utilisation de ce système pour améliorer aussi bien les plantes à reproduction sexuée que végétative (Maluszynski *et al.*, 1995). Les techniques *in vitro* permettent d'induire des mutations à de très grandes populations dans un espace réduit, ceci est d'un intérêt majeur puisque les fréquences moyennes pour passer d'un allèle dominant à un allèle récessif est de 1×10^{-4} (01 cellule sur 10 000 peut contenir un allèle mutant récessif) et de 1×10^{-6} pour passer d'un allèle récessif à un allèle dominant (01 cellule sur 1.000 000 peut contenir une mutation dominante) (Micke 1995). Les cultures de tissus nécessitent de faibles doses d'irradiation. Le grand nombre de subcultures qui peuvent être menées en un laps de temps réduit, permet d'augmenter la taille de la population à sélectionner et permet également de séparer les secteurs contenant des mutations de ceux qui n'en contiennent pas, trois à quatre subcultures sont ainsi nécessaires à cet effet (Ahloowalia, 1998). Dans plusieurs cas, les techniques de cultures *in vitro* et les

techniques d'induction de mutants ont été combinés pour l'obtention de génotypes désirables en un temps plus court et dans un espace plus limité par rapport aux méthodes conventionnelles (Ahloowalia, 1998 et Remotti, 1998). Ainsi des mutants de *Brassica oleracea* var. *botrytis* résistants au pathogène *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* ont été régénérés à partir de la sélection sur filtrat de culture (30%) de cals irradiés (Mangal et Sharma, 2002). Des mutants de canne à sucre résistants à la pourriture rouge ont été régénérés à partir de la sélection de cals irradiés aux rayons gamma sur milieu de régénération en présence de toxine partiellement purifiée de l'agent pathogène *Colletotrichum falcatum* (Ali *et al.*, 2007). Des mutants de canne à sucre tolérants à la sécheresse ont été régénérés à partir de cals irradiés aux rayons gamma et sélectionnés à partir d'une pression de sélection au PEG (10%) (Suhesti *et al.*, 2015), etc.

Dans le cadre de cette étude, où aucun travail similaire n'existe à notre connaissance, l'absence d'une large variabilité génétique de cultivars algériens pour la résistance à la strie foliaire, l'existence d'une source d'irradiation en Algérie et les avantages fournis par les cultures *in vitro*, ont suggéré de tester l'utilisation de la radio mutagenèse *in vitro* associée à la sélection *in vitro* pour l'amélioration génétique des deux variétés locales vis-à-vis de la strie foliaire. La production de mutants d'orge résistants à cette maladie contribuerait fortement à minimiser les effets des interactions et augmenterait le niveau et la stabilité des rendements.

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Les deux variétés locales d'orge cv. *Saïda* et *Tichedrett*, caractérisées par leur sensibilité à la strie foliaire ont été utilisées dans un système de radiomutagenèse *in-vitro* (Figure 2, page 76) associé à la sélection *in-vitro* en vue de l'obtention de mutants résistants à cette maladie.

2. Détermination des doses optimales d'irradiation

2.1. Système de régénération *in vitro* et tests de radiosensibilités en phase *in-vitro*

La radio sensibilité a été mesurée sur deux paramètres, la croissance du cal et la capacité de la régénération *in vitro* de plants. A cet effet, le système de radio mutagénèse *in vitro* a été réalisé selon la procédure suivante.

2.1.1. Induction et prolifération des cals

La callogénèse a été induite à partir de la culture d'embryons immatures issus de plantes mère cultivées en serre. Les épis ont été prélevés lorsque, les caryopses encore verts ont atteint le stade laiteux tardif à pâteux précoce (Hanzel *et al.*, 1985). Les caryopses ont été désinfectés par immersion dans de l'éthanol 70° pendant 30 secondes, puis dans une solution commerciale d'hypochlorite de sodium à 12° de chlore (3,8 % de chlore actif) additionnée de quelques gouttes de tween 20 et placés en agitation pendant 15 min, suivis de cinq rinçages successifs à l'eau distillée stérile. Sous hottes à flux laminaires, les embryons dont la taille était comprise entre 0,5 et 1,5 mm (Chang *et al.*, 2003), prélevés sur les caryopses stériles, ont été mis en culture (scutellum en contact avec le milieu) sur milieu d'induction. Un total de 756 embryons a été mis en culture ; soit 252 embryons par type d'auxine, à raison de trois répétitions de 12 boîtes de Pétri contenant chacune sept embryons.

Les cultures ont été incubées pendant 5 semaines à 25 °C et à l'obscurité. Les cals primaires induits ont été mis en prolifération dans les mêmes conditions de culture que pour l'induction. Les subcultures ont été réalisées toutes les trois semaines. Les milieux d'induction et de prolifération utilisés sont conformes à ceux de Dalheen et Bregister (2002) avec de légères modifications (Annexe 3). Trois différentes auxines 2,4D (3 mg/l), Dicamba (3 mg/l), et Picloram (5 mg/l) ont été testées pour la phase d'induction de cals. Le pH du milieu de culture est ajusté à 5,8. Le maltose et le reste du milieu ont été autoclavés séparément (120 min, 120°C, 1,05kg /cm²).

2.1.2. Irradiation des cals

Les cals âgés de trois semaines ont été irradiés (source gamma ray ⁶⁰Co, Commissariat à l'Energie Atomique : COMENA) avec 7 doses : 0Gy, 3 Gy, 5 Gy, 8 Gy, 10 Gy, 15Gy et 20 Gy. Après irradiation, les cals ont été immédiatement repiqués sur milieu de maintenance pour une durée de trois semaines.

2.1.3. Effet de la dose d'irradiation sur la croissance du cal

L'effet de la dose d'irradiation sur la croissance du cal a été mesuré par le paramètre "poids frais du cal". Pour cela, pour chaque milieu et chaque dose d'irradiation, dix répétitions d'un échantillon de 100 mg de cals ont été pesés puis repiqués sur le milieu de maintenance.

Après quatre semaines, ces cals ont été de nouveau pesés. La DL50 a été estimée à partir de l'équation de régression linéaire reliant la dose d'irradiation et le taux de croissance du poids frais du cal en % du témoin calculé selon la formule de **Novak (1991)** : $(X_n - X_0) / (X_c - X_0) \times 100$, ou X_0 = valeur du poids frais de l'inoculum initial, X_n = valeur du poids frais du cal irradié pour la dose n, X_c = valeur du poids frais du cal témoin non irradié.

2.1.4. Effet de la dose d'irradiation sur la capacité de la régénération *in-vitro* de plants

Après trois cycles de maintenance, les cals irradiés ont été mis en régénération, pour une durée de quatre semaines, à raison de 1 g de cals par boîtes de Pétri x 10 répétitions par dose d'irradiation. La constitution du milieu de régénération est identique à celle du milieu de maintenance mais dépourvu d'auxine. Les plantules régénérées et les foyers verts apparus sur les cals ont été transférés, pour une durée de quatre semaines, sur milieu de développement conforme à celui de Dalheen et Bregister (2002). L'enracinement a été réalisé pendant quatre semaines sur ce même milieu additionné d'AIB (1mg/l). L'effet de la dose d'irradiation sur la régénération de plantes a été mesuré par le pourcentage de plantes vertes régénérées rapporté au contrôle (plants régénérés à partir de cal non irradié : 0Gy) et estimé à partir de l'équation de régression.

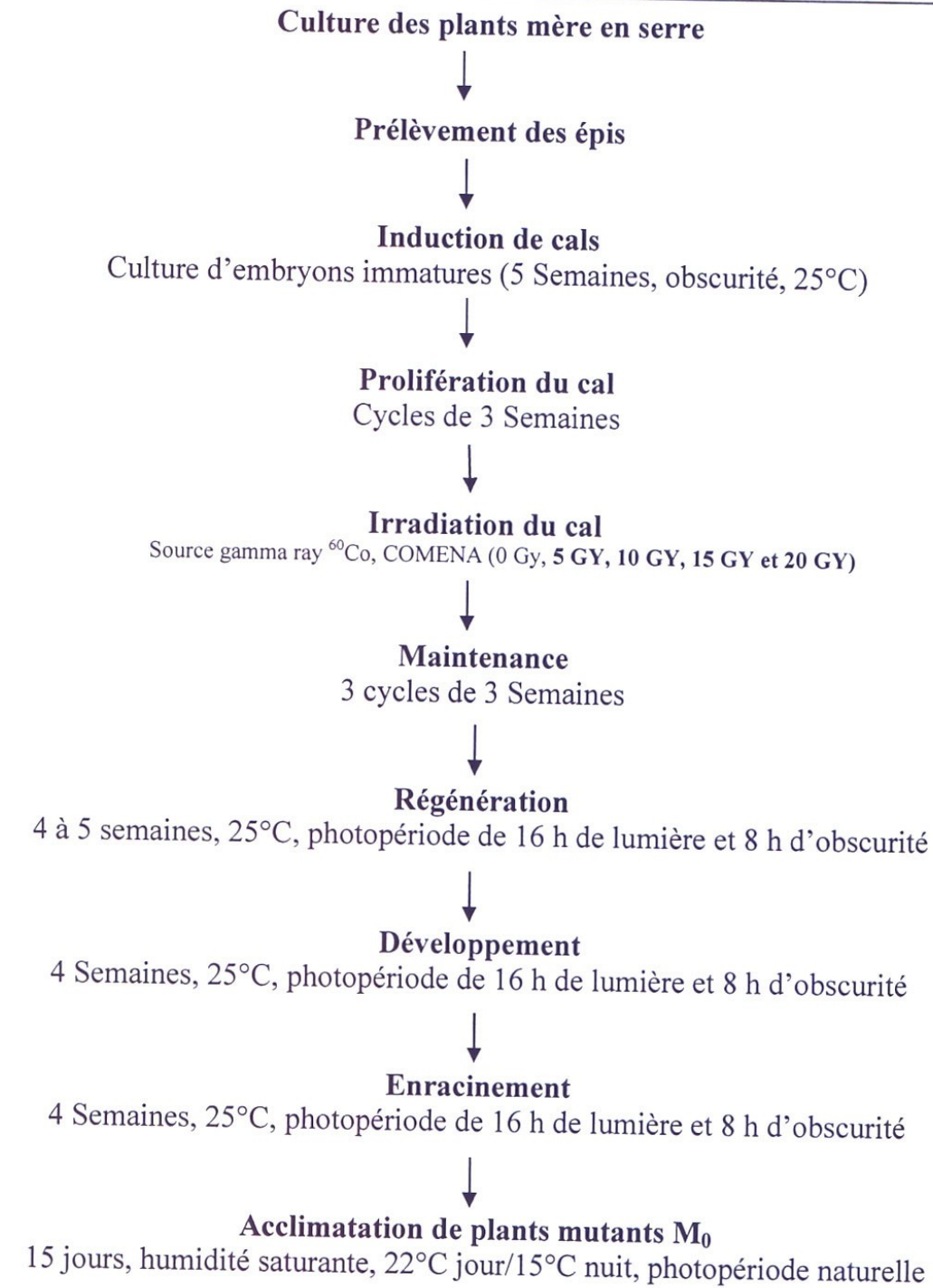


Figure 2. Procédure utilisée pour l'obtention de mutants d'orge *in vitro*.

2.2. Effet de la dose d'irradiation en phase *in-vivo*

2.2.1. Acclimatation des mutants

Les plantules obtenues ont été soigneusement retirées des tubes, les racines délicatement débarrassées du milieu de culture par rinçage à l'eau tiède avant d'être immergées dans une solution fongique (Bénomyl, 2 g /l). Les plantules ont été alors acclimatées par repiquage dans des sachets contenant de la perlite préalablement saturée à l'aide d'une solution nutritive complète NPK (20 :20 :20). Les plantules ont été entièrement ensachées pendant quinze jours et placées en serre contrôlée. A la fin de l'acclimatation, les plants mutants, ont été repiqués en pots contenant un sol reconstitué de terre, de sable et de tourbe (1 :1 :1) et placés dans une serre contrôlée (Température 22°C jour/15°C nuit, humidité relative entre 60 et 80 %, photopériode naturelle) et ce jusqu'à la maturité.

2.2.2. Evaluation de la radiosensibilité sur quelques paramètres mesurés sur les plants mutants en M1

A la récolte, la hauteur du maître brin (cm), la hauteur de la plante (cm), la fertilité du maître brin (%), la fertilité de la plante (%) ont été mesurés et la radiosensibilité estimée sur ces caractères.

3. Sélection *in vitro* pour la résistance aux éléments toxiques de *Pyrenophora graminea* (isolat virulent 25 AB 15)

Les éléments toxiques de l'isolat **25 AB 15** (isolat le plus virulent, voir Annexe 4) de *Pyrenophora graminea* a été utilisé dans le système de sélection *in-vitro*

3.1. Test d'efficacité de la technique de sélection «double couche»

La sélection de plants d'orge résistants aux métabolites toxiques de *Pyrenophora graminea* a été réalisée durant la phase de régénération en utilisant la technique de la double couche (Lepoivre *et al.*, 1986 ; Kasem *et al.*, 1991). Un test préliminaire de vérification de l'efficacité sélective de la technique en utilisant les cals non irradiés issus des deux variétés sensibles (Saïda et Tichedrett) a été réalisé. Il s'agit de tester l'effet inhibiteur du milieu sélectif (double couche en présence du mycélium de *Pyrenophora graminea* isolat virulent 25AB15) sur la croissance relative du poids frais du cal et la régénération de plants en

comparaison avec deux milieux témoins : le contrôle 1 (milieu de régénération /ou milieu de maintenance) et contrôle 2 (double couche sans mycélium).

3.1.1. Test sur le paramètre «croissance relative du poids frais du cal»

Dans ce test, 500 mg de cal non irradié (inoculum initial /05 répétitions) issu de la variété Saïda a été mis en maintenance selon la procédure suivante (Figure 3).

- Un premier échantillon de cal (**500 mg**) est mis en maintenance sur le milieu de maintenance (**contrôle 1**) (Figure 3 a),
- Un deuxième échantillon est placé sur le milieu (**contrôle 2**) (double couche PDA/milieu maintenance sans mycélium) (Figure 3 b),
- Un troisième échantillon est placé sur le milieu sélectif (**S**) (double couche en présence du mycélium de *Pyrenophora graminea* isolat 25AB15 (Figure 3 c),

Les cals sont incubés à l'obscurité à 25°C pendant quatre semaines puis repesés.



Figure 3. Test d'efficacité sélective de la technique de la « double couche » avec les cals non irradiés de la variété Saïda en milieu de maintenance. **a)** forte prolifération du cal sur le contrôle 1 (milieu de maintenance). **b)** forte prolifération du cal sur le contrôle 2 (double couche PDA/milieu de régénération sans mycélium). **c)** Forte inhibition de la prolifération du cal sur le milieu sélectif S (double couche en présence du mycélium de l'isolat virulent 25AB15 de *P. graminea*).

3.1.2. Test sur le paramètre « régénération de plants »

Un deuxième test de confirmation de l'efficacité de la procédure «double couche» a également été testé sur le paramètre régénération. Dans ce test, 1,5 g de cals non irradiés induits et mis en prolifération selon les procédures décrites au paragraphe 2.1.1, sont mis en régénération pendant cinq semaines (à 25°C et 16 h de lumière) selon la procédure suivante :

- Un premier échantillon de cal (1,5 g) est mis en régénération (**contrôle 1**) (Figure 4a),
- Un deuxième échantillon est placé sur le milieu (**contrôle 2**) (double couche PDA/milieu de régénération sans mycélium) (Figure 4 b),
- Un troisième échantillon est placé sur le milieu sélectif (**S**) (double couche en présence du mycélium de *Pyrenophora graminea* isolat 25AB15 (Figure 4 c).

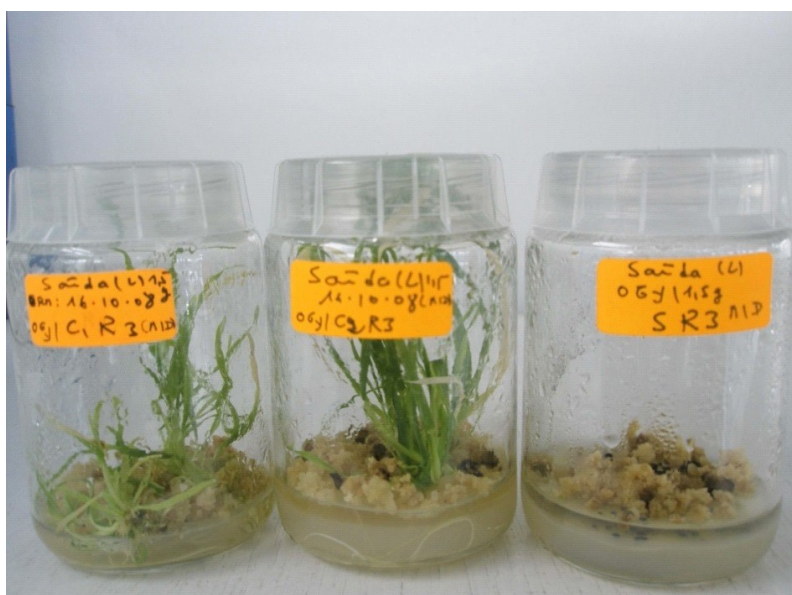


Figure 4: Test d'efficacité sélective de la technique de la « double couche » avec les cals non irradiés de la variété Saïda en milieu de régénération. **a)** plantules et pousses vertes sur le contrôle 1 (milieu de régénération). **b)** plantules régénérées sur le Contrôle 2 (double couche PDA/milieu de régénération sans mycélium). **c)** Inhibition totale de la régénération sur le milieu sélectif S (double couche en présence du mycélium de l'isolat virulent 25AB15 de *P. graminea*).

3.2.Obtention de mutants sélectionnés *in-vitro* pour la résistance aux éléments toxiques de *Pyrenophora graminea*

3.2.1 .Callogénèse (induction et maintenance) et irradiation

Des embryons immatures, au nombre de 1250 pour la variété Saïda et 1340 embryons pour la variété Tichedrett, ont été utilisés pour l'induction de cal conformément à la procédure décrite au paragraphe 2.1.1. Les milieux d'induction (3 mg/l 2,4D) et de maintenance (3mg/l 2,4D+0,1 mg/l BAP) utilisés sont conformes à ceux de Dalheen et Bregitzer (2002) avec de légères modifications. Le pH du milieu de culture est ajusté à 5,8. Le maltose, le Fer et le reste du milieu sont autoclavés séparément (120 min, 120°C, 1,05kg /cm²). Les cultures sont incubées à l'obscurité et à une température de 25°C pendant cinq semaines. Les cals primaires induits sont mis en prolifération à l'obscurité et à une température de 25°C. Trois subcultures sont réalisées avec des intervalles de trois semaines chacune. Les cals ont été irradiés dans des boîtes de Pétri avec 2 doses : **5 Gy** et **10 Gy** (rayons gamma, source ⁶⁰Co du COMENA). Les quantités de cals ayant été irradiés aux deux doses sont identiques, quelques boîtes témoins ont été soustraites aux irradiations. Juste après l'irradiation, les cals sont immédiatement repiqués sur un milieu de maintenance pour un cycle de trois subcultures de trois semaines d'intervalle.

3.2.2. Sélection *in vitro*

La sélection de plants d'orge résistants aux métabolites toxiques de *Pyrenophora graminea* (agent causal de la strie foliaire) a été réalisée durant la phase de régénération (Figure 5). Le milieu de régénération est dépourvu d'auxines et contient 1 mg/l de BAP. Les cals irradiés ont été placés sur le milieu de sélection (double couche PDA/milieu de régénération en présence du mycélium de *Pyrenophora graminea*, isolat virulent 25AB15) pendant cinq semaines sous la lumière. Des cals témoins, non irradiés ont également été placés en milieu de régénération avec et sans pression de sélection. Les plantules régénérées et les foyers verts apparus sur les cals sont transférés sur le milieu de développement (MS1/2), puis d'enracinement avant d'être acclimatés.



Figure 5. Cultures en cours de sélection sur milieu de régénération.

3.2.3. Acclimatation et analyse du comportement *in-vivo* des mutants sélectionnés

Les plants mutants obtenus ont été acclimatés selon la même procédure décrite ci-dessus (paragraphe 2.2.1). A maturité les grains M₂ ont été récoltés sur chacun des mutants M₁. Ces grains ont été semés et les ségrégations en M₂ évaluées. Des tests d'inoculations *in-vivo*, à partir de la technique sandwich (Houston et Oswald, 1948 *in* Benslimane, 2002)/isolat 25AB15 (Figure 13 a-b-c-d-e, page 100), ont été réalisés à différentes générations (M₃ et M₄) afin d'évaluer leur résistance à la souche 25AB15 de l'agent pathogène de la strie foliaire.

- **Résultats et discussion**

4.1. Détermination des doses d'irradiation optimale

4.1.1. Tests de radiosensibilités en phase *in-vitro*

4.1.1.1. Influence de l'explant sur l'efficacité de la Callogénèse

Les deux variétés, Saïda et Tichedrett, ont eu une très bonne réaction à la culture des embryons immatures (Figure 6). Le taux de callogénèse est de 100 % pour les trois auxines. Différents types de cals ont été obtenus, des différences ont en effet été observées au niveau de la texture (cals friables et cals compacts et cals parfois d'aspect vitreux) et la couleur (cals blancs, beiges ou bruns).

4.1.1.2. Influence des auxines sur le nombre de plantules régénérées

Des plantules ont été régénérées à partir de cals initiés sur l'ensemble des milieux (Tableau 1 et Figure 7, page 84). Cependant la variété Tichedrett a le mieux répondu avec 116 plantes vertes régénérées et seulement 3 plantes albinos. Le plus grand nombre de plantes régénérées (59) est obtenu avec le 2.4 D suivi du Picloram (34 plantes). Par contre, la variété Saïda a faiblement réagi avec uniquement 24 plantes vertes mais aucune plante albinos. Le plus grand nombre de plantes régénérées (14) a été obtenu avec le picloram.

4.1.1.3. Radiosensibilité du cal :

Le tableau 2, page 85 montre que le taux de croissance du cal diminue avec l'augmentation de la dose d'irradiation. Cependant, les faibles doses (3 et 5 Gy) semblent stimuler dans certains cas la croissance du cal.

4.1.1.4. Influence de la dose d'irradiation sur la capacité de régénération

La variété Saïda n'ayant pas répondu positivement en termes de suffisance et de cohérence du nombre de plantes régénérées, y compris le témoin (Tableau 3, page 86), l'étude de l'influence de la dose d'irradiation sur la régénération de cal a été réalisée uniquement sur la variété Tichedrett. La Courbe de réponse de la capacité de régénération de cal aux différentes doses d'irradiation gamma (Figure 8, page 86 et Figure 9, page 87) montre l'effet stimulant des faibles doses (5Gy) sur la régénération de plantes (146 %) suivi d'une forte décroissance du taux de régénération avec l'augmentation du niveau de l'irradiation. **La DL30 et la DL50** pour la régénération de plantes sont estimées (équation de régression linéaire) respectivement à **10 Gy** et **14 Gy**.

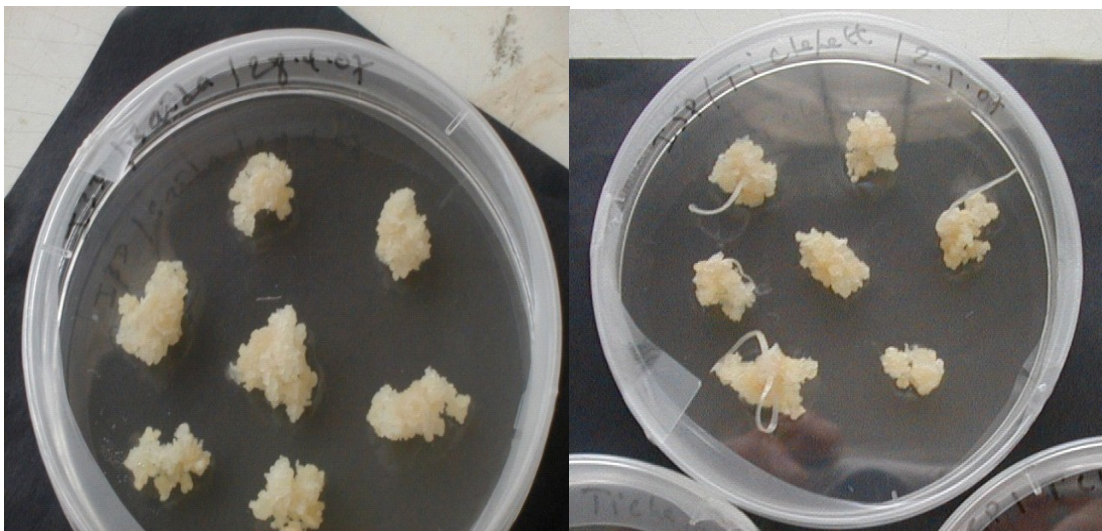


Figure 6 : Cals issus d'embryons immatures, a) : à partir de la variété Saïda sur milieu d'induction contenant le 2.4 D (3mg /l), b) : à partir de la variété Tichedrett sur milieu d'induction contenant le picloram (5 mg /l).



Figure 7 : plantules vertes régénérées à partir de cals irradiés induits sur le milieu contenant le 2, 4 D (3 mg/l) pour la variété Saïda et picloram (5mg/l) pour Tichedrett.

Tableau 1: Nombre de plants régénérés par variété

Doses (Gy)	Tichedrett			Saïda		
	2,4D	Dicamba	Picloram	2,4D	Dicamba	Picloram
0	20	5	1	0	2	0
3	0	0	12	2	0	3
5	20	3	15	0	0	2
8	0	7	0	1	0	5
10	19	0	0	1	4	1
15	0	5	6	0	0	0
20	0	3	0	0	0	3
Total	59	23	34	04	06	14
Total par variété	116			24		

Tableau 2 : Effet de la dose d'irradiation sur l'inhibition de la croissance du poids frais du cal pour chacune des auxines.

Auxines	Doses d'irradiation (Gy)	Croissance du poids frais Wt (% du contrôle)	
		Saïda	Ticherdrett
2,4D	0	100 ± 0.0	100 ± 0.0
	3	71,1 ± 10.5	-
	5	70,5 ± 18.5	99,3 ± 16.3
	8	110,7 ± 10.4	74,8 ± 16.8
	10	52,3 ± 10.1	52,6 ± 4.7
	15	45,7 ± 8.8	46,5 ± 7.6
	20	29,5 ± 5.0	47,2 ± 6.8
DL50		14 Gy	17 Gy
DICAMBA	0	100 ± 0.0	100 ± 0.0
	3	160,5 ± 22.9	107,3 ± 19.3
	5	110,9 ± 16.3	99,0 ± 10.2
	8	113,1 ± 24.3	86,1 ± 19.5
	10	91,9 ± 17.8	77,2 ± 12.3
	15	52,0 ± 6.4	68,0 ± 12.9
	20	44,5 ± 9.9	54,7 ± 6.3
DL50		18 Gy	27 Gy
PICLORAM	0	100 ± 0.0	100 ± 0.0
	3	62,9 ± 8.7	112,6 ± 17.6
	5	67,6 ± 16.8	68,6 ± 14.5
	8	23,5 ± 3.7	56,2 ± 9.7
	10	23,2 ± 4.1	56,8 ± 5.5
	15	16,6 ± 3.4	55,5 ± 6.3
	20	16,2 ± 2.2	55,2 ± 8.7
DL50		7 Gy	21 Gy

*Les valeurs de ce tableau sont la moyenne ± l'erreur standard (se) de 10 répétitions.

Tableau 3 : Nombre et pourcentage de régénération de plantes pour différentes doses d'irradiation gamma

Doses (Gy)	Pourcentage de régénération (% du contrôle)			
	Tichedrett		Saïda	
	N	%	N	%
0	26	100	2	-
3	12	46,1	5	-
5	38	146,1	2	-
8	07	27,0	6	-
10	19	73,1	6	-
15	11	42,3	0	-
20	03	11,5	3	-

N : Nombre total de plantes régénérées pour l'ensemble des auxines ; (%) : $(N/26 \times 100)$.

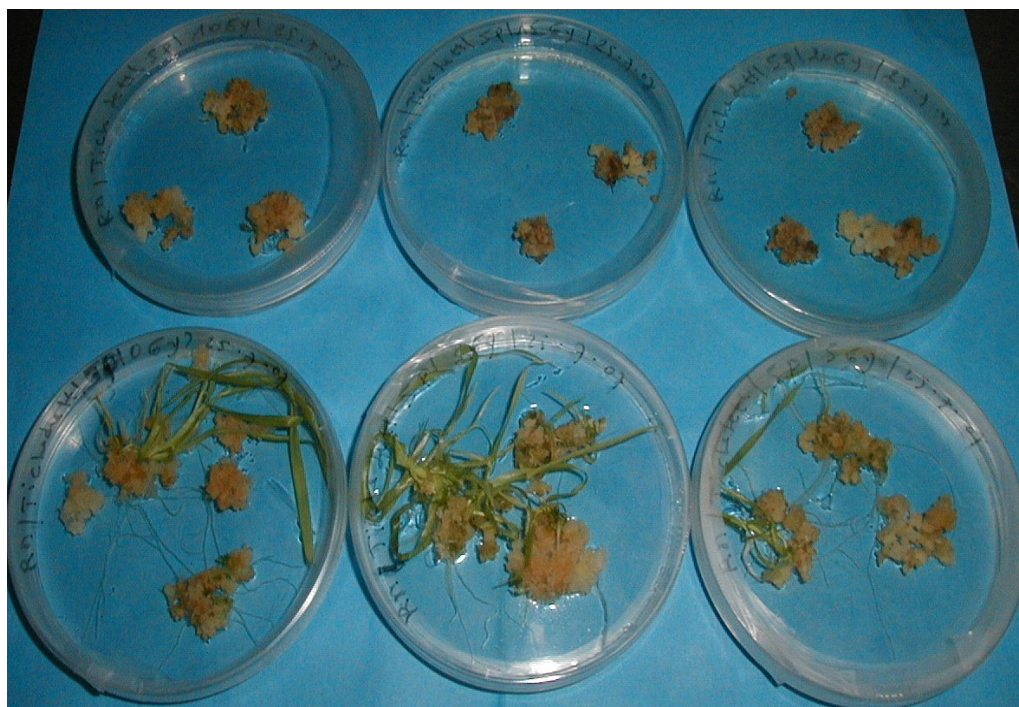


Figure 8 : Régénération à partir de cals irradiés issus de la variété Tichedrett.

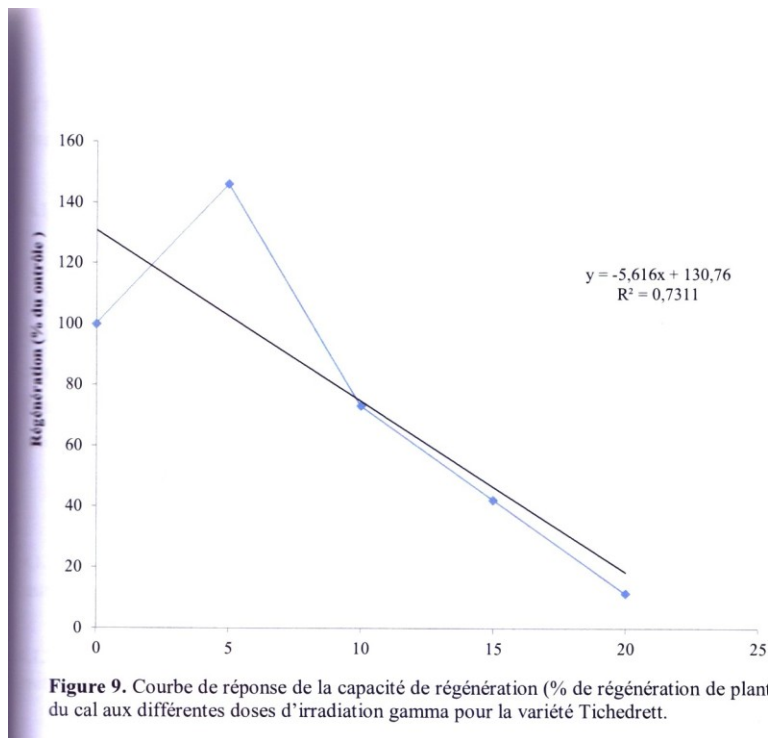


Figure 9. Courbe de réponse de la capacité de régénération (% de régénération de plantes) du cal aux différentes doses d'irradiation gamma pour la variété Tichedrett.

Les résultats, relatifs à l'étude de la radiosensibilité en phase *in vitro*, obtenus dans cet essai ont également été rapportés par différents auteurs. Ainsi, Patade *et al.* (2008) testant, pour la canne à sucre, la radiosensibilité du cal issu de différents systèmes *in vitro* et irradiés à différentes doses de rayons gamma (de 10 à 50 Gy) ont obtenu une décroissance de la survie des explants avec la croissance de la dose d'irradiation. Ils rapportent que le taux de survie le plus élevé est obtenu pour le contrôle (10 Gy) et le plus bas est observé pour la dose d'irradiation de 50 Gy. Cette tendance a également été observée pour le paramètre régénération pour lequel le taux est élevé pour les faibles doses (10 et 20 Gy) puis décroît au-delà de 20 Gy pour ne montrer aucune régénération au-delà de 30 Gy. Cette tendance a également été rapportée, toujours pour la canne à sucre, par Khan *et al.* en (2009), Suhesti *et al.* (2015) et Penna *et al.* (2012).

L'effet stimulant des faibles doses observé sur le paramètre croissance du cal et régénération, a également été signalé par Puchooa en 2005 qui rapporte un effet "boustant" de la dose

d'irradiation de 5 Gy aux rayons gamma sur la croissance et la régénération *in vitro* de variétés d'*Anthurium* (*Anthurium andreaeanum*).

4.1.1.5. Doses d'irradiation optimales en phase *in vitro*

Cette étude a montré que les milieux d'induction de cals et de régénération de plantes utilisés ont permis une meilleure réponse chez la variété Tichedrett que chez le cv Saïda. Cette dernière n'est pas récalcitrante mais exige l'optimisation de la phase de régénération. Les tests de radiosensibilité suggèrent, chez le cv Tichedrett, la possibilité d'utiliser deux doses, 5Gy (effet stimulant sur la régénération) couplée à un système efficace de sélection *in vitro* et 10 Gy (DL30 / 70% de régénération) qui permettra un meilleur taux de mutation.

4.1.2. Evaluation de la radiosensibilité sur quelques paramètres mesurés sur les plants mutants en M1 (tests *in-vivo*)

4.1.2.1. Analyse du pourcentage de fertilité, de la hauteur des plants et des tiges des mutants issus de la variété Tichedrett

L'analyse de la variance (Tableau 4) pour la fertilité et la hauteur a mis en évidence un effet très hautement significatif ($P < 0,001$) de la dose d'irradiation sur la fertilité du maître brin, la fertilité de la plante la hauteur de la plante ainsi que la hauteur du maître brin.

La séparation des moyennes par le test ppds (plus petite différence significative) à $P < 0,05$ (Tableau 5) montre globalement que la fertilité et la hauteur diminuent (Figure 10, page 91) avec l'augmentation de la dose d'irradiation. On distingue trois grands groupes pour la fertilité : le 1^{er} groupe (0 et 3 Gy) enregistre les fertilités les plus importantes (>60%), le 2^{ème} groupe intermédiaire (5, 8, 10 Gy) avec une fertilité avoisinant 50% et enfin le dernier groupe (15 et 20 Gy) comprenant une fertilité pratiquement nulle (0 à 7%). Pour les caractères hauteur de la plante et de la tige, les hauteurs les plus importantes sont obtenues avec 3Gy (121, 66cm) et plus basses avec 20Gy (59,5cm).

Tableau 4: Analyse de la variance de la hauteur et de la fertilité des plantes M1 d'orge (cv. Tichedrett) régénérés à partir de cals irradiés issus d'embryons immatures (maître-brin et plante).

Caractères	Source de variation	SCE	d.d.l.	CM	F observé
Hauteur des plantes (cm)	Doses d'irradiation Erreur	8337,668 11129,05	6 92	1389,611 120,967	11,487***
hauteur du maître-brin (cm)	Doses d'irradiation Erreur	6135,888 9737,458	6 92	1022,648 105,841	9,662***
Fertilité du maître-brin ¹ (%)	Doses d'irradiation Erreur	16722,460	6	2787,076 306,721	9,086***
Fertilité de la plante ¹ (%)	Doses d'irradiation Erreur	12435,170 27342,620	6 92	2072,528 294,006	7,049***

1: L'analyse de la variance a été réalisée sur les données transformées en arcsin √%. *** Très hautement significatif à P< 0,001.

Tableau 5: Moyennes de la hauteur et de la fertilité des plants M1 d'orge (variété Tichedrett) régénérés à partir de cals irradiés issus d'embryons immatures (maître-brin et plante).

Doses d'irradiations (Gy)	Hauteur de la plante (cm)	hauteur du maître-brin (cm)	Fertilité de l'épi ¹ (%)	Fertilité de la plante ² (%)
0 (19)	117,3 ± 2,77 ^{ab}	96,3 ± 2,52 ^{ab}	61,4 ± 5,76 ^a	56,8 ± 5,72 ^a
3 (9)	121,7 ± 3,31 ^a	100,8 ± 3,02 ^a	66,1 ± 8,15 ^a	61,8 ± 7,58 ^a
5 (41)	113,4 ± 1,75 ^b	93,3 ± 1,62 ^b	47,7 ± 4,28 ^{ab}	48,2 ± 4,31 ^{ab}
8 (6)	109,4 ± 3,71 ^{bc}	89,3 ± 3,74 ^{bc}	52,3 ± 7,26 ^{ab}	48,2 ± 4,31 ^{ab}
10 (15)	102,9 ± 2,19 ^c	83,3 ± 2,25 ^c	35,3 ± 5,54 ^b	45,8 ± 7,43 ^b
15 (7)	108,1 ± 5,37 ^{bc}	88,6 ± 5,07 ^{bc}	7,9 ± 2,33 ^c	6,5 ± 1,98 ^c
20 (2)	59,5 ± 0,50 ^d	48,5 ± 0,00 ^d	0,0 ± 0,00 ^c	0,0 ± 0,00 ^c

Les données sont représentées par la moyenne ± erreur standard (±se). Le chiffre entre parenthèse indique le nombre de plants M1 examiné. **1** : (Nombre de grains par épi/ Nombre d'épillets par épi) x100 du maître-brin. **2** : Nombre de grains par plant/ Nombre d'épillets par plant x100. Les différentes lettres d'une même colonne indiquent une différence significative selon le test ppds de Fisher à P<0, 05. L'analyse a été réalisée sur les pourcentages transformés en arcsin √%, les moyennes sont ici représentées en %.

4.1.2.2. Analyse du pourcentage de fertilité, de la hauteur des plants et des tiges des mutants issus de la variété Saïda

L'analyse de la variance (Tableau 6) pour la fertilité et la hauteur a mis en évidence un effet très hautement significatif ($P < 0,001$) de la dose d'irradiation sur la fertilité du maître brin, la fertilité de la plante, la hauteur de la plante ainsi que la hauteur du maître brin.

Concernant la fertilité (%), la comparaison des moyennes par le test ppds au seuil de 5 % (Tableau 7) n'a pas montré de différences significatives entre les doses (0, 3, 8 et 10 Gy) contrairement au c.v. Tichedrett. La dose 5Gy montre une valeur anormale de même ordre de grandeur que 20 Gy qui demeure la dose donnant une fertilité nulle et une réduction maximale de la hauteur. La faiblesse des effectifs de plants régénérés pour cette variété pourrait expliquer certaines anomalies constatées.

Tableau 6 : Analyse de la variance de la hauteur et de la fertilité des plants M1 d'orge (variété Saïda) régénérés à partir de cals irradiés issus d'embryons immatures (maître-brin et plante).

Caractères	Source de variation	SCE	d.d.l.	CM	F observé
Hauteur des plantes (cm)	Doses	4751,656	5	950,331	24,313***
	d'irradiation Erreur	508,133	13	39,087	
Hauteur du maître-brin (cm)	Doses	3522,540	5	704,508	16,5893***
	d'irradiation Erreur	552,076	13	42,467	
Fertilité du maître-brin ¹ (%)	Doses	9267,190	5	1853,438	10,770***
	d'irradiation Erreur	2237,049	13	172,080	
Fertilité de la plante ¹ (%)	Doses	8900,285	5	1780,057	9,942***
	d'irradiation Erreur	2327,546	13	179,042	

1: L'analyse de la variance a été réalisée sur les données transformées en arcsin $\sqrt{\%}$. *** Très hautement significatif à $P < 0,001$.

Tableau 7 : Moyennes de la hauteur et de la fertilité des plants M1 d'orge (variété Saïda) régénérés à partir de cals irradiés issus d'embryons immatures (maître-brin et plante).

Radiation doses (Gy)	hauteur de la plante (cm)	hauteur du maître-brin (cm)	fertilité du maître-brin ¹ (%)	fertilité de la Plante ² (%)
0 (2)	114,5±5,50 ^c	93,5 ±50 ^{bc}	62,0±23,00 ^a	57,5±26,50 ^a
3 (3)	119±2,02 ^{bc}	99,5±2,92 ^{ab}	79,3±6,35 ^a	77,8±0,16 ^a
5 (2)	107,5±1,50 ^c	84,5±1,50 ^c	3,5±1,50 ^b	2,5±0,66 ^b
8 (6)	130,5±2,2 ^a	108,3±2,09 ^a	55,3± 8,75 ^a	54,2±9,16 ^a
10 (5)	126,2±3,12 ^{ab}	103,8±3,20 ^{ab}	56,7±12,97 ^a	54,5±13,28 ^a
20 (3)	83,3±5,23 ^d	68,2±5,60 ^d	0,0±0,00 ^b	0,0±0,00 ^b

Les données sont présentées par la moyenne ±erreur standard (±se). Le chiffre entre parenthèse indique le nombre de plants M1 examiné. 1: (Nombre de grains par épis/ Nombre d'épillets par épi) x100 du maître-brin. 2: Nombre de grains par plante/ Nombre d'épillets par plante x100. Les différentes lettres d'une même colonne indiquent une différence significative selon le test ppds de Fisher à P<0,05. L'analyse a été réalisée sur les pourcentages transformés en arsin $\sqrt{\%}$, les moyennes sont ici représentées en %.

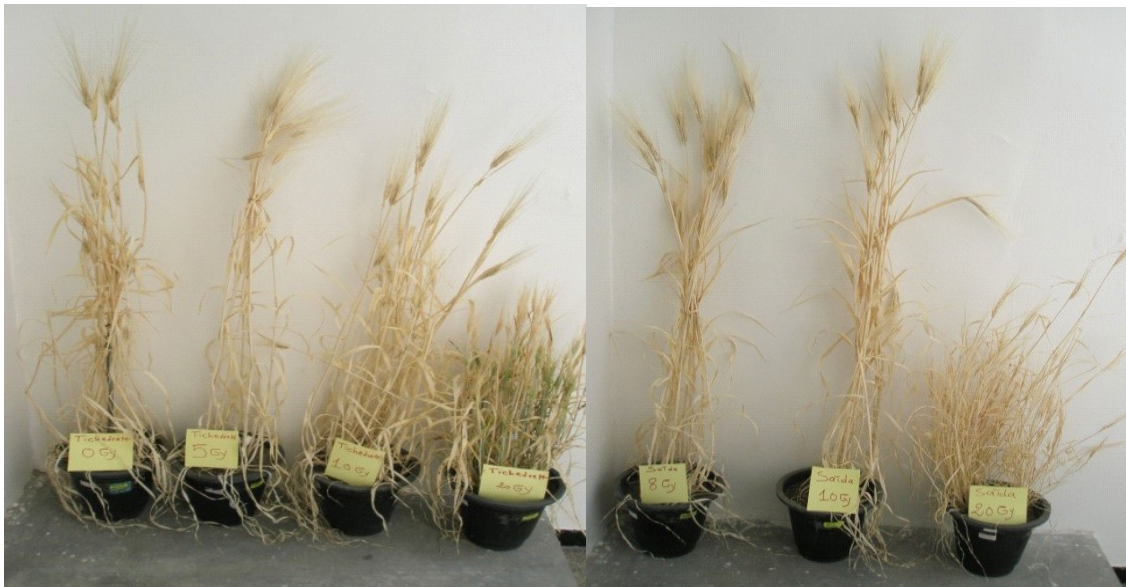


Figure 10. Plants M1 à maturité, (a) variété Tichedrett issus de cals irradié avec 0, 5, 10 et 20 Gy et (b) variété Saïda issus de cal irradié avec 8, 10 et 20 Gy.

4.1.2.3. Doses d'irradiation optimales en phase *in-vivo*

Les résultats indiquent que les fortes doses (15 et 20 Gy) ne peuvent être utilisées en système *in-vitro* sur cal, ceci essentiellement en raison du niveau de fertilité quasiment nul qu'elles induisent sur les mutants en M1. Le niveau de fertilité le plus élevé pour les deux variétés Tichedrett et Saïda est obtenu à partir de la dose d'irradiation 3 Gy, respectivement 61 % et 77 %. Hormis le pourcentage de fertilité anormal obtenu à 5 Gy à partir de la variété Saïda, celle-ci, ainsi que le reste des doses (0, 5, 8 et 10) permettent des niveaux de fertilité variant entre 45 et 57 %. Les résultats de l'effet des doses d'irradiation en phase *in vivo* confirment la tendance observée en phase *in vitro*, plus les doses d'irradiation étaient élevées plus les paramètres étudiés (croissance du cal et régénération) montraient une diminution. Ainsi, les doses optimales à retenir et à utiliser en système *in vitro* pour les deux variétés d'orges locales utilisées sont 5 Gy, pour son effet stimulant et 10 Gy pour les fréquences de mutations générées.

4.2. Sélection *in vitro* pour la résistance aux éléments toxiques de *Pyrenophora graminea* (isolat virulent 25 AB 15)

4.2.1. Test d'efficacité de la technique de sélection «double couche»

4.2.1.1. Test sur le paramètre «croissance relative du poids frais du cal»

Le Tableau 8 montre l'absence de différences significatives (test de Student $p < 0,05$) entre le contrôle 1 et le contrôle 2 pour l'augmentation du poids frais du cal. Par contre, une différence significative existe entre le contrôle 1 et le contrôle 2 d'une part et milieu sélectif (S) d'autre part, indiquant la diffusion des éléments toxiques sécrétés par le mycélium de *Pyrenophora graminea* (isolat virulent 25AB15) vers le milieu de maintenance provoquant une très forte inhibition (voir figure 3, page 78) de la prolifération du cal sur le milieu sélectif (S). Ainsi, le taux de croissance du poids frais du cal passe de 320,5 % (contrôle 1) et 355,6 % (contrôle 2) à 66,6 % (S) indiquant également la sensibilité du cal vis-à-vis des éléments toxiques de l'isolat.

Tableau 8: Croissance du poids frais relatif de cals issus d'embryons immatures de la variété sensible Saïda placé pendant 4 semaines sur double couche avec ou sans éléments toxiques de l'isolat 25AB15 de *P. graminea*.

Poids frais du cal (mg)	Milieu de maintenance (control 1)	Double couche	
		Sans <i>P. graminea</i> (control 2)	avec <i>P. graminea</i>
Poids de l'inoculum initial (W_0)	500±0,00	500±0,00	500±0,00
Poids après 4 semaines (W)	2102,6 ± 181,06	2277,8 ± 472,60	833,2 ± 99,42
Différences (W- W_0)	1602,2 ^a ± 181,06	1777,8 ^a ± 472,60	333,0 ^b ± 99,27
Croissance du poids frais relatif ¹	320,5 ^c ± 36,21	355,6 ^c ± 94,52	66,6 ^d ± 19,85

Moyenne ± erreur standard de cinq répétitions. Les différentes lettres d'une même ligne indiquent une différence significative selon le test de Student à $p < 0,05$. 1: Différence en % de l'inoculum initial $(W - W_0 / W_0) \times 100$.

- **Test sur le paramètre « régénération de plantes »**

Au cours de ce test, aucune régénération n'a été observée sur le milieu sélectif (double couche en présence du mycélium de *Pyrenophora graminea*). Par contre, des plantules vertes ont été régénérées chez le **contrôle 1** et le **contrôle 2** (voir figure 4, page 79). Ceci indique, à nouveau, aussi bien l'efficacité du système de sélection que la sensibilité du cal. L'efficacité de la technique de la double-couche avait déjà été rapportée par les auteurs, ainsi en 1991 Kasem *et al.* mettent en évidence la capacité de sélection pour la résistance au fusarium chez le blé à partir des métabolites toxiques, de ce pathogène, produits par la technique de la double couche. Du cal sélectionné *in vitro* avait permis la régénération de plantes qui ont montré, après inoculation *in vivo*, une meilleure résistance au pathogène que le parent. L'effet toxique induit par cette procédure a également été rapporté par Plazek et Niemczyk (2000) qui rapportent une forte inhibition du taux de fructose, de glucose et de meso inositol quelques heures après avoir soumis des cals issus d'orge, aux métabolites toxiques de l'isolat J68, du pathogène *Bipolaris Sorokiniana*. Ces résultats ont permis aux auteurs de conclure sur l'existence de corrélations entre la sensibilité des cultures *in vitro* aux phytotoxines et le taux de sucre.

4.2.2. Obtention de mutants sélectionnés *in vitro* pour la résistance aux éléments toxiques de *Pyrenophora graminea*

Au cours de la phase d'induction, 100 % des embryons immatures ont produits des cals à partir des deux variétés.

En phase de sélection, quatre types de réponses ont été obtenus sur le milieu de sélection :

1- **La prolifération du cal sans régénération** : Cette réponse est observée chez la majorité des cals mis en culture. Ce cal est de couleur blanchâtre et de texture friable. Il n'a montré ni nécrose, indiquant une résistance aux éléments toxiques *Pyrenophora graminea*, ni activité morphogène ne donnant lieu à aucune régénération (Figure 11a).

2- **Brunissement et nécrose** du cal sans régénération : Ce type de cal qui brunit et se nécrose indique une forte sensibilité aux éléments toxiques du champignon (Figure 11b).

3- **Brunissement avec apparition de quelques foyers verts** : Ces cals sont moins importants en nombre, ils brunissent tout en laissant apparaître de petits foyers verts. Ces derniers n'ont pas évolué en plantules en dépit de leur transfert en milieu dépourvu d'agent sélectif (milieu de régénération et/ou de développement).

4- **Régénération de quelques pousses vertes** : Un dernier groupe de cals a donné naissance à quelques pousses vertes chez la variété Saïda qui ont évolué normalement en plantules vertes (Figure 11 c, d et e). En effet, seuls les cals issus du c.v. Saïda et irradiés à 10 Gy ont permis la régénération de **8 plants** sur le milieu de sélection indiquant une résistance aux métabolites toxiques du pathogène.

Pour le c.v. **Tichedrett**, aucune régénération de plantes n'a été obtenue, et les foyers verts observés sur les cals n'ont pas évolué en plantes.

Par ailleurs, aucune régénération n'a également été obtenue pour le cal non irradiée (0Gy) (témoin) placé en milieu de sélection.

Plusieurs plantes vertes ont été obtenues à partir de cals irradiés et non irradiés sur le milieu de régénération sans pression de sélection.

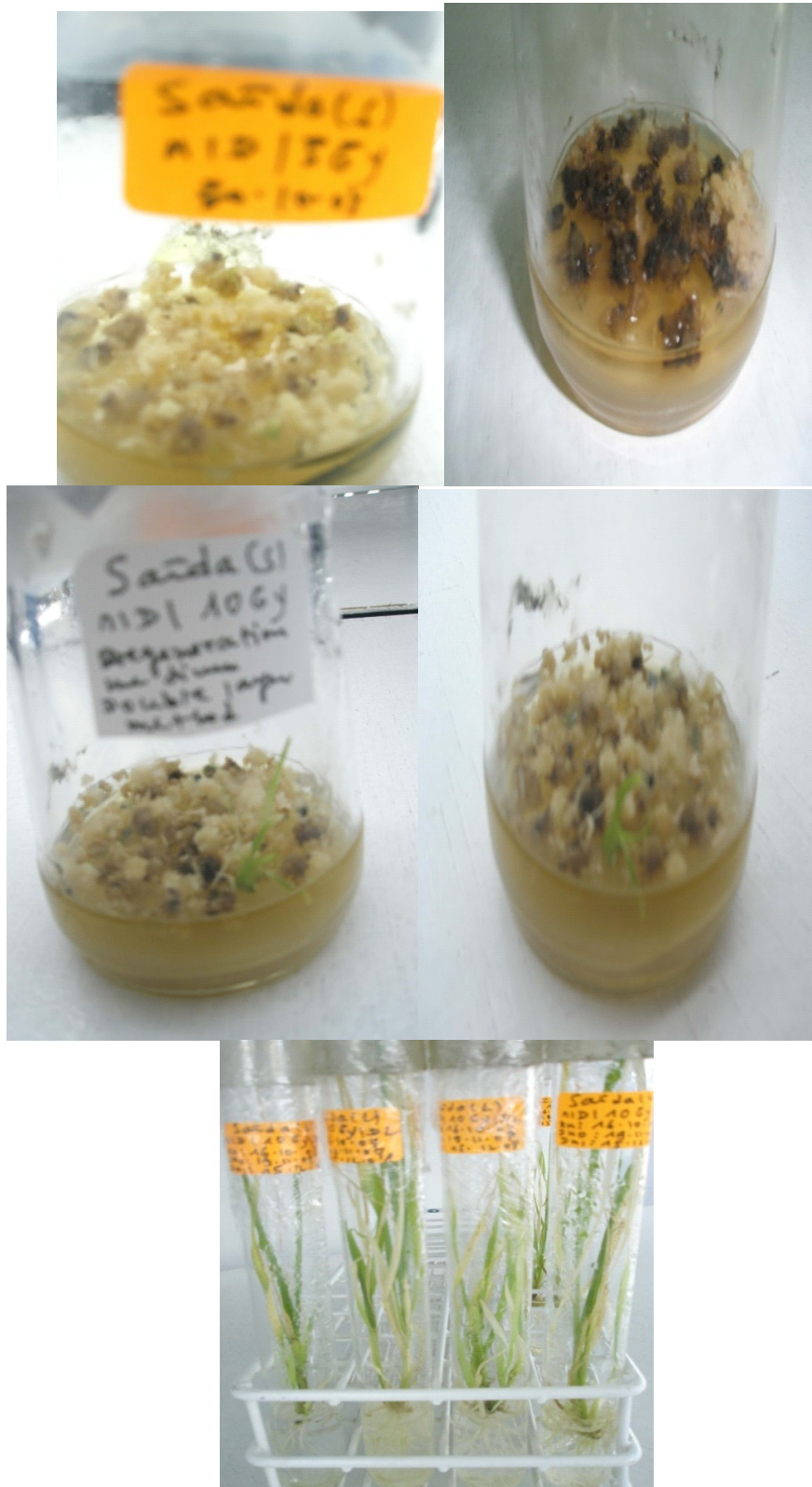


Figure 11: Réaction des cals irradiés sur le milieu de sélection. **a-**cal blanc, friable proliférant mais sans régénération. **b-** Cal bruni et nécrosé. **c et d-** pousses vertes **e-** vitroplants de Saïda tolérants aux métabolites toxiques de *P. graminea* en croissance sur le milieu de développement prêt pour l'acclimatation en serre.

Dès 1973, Carlson rapporte que les cultures *in vitro*, peuvent être utilisées pour la sélection vis-à-vis de la résistance à une toxine d'un pathogène chez le tabac et des plants résistants ont été régénérés. Cette capacité du système de sélection *in vitro* à permettre la sélection de cultures résistantes aux toxines ou aux éléments toxiques des pathogènes est liée à l'exposition facile et uniforme des tissus *in vitro* à ces éléments contenus dans les milieux de cultures (Daube, 1996). Cette procédure a, très tôt, été utilisée avec succès. Ainsi, du [maïs](#) résistant à l'agent pathogène *Helminthosporium maydis* a été régénéré *in vitro* à partir de la sélection de cultures soumises à la toxine du pathogène (Brettel *et al.*, 1979).

De la pomme de terre résistante aux pathogènes *Phytophthora infestans* et *Fusarium oxysporum* a été régénérée après sélection *in vitro* des cultures soumises à leur filtrat de culture de (Behnke, 1979 et 1980), des variétés de tabac sélectionnées *in vitro* pour la résistance à l'agent pathogène *Pseudomonas syringae* par l'utilisation de toxine partiellement purifiée de (Thanutong *et al.*, 1983).

Hunold *et al.* (1992) obtiennent des vitroplants d'orge résistants à l'agent pathogène *Dreschlera teres* à partir de cals issus d'embryons immatures et sélectionnés sur milieu de culture en présence de toxine.

Les radiations ionisantes, lesquelles en application *in vitro* ajoutent de la variabilité à celle créée par la culture de tissus, peuvent induire une létalité ou des mutations, l'irradiation de cals permet, sous condition d'un système de régénération efficient, l'obtention rapide de mutants (Ahloowalia, 1998). Cette procédure a été utilisée avec succès dans la sélection *in vitro* pour la résistance aux stress abiotiques et biotiques chez un nombre important d'espèces (Lashermes, 1989 ; Bouharmont, 1991 et 1994 ; Maluszynski *et al.*, 1995 ; Vajrabhaya *et al.*, 2001 ; Biswas *et al.*, 2002 ; Al-Bahrany, 2002 ; Abdel-Hady et El-Naggar, 2007 ; Penna *et al.*, 2012).

Sous l'effet des doses d'irradiation et de la pression de sélection, il est attendu que les cals aient diverses réactions, ainsi Ali *et al.* (2007), en exposant du cal de canne à sucre irradié à diverses doses d'irradiation et à diverses concentrations de toxine partiellement purifiée de l'agent pathogène *Colletotrichum falcatum*, obtiennent des taux de régénération variables. Dans certains cas, pour la concentration la plus élevée, à savoir (0,5 %), aucune régénération n'est observée. Trois plantules sont obtenues pour une concentration de (0,45%) et 36 pour la concentration la plus faible (0,05 %). L'absence de régénération indique que le cal montre une sensibilité à l'agent sélectif et que le niveau d'irradiation n'a pas induit de mutations

suffisantes pour la résistance. Kantoglu *et al.* (2010), obtiennent par cette même procédure, radiomutagenèse associée à la sélection *in vitro*, des mutants de melons résistants au *fusarium oxysporum*, ils rapportent que cette procédure est couramment utilisée dans leurs programmes d'amélioration.

4.2.3. Acclimatation et analyse du comportement *in-vivo* des mutants régénérés sur pression de sélection

4.2.3.1. Acclimatation et récolte des graines M2

Les 8 plants obtenus à partir du c.v. Saïda ont été acclimatés. Sur ces 8 plants, trois plants étaient stériles et cinq ont produits des grains. Le nombre de grains produits en M2 par ces plants est le suivant :

316 grains M2 ont été obtenus à partir du plant mutant *Saïda1 en M1* la plantule (*S1M1*)

250 grains M2 ont été obtenus à partir de la plantule *S2M1*

200 grains M2 ont été obtenus à partir de la plantule *S3M1*

99 grains M2 ont été obtenus à partir de la plantule *S4M1*

190 grains M2 ont été obtenus à partir de la plantule *S5M1*.

4.2.3.2. Evaluation *in-vivo* des mutants

En M2 une population de 840 plantes a été observée, 84,8 % des plantes issues des cinq mutants étaient des plantes normales et fertiles et 15,2 % rabougries et stériles. 28,1 % des plantes normales et fertiles ont montré des épis mutés erectoïdes (Tableau 9, Figure 12), mutation rapportée dans bon nombre de travaux de mutagenèse.



Figure 12. a) Morphologie de l'épi muté erectoïde (gauche) et parental cv. Saïda (droite) ; b) Extrême réduction de la distance entre les nœuds du rachis chez le mutant (gauche) par rapport à l'épi lâche du parent (droite).

Tableau 9 : Ségrégation phénotypique¹ dans les populations de plantes M2 sélectionnées in vitro pour la résistance à l'isolat 25AB15 de *Pyrenophora graminea* via la technique de la double couche (DC) cv. Saïda.

Lignées M1 sélectionnées	Populations de plantes M2							
	Plantes M2 observées (populations M2)	Plantes M2 normales et Fertiles Observées		Plantes M2 rabougries et stériles		Mutants M2 erectoides (épi hyperdense)		
		N	n	(%) ²	n	(%) ²	n	(%) ³
Saïda 1 (Cal-10Gy)/selection DC (25AB15)/GM2)	264	207	78,4	57	21,6	54	20,4	
Saïda 2 (Cal-10Gy)/selection DC (25AB15)/GM2)	205	205	100	0	0,0	59	28,9	
Saïda 3 (Cal-10Gy)/selection DC (25AB15)/GM2)	140	112	80,0	28	20,0	39	34,8	
Saïda 4 (Cal-10Gy)/selection DC (25AB15)/GM2)	67	57	85,1	10	14,9	18	31,6	
Saïda 5 (Cal-10Gy)/selection DC (25AB15)/GM2)	164	131	79,9	33	20,1	30	22,9	
Total (population M2)	840	712	84,8	128	15,2	200	28,1	

1 : Pas de mutations chlorophylliennes. **2**: en pourcentage du nombre de plantes M2 observées. **3** : en pourcentage du nombre de plantes normales et fertiles M2 observées.

Les tests d'inoculations *in-vivo* (technique sandwich/isolat 25AB15) réalisés sur les mutants aux deux générations M3 et M4 ont donné, des taux de plants indemnes de la maladie supérieur à ceux observés chez la variété parentale Saïda. En effet, la tolérance/résistance exprimée au niveau *in vitro* est rapportée comme étant positivement corrélée à la résistance *in vivo* (Gentile *et al.* 1992 in Ali *et al.*, 2007).

Au cours de ces deux tests, le taux de plantes saines obtenu à partir de la variété Saïda, inoculée par le mycélium, a été de **3%** (en année 1) et **8,6%** (en année 2) alors qu'aucune plante issue de la variété parentale Saïda non inoculée (année 1) n'a montré de symptôme (Tableau 10, page 101 ; Figure 13 i et j). Ces taux, indiquant une sensibilité de la variété (Shands and Arny, 1944 in Benbelkacem *et al.*, 2000 b) sont attendus et sont en conformité avec le caractère sensible de la variété Saïda tel que rapporté par un bon nombre d'auteurs. Ils attestent également de la fiabilité du test et de la virulence de l'isolat quant à l'évaluation et au criblage des mutants. Le taux moyen de plantes saines pour l'ensemble des cinq mutants a été plus élevé que celui obtenu pour la variété parentale Saïda (pour les deux tests). Les résultats ont montré également une nette augmentation du taux de plantes saines obtenu en année 2 du test (Tableau 10, page 101) :

- taux de plants mutants en M3 indemne de maladie est égal à **16,9 %**(année 1),
- taux de plants mutants en M4 indemne de maladie est égal à **54,6%** (année 2)

Par ailleurs, chacune des lignées mutantes a donné un nombre de plants indemnes de maladie supérieurs au parent aux cours des deux générations M3 et M4 (Tableau 10, page 101). Les plants issus des mutants indemnes de maladie ont montré un bon développement contrairement aux plants malades rabougris (Figure 13 f-g-h).

Ces résultats indiquent un meilleur comportement des mutants vis-à-vis de la maladie en comparaison avec le parent Saïda et l'acquisition du caractère de résistance. La sélection de tissus pour la résistance est évidente à partir du fait, que les tissus qui survivent à cette pression de sélection entraînent une faible proportion de pousses viables qui peuvent avoir le potentiel de se transformer en génotypes résistants aux maladies (Ali *et al.*, 2007).

Toutefois, il est important de confronter ces résultats à ceux d'évaluations de ces mutants en générations avancées (M6 et M7), évaluations qu'il est nécessaire de réaliser en milieux à forte incidence de cette maladie. Il est également indiqué de réaliser des analyses moléculaires en utilisant des amorces du gène Rdg2a, marqueur de la résistance, et ce en vue d'une analyse moléculaire de la mutation afin de confirmer la mutation pour la résistance.

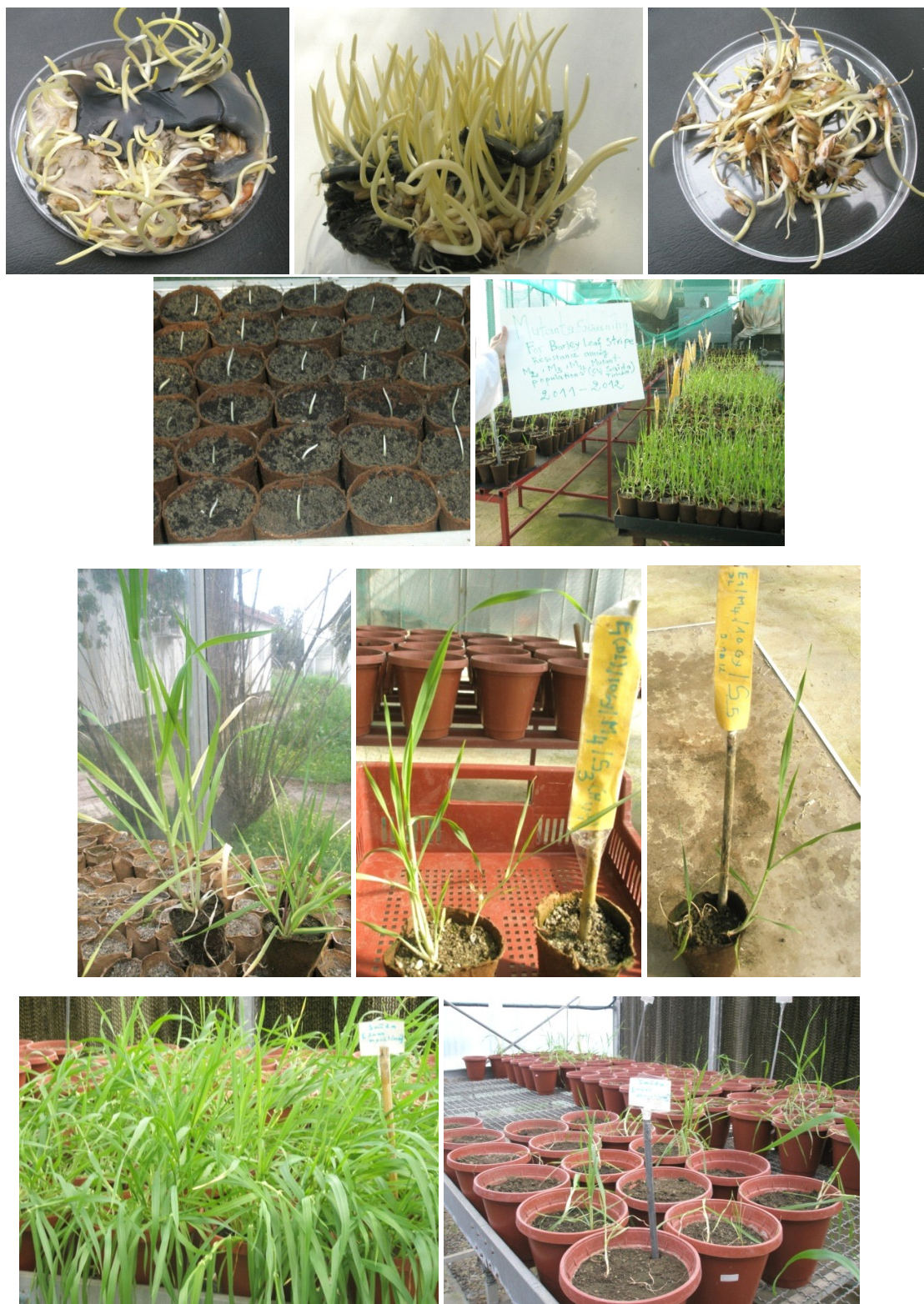


Figure 13. Inoculation et screening des populations de mutants sélectionnés et du parent par l'isolat 25AB15 de *pyrenophoragraminea*, agent de la strie foliaire ; a-b-c)Graines germées infectées via la méthode « sandwich »; d) Transfert en fertipots ; e) Croissance des plantules inoculées en serre ; f-g-h) Plants M4 sains bien développés et plants M4 malades rabougris ; i) Plants du parent Saïda sans mycélium sains ; j) Plants du parent Saïda infectés avec le mycélium décimés par la strie foliaire.

Tableau 10 : Criblage des populations M3 et M4 sélectionnées in vitro pour la résistance à la strie foliaire par le test «sandwich» d'inoculation in vivo de l'isolat 25AB15 de *Pyrenophora graminea*.

Lignées M1 sélectionnées	Nombre de graines infectées	Plantes M3 saines (indemnes de symptômes de la strie foliaire)		Plantes M3 malades (avec symptômes de la strie foliaire)	
		n	(%)	n	(%)
Populations M3	N				
Saida 1 (Cal-10Gy) /GM3	734	312	42,5	422	57,5
Saida 2 (Cal-10Gy) /GM3	600	59	9,8	541	90,2
Saida 3 (Cal-10Gy) /GM3	539	13	2,4	526	97,6
Saida 4 (Cal-10Gy) /GM3	668	74	13,0	494	74,0
Saida 5 (Cal-10Gy) /GM3	385	120	31,2	265	68,8
Total	3426	578	16,9	2848	83,1
Parent (cv. Saïda)					
Avec mycelium	66	2	3,0	64	97,0
Sans mycelium	56	56	100	0	0,0
Populations M4					
Saida 1 (Cal-10Gy) /GM4	100	44	44,0	56	56,0
Saida 2 (Cal-10Gy) /GM4	281	171	60,9	110	39,1
Saida 3 (Cal-10Gy) /GM4	346	190	54,9	156	45,1
Saida 4 (Cal-10Gy) /GM4	107	50	46,7	57	53,3
Saida 5 (Cal-10Gy) /GM4	176	97	55,1	79	44,9
Total	1010	552	54,6	458	45,4
Parent (cv. Saïda)					
Avec mycelium	70	6	8,6	64	91,4

Conclusion

Cet essai, motivé par l'absence d'une variabilité génétique pour la maladie traitée et par les divers avantages des cultures *in vitro*, a permis de tester un système de culture *in vitro* sur les deux variétés locales d'orge à partir duquel des plants ont été régénérés pour les deux variétés.

Le manque de travaux similaires à ceux testés dans cet essai n'a, cependant, pas permis d'amples et précises comparaisons vis-à-vis de la radiomutagenèse associée à la sélection *in vitro* pour la résistance à l'agent pathogène de la strie foliaire chez l'orge.

Toutefois des doses d'irradiation optimales (5 et 10 Gy) utilisables en *in vitro*, pour les deux variétés locales Saïda et Tichedrett, ont été déterminées. Les résultats obtenus en phase de sélection *in vitro* indiquent l'efficacité du système utilisé, à régénérer des plants d'orge ayant acquis le caractère de résistance recherché : cinq mutants d'orge résistants aux métabolites toxiques de l'isolat 25AB15 de l'agent pathogène ont été régénérés à partir de la variété locale sensible Saïda et la transmission de ce caractère aux descendants (en M3 et M4) a été mise en évidence.

Conclusion générale

En Algérie, la sécurité alimentaire est assurée par le biais d'importantes factures d'importations rendues possibles, jusqu'à très récemment, grâce à des conjonctures favorables du commerce international liées à la disponibilité de l'or noir. La situation actuelle au niveau national et international montre que cette voie n'est pas une alternative viable.

Les rendements des céréales d'une manière générale et de l'orge en particulier, espèce concernée par la présente étude, sont restés faibles et fluctuants. Des conditions environnementales de cultures défavorables et variables qui rendent inefficace la sélection sur le seul critère du rendement et rendent difficile le classement des nouvelles obtentions d'un environnement à l'autre ; une sélection pendant longtemps effectuée sur des lignées en ségrégations introduites et enfin une gamme variétale en production peu diversifiée, reposant essentiellement sur des variétés introduites, souvent peu adaptées aux conditions de cultures ; sont les principaux facteurs à l'origine de l'état actuel des rendements.

Cette situation va en s'aggravant à cause des impacts du changement climatique qui occasionnent des variations climatiques importantes et imprévisibles, une élévation des températures et des fréquences des événements climatiques extrêmes. Ce changement climatique constitue un risque majeur pour la sécurité alimentaire en occasionnant plus de dommages, induisant des niveaux de rendements encore plus bas et plus instables. L'amélioration des plantes reste un des principaux leviers pour faire face à cette situation. La construction continue d'un grand nombre de variétés adaptées aux conditions de cultures et résistantes aux stress biotiques et abiotiques permettra une augmentation du niveau et de la stabilité des rendements.

La recherche de cet objectif à travers les seules méthodes classiques n'a pas toujours abouti aux attentes. Certains outils de biotechnologies intégrés à ces méthodes classiques permettent d'accroître l'efficacité des procédures d'obtention de nouvelles variétés répondants aux conditions des zones de culture.

La procédure d'haplodiploïdisation appliquée sur des lignées en ségrégation issues des croisements entre la variété locale Tichedrett et deux variétés introduites, a permis un gain de

temps considérable dans le processus de sélection à travers l'obtention de lignées (HDs) homozygotes en un temps record comparé à la procédure classique.

Les lignées HDs semblent être un matériel approprié pour l'analyse des interactions génotype \times environnement, analyse à laquelle doivent être soumises les lignées en sélection dans les environnements contraignants. La population HDs bien que d'effectif réduit contenait des génotypes désirables en matière de stabilité et de performance. Sept lignées ont été identifiées comme étant des lignées adaptées et stables avec un bon niveau de rendement et deux lignées se sont montrées très performantes pour le rendement en grain, adaptées et plus stables que le parent local Tichedrett. Ces lignées peuvent être considérées comme prometteuses et pourraient être recommandées pour les environnements semi-arides testés.

Il est important de mettre à profit ces aptitudes, en plus de l'efficacité qu'offre cette technique en matière de gain de temps et de réduction des coûts de création variétale et d'intégrer cette procédure dans les programmes d'amélioration de cultures aussi stratégiques que les céréales pour l'Algérie.

La production continue de grands effectifs de lignées (HDs) demeure, cependant, la condition *sine qua none* de l'émergence, après sélection, d'un nombre requis de variétés répondant aux conditions de cultures locales, assurant de meilleurs niveaux de rendement et de stabilité et permettant l'enrichissement de la gamme variétale proposée à la production. Pour ce faire, le passage du niveau expérimental de recherche à une échelle industrielle à travers la création d'une filiale ou d'un centre d'innovations variétales est recommandé.

La disponibilité d'un système de régénération *in-vitro*, permettant l'induction de cals et la régénération de plants est le préalable à la mise en œuvre de la procédure de radiomutagenèse *in-vitro* associée à la sélection *in-vitro* sur les deux variétés locales Saïda et Tichedrett. Cette condition a été réalisée, un protocole *in-vitro* a, en effet, été utilisé sur les deux variétés locales et a permis l'induction de cals et la régénération de plants.

Les tests de radio-sensibilité ont permis de déterminer les doses d'irradiations optimales (5 et 10 Gy), ces doses se sont montrées efficaces en matière de création d'une variabilité et d'induction de mutations.

Les tests menés, permettent de conclure positivement quant à l'efficacité du système utilisé pour la sélection de la résistance aux éléments toxiques de *Pyrenophora graminea*. Les cinq mutants Saïda sélectionnés ont montré, en tests *in-vivo*, un meilleur comportement vis-à-vis de la souche du pathogène de la strie foliaire en comparaison au parent Saïda qui montre dans ces mêmes conditions une sensibilité. Il est toutefois recommandé, d'évaluer le niveau de résistance de ces mutants, en génération avancée et en environnements naturels à fortes incidences de la maladie et de recourir à l'outil moléculaire pour analyser et confirmer la mutation pour la résistance à cette maladie.

L'intérêt qu'offre ce système *in-vitro* en matière de disponibilité et de gestion de millions de cellules dans un espace réduit et en un laps de temps court, ainsi que l'opportunité de la disponibilité d'une source d'irradiation (source gamma ray ^{60}Co , COMENA) en Algérie, ajouté aux résultats obtenus dans le cadre de ce travail, suggèrent sa mise à profit de manière plus importante dans les programmes de sélection des cultures stratégiques. Il permettra, en effet, la création de variabilités génétiques souvent insuffisantes ou non disponibles naturellement au niveau local, une sélection précoce vis-à-vis des contraintes auxquelles sont confrontées les céréales telles que l'orge en Algérie (sécheresse, salinité, gelées et maladies) grâce à l'utilisation de pressions de sélection (PEG, NaCl, hydroxyproline, toxines, etc) et la régénération de plants résistants.

Enfin et en perspective, la combinaison des deux procédures, l'haplodiploïdisation et la radiomutagenèse *in-vitro* associées à la sélection *in-vitro* est fortement recommandée pour ce qu'elle peut permettre en matière de détection et de lecture directe des mutations recherchées sur des plants régénérés homozygotes.

Références bibliographiques :

- Abdel-Hady MS., MH. El-Naggar. 2007.** Wheat genotype variation and protein markers in relation with *in vitro* selection for drought tolerance. *Journal of Applied Science Research*, **3** (10) : 926-934.
- Abecassis J., JE. Bergez. 2009.** Les filières céréalières : organisation et nouveaux défis. Ouvrage collectif, édition Quae. 184 pages.
- Ahloowalia B S. 1998.** *In-vitro* techniques and mutagenesis for improvement of vegetatively propagated plant. In "Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement". S.Mohan Jain, D.S.Brar, B.S.Ahloowalia editor, pp: 293-309.
- Ahloowalia B S., M. Maluszynski, K. Nichterlein. 2004.** Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*, **135**:187-204.
- Ait-Abdallah-Djenadi F., N. Dekkiche, Z. Ghalem-Djender, K. Oumdjekane, F. Zaghouane-Boufnara. 2010.** Cultures et coûts de production des grandes cultures. Institut Technique des Grandes Cultures. 96 pages. Dépôt légal: 3894 - 2011; ISBN: 978-9961-881-18-7
- Al-Bahrany AM. 2002.** Callus growth and proline accumulation in response to Polyethylene Glycol-induced Osmotic Stress in Rice, *Oryza sativa L.* *Pakistan Journal of Biological Science*, **5** (12) : 1294-1296.
- Alberts MJA. 2004.** A comparison of statistical methods to describe genotype × environment interaction and yield stability in multi-location maize trials. Thesis for the degree Magister Scientiae Agriculturae, University of the Free State. 100 pages.
- Ali A., S. Naz, S. Alam, J. Iqbal. 2007.** *In vitro* induced mutation for screening of red rot (*COLLETOTRICHUM FALCATUM*) resistance in sugarcane (*SACCHARUM OFFICINARUM*). *Pak. J. Bo*, **39**(6): 1979-1994
- Aouali S., A. Douici-Khalfi. 2013.** Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : Symptômes, développement et moyens de lutte. Direction de la Formation et de la vulgarisation. Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC). 55 pages. ISBN 978-9961-881-17- 0.
- Arcioni S., M. Pezzotti, F. Damiani. 1987.** *In vitro* selection of alfalfa plants resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Medicagini*. *Theor. Appl. Genet*, **74**: 700–705.
- Arru L., RE. Niks, P. Lindhout, G. Vale, E. Francia, N. Pecchioni. 2002. Genomic regions determining resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in barley. *Genome*, **45**: 460 – 466.

- Arru L., E. Francia, N. Pecchioni. 2003.** Isolate-specific QTLs of resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in the Steptoe × Morex spring barley cross. *Theor Appl Genet*, **106**: 668 – 675.
- Ashraf M., AS. Qureshi, A. Ghafoor, NA. Khan. 2001.** Genotype – environment interaction in wheat. *OnLine Journal of Biological Science*, **1** (5): 356 – 357.
- Baatour O., S. M’rah, N. Ben Brahim, F. Boulesnem, M. Lachaal. 2004.** Réponse physiologique de la gesse (*Lathyrus sativus*) à la salinité du milieu. *Revue des Régions Arides*, Tome **1**: 346 - 35
- Backes G., A. Graner, B. Fouroughi-Wehr, G. Fischbeck, G. Wenzel, A. Jahoor. 1995.** *Theor Appl Genet*, **90**: 294 - 302.
- Bantayehu M. 2009.** Analysis and correlation of stability parameters in malting barley. *Afr. Crop Sci. J*, **17**: 145 - 153.
- Basford KE., M. Cooper. 1998.** Genotype environment interactions and some considerations of their implications for wheat breeding in Australia. *Aust. J. Agri. Res*, **49**: 153 - 174.
- Baulcombe D., I. Crute, B. Davies, J. Dunwell, M. Gale, J. Jones, J. Pretty, W. Sutherland, C. Toulmin, N. Green, S. Mee, A. Simpson, J. Stilgoe, DJ. Thomas, D. Evans, C. Godfray, H. Herren, J. Pickett, LJ. Selborn. 2009.** Reaping the benefits: Science and the sustainable intensification of global agriculture. *The Royal Society*. 86 pages.
- Becker HC. 1981.** Correlations among some statistical measures of phenotypic stability. *Euphytica*, **30**: 835 – 840.
- Becker HC., J. Léon. 1988.** Stability analysis in plant breeding. *Plant Breed*, **101**: 1 - 23.
- Behnke M. 1979.** Selection of potato callus for resistance to culture filtrates of *Phytophthora infestans* and regeneration of resistant plants. *Theor. Appl. Genet*, **55** (2) : 69-71.
- Behnke M. 1980.** Selection of dihaploid potato callus for resistance to culture filtrate of *Fusarium oxysporum*. *Z.Pflanzenzuecht*, **85** : 254-258.
- Benbelkacem A., R. Boubekour, M. Boulif. 2000 a.** Les pertes de rendements causées par la maladie striée (*Pyrenophora graminea*) de l’orge en Algérie. *Al Awamia*, **101** : 53 - 65.
- Benbelkacem A., M. Boulif, A. Amri, S. Ceccarelli. 2000 b.** Variation in the pathogenicity of 20 Algerian isolates of *Pyrenophora graminea* Ito & Kur. on nine barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. *Phytopathol. Mediterr*, **39** : 389 – 395
- Benmahammed A. 2005.** Hétérosis, Transgressions et efficacité de la sélection précoce et retardée de la biomasse, du nombre d’épis et utilisation des indices chez l’orge (*Hordeum vulgare* L.). Thèse de Doctorat, université Mantouri, *Constantine*. 125 pages.

- Benmahammed A., H. Hind, L. Haddad, Z. Laala, O. Abdelmalek, H. Bouzerzour. 2010.** Analyse de la stabilité des performances de rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **14** (1) : 177 - 186
- Benslimane H. 2002.** Caractérisation de quelques isolats de *Pyrenophora graminea* et leurs comportements vis à vis de cinq génotypes d'orge. Mémoire de Magister, I.N.A., *El-Harrach*. 76 pages.
- Bigot C., C. Foury. 1984.** Multiplication *in vitro* d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) à partir de semences : comparaison au champ de quelques clones à la lignée dont ils sont issus. *Agronomie*, **4** (8): 699-790.
- Biselli C., S. Urso, L. Bernardo, A. Tondelli, G. Tacconi, V. Martino, S. Grandò, G. Valè. 2010.** Identification and mapping of the leaf stripe resistance gene *Rdgl1a* in *Hordeum spontaneum*. *Theor Appl Genet*, **120** (6): 1207 – 1218.
- Biswas J., B. Chowdhury, A. Bhattacharya, B. Mandal. 2002.** *In-vitro* screening for increased drought tolerance in rice. *In Vitro Cell. Dev. Biol-Plant*, **38** : 525-530.
- Bouchkout I., I. Akrou. 2011.** Analyse de l'effet de génotype et du traitement au froid sur la réponse à la culture d'anthères de quelques hybrides d'orge (*Hordeum vulgare* L.) issus de la variété locale Saïda. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en agronomie, Université Saad DAHLAB-BLIDA. Faculté des sciences de la vie et de la nature. *Blida*. 45 pages
- Bouharmont J. 1991.** Utilisation de la variation somaclonale et de la sélection *in vitro* à l'amélioration du riz. In L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed. AUPELF-UREF, pp : 1-8.
- Bouharmont J. 1994.** Application of somaclonal variation and *in vitro* selection to plant improvement. *Acta Horticulturae*, **355** : 213-218.
- Bouharmont J. 1995.** Création variétale et choix du génotype. In *Agronomie Moderne : Bases physiologiques et agronomiques de la production végétale*. Ouvrage collectif. Coordinateurs : El Hassani TA et Etienne P. Edition : HATIER-AUPELF-UREF : 311-338.
- Bouzerzour H., A. Djekoune, A. Benmahammed. 1996.** Genotypic similarity of performance and stability of environmental responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.). *Actes Inst. Agron. Veto Maroc*, **16** (2): 33 – 38
- Bouzerzour H., A. Djekoun, A. Benmahammed, KL. Hassous. 1998.** Contribution de la biomasse aérienne, de l'indice de récolte et de la précocité à l'épiaison au rendement grain de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone d'altitude. *Cahiers de l'Agriculture*, **8**: 133-137.
- Bouzerzour H., A. Benmahammed, N. Benkharbeche, KL. Hassous et R. Issolah. 2002.** Contribution de la sélection à l'amélioration et à la stabilité des rendements de l'orge

(*Hordeum vulgare* L.) dans l'étage bioclimatique semi-aride. *Recherche Agronomique*, **10** : 45-58.

Brancourt-Hulmel M., V. Biarnes-Dumoulin, Jb. Denis. 1997. Points de repère dans l'analyse de la stabilité et de l'interaction génotype-milieu en amélioration des plantes. *Agronomie, EDP Sciences*, **17** (4) : 219-246. <hal-00885838>.

Brar DS., MS. Jain, 1998. Somaclonal variation: mechanism and applications in crop improvement. . In "Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement". S. Mohan Jain, D.S.Brar, B.S.Ahloowalia editor, pp: 15-37.

Brettel RIS., BVD. Goddar, DS. Ingram.1979. Selection of Tms-cytoplasm maize tissue cultures resistant to *Drechslera maydis* T-toxine. *Maydica* **24** :203-213.

Bulgarelli D., NC. Collins, G. Tacconi, E. Dall'Aglio, R. Brueggeman, A. Kleinhofs, AM. Stanca, G.Val. 2004. High-resolution genetic mapping of the leaf stripe resistance gene Rdg2a in barley. *Theor Appl Genet*, **108**: 1401–1408. DOI 10.1007/s00122-003-1557-9.

Bulgarelli D, Biselli C, Collins N.C, Consonni G, Stanca A. M, Schulze-Lefert P, Val G. 2010. The CC-NB-LRR-Type Rdg2a Resistance Gene Confers Immunity to the Seed-Borne Barley Leaf Stripe Pathogen in the Absence of Hypersensitive Cell Death. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2937021/>

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

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

Carlson PS. 1973. Methionine sulfoximine-resistant mutants of tobacco. *Science*, **180**: 1366-1368.

Carré M., JM. Tanguy, P. Mussillon, C.Martin. 1979. La culture de méristèmes et la multiplication végétative *in vitro* au service de la pépinière. *Bull. petits Fruits*, **14** : 7-65.

Castillo AM., MP Vallés, L. Cistué. 2000. Comparison of anther and isolated microspore culture in barley. Effects of culture density and regeneration medium. *Euphytica*, **113**: 1-8.

Ceccarelli S. 1996. Adaptation to low/high input cultivation. *Euphytica*, **92**: 203-214.

Ceccarrelli S., S. Grando, A. Impiglia. 1998. Choice of selection strategy in breeding barley for stress environments. *Euphytica*, **103**: 307-318.

Ceccarelli S., S. Grando. 2000. Barley landraces from the Fertile Crescent: a lesson for plant breeders. In: *GENES in the FIELD: On-Farmer Conservation of Crop Diversity*. (Brush SB,

- eds) Boca Raton (U.S.A), Ottawa (Canada), Rome (Italy), Lewis Publishers; International Development Research Center; International Plant Genetic Resources Institute, pp: 51-76.
- Ceccarelli S., S. Grando, M. Baum, SM. Udupa. 2004.** Breeding for drought resistance in a changing climate. In: Rao S C, Ryan J, eds. *Challenges and Strategies of Dryland Agriculture*. CSSA Special Publication n°32. Madison, Wisconsin (U.S.A): CSSA/ASA, pp: 167-190.
- Ceccarelli S., S. Grando, F. Capettini. 2011.** Barley Breeding History, Progress, objectives and Technology - Near East, North and East Africa And Latin America. In: Steven E Ullrich ©, eds. *BARLEY: Production, Improvement and Uses*. Garsington Road, Oxford (U.S.A): Blackwell Publishing Ltd, pp: 210-220.
- Chang Y., Jv. Zitzewitz, Pm. Hayes, Th. Chen. 2003.** High frequency plant regeneration from immature embryos of elite barley cultivars (*Hordeum vulgare* L cv Morex). *Plant cell report*, **21**(8): 733-738.
- Chaudhary HK., A. Mahato, V. Kaila, SA. Rather, T ; Tayeng. 2015.** Dihaploid Induction in Tetraploid Durum Wheat (*Triticum durum* L.) using pollen of *Imperata cylindrica*, Czech *J. Genet. Plant Breed*, **51** (4): 142–147. doi: 10.17221/218/2014-CJGPB.
- Chawla HS., G. Wenzel. 1987 a.** *In vitro* selection of barley and wheat for resistance against *Helminthosporium sativum*. *Theor Appl Gent*, **74** : 841-845.
- Chawla HS., G. Wenzel. 1987 b.** *In vitro* selection for fusaric acid resistant barley plants. *Plant Breed*, **99**:159–163.
- Chawla HS., G. Wenzel. 1989.** Resistant wheat plants against *Helminthosporium sativum* from embryo derived callus cultures. *Wheat Information Service*, **69** : 8-12.
- Chawla HS. 2002.** Introduction to Plant biotechnology. Published by Science Publishers, Inc. Enfield, NH, USA. 538 pages.
- Chen L., L. Huang, D. Min, A. Phillips, S. Wang, PJ. Madqwick, MAJ. Parry, YG. Hu. 2012.** Development and Characterization of a New TILLING Population of Common Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLoS One*, **7** (7): **e41570**. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0041570>
- Chennafi H., A. Aidaoui, H. Bouzerzour, A. Saci. 2006.** Yield Response of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Science*, **5** (5): 854-860.
- Cistué L., A. Ramos, AM. Castillo, I. Romagose. 1994.** Production of a large number of double haploid plants from barley anthers pre-treated with high concentration of mannitol. *Plant Cell Rep*, **13** : 709-712.

- Cistué L., MP. Vallés, B. Echavarri, J.M. Sanz, and A. Castillo. 2003.** Barley Anther culture. In: Doubled haploid production in crop plants: a manual. (Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP, Szarejko I, eds) Dordrecht Kluwer Academic Publishers, pp: 29-34.
- CNCC. 2015.** Bulletin des variétés de céréales autogames. Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plantes.
- Dahleen L. 1999.** Donor plant environment effects on regeneration from barley embryoderived callus. *Crop Science*, **39**: 682-685.
- Dahleen L., P. Bregitzer. 2002.** An improved media system for high regeneration rates from barley immature embryo-derived callus cultures of commercial cultivars. *Crop Science* **42**: 934-938.
- Daube ME. 1986.** Tissue culture and the selection of resistance to pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol*, **24** : 159- 186.
- Dehghani H., SH. Sabaghpour, N. Sabaghnia. 2008.** Genotype x environment interaction for grain yield of some lentil genotypes and relationship among univariate stability statistics. *Spa J Agric Res*, **6** (4) : 385 – 394.
- Delogu G., A. Porta-Puglia, AM. Stanca, G. Vannacci. 1995.** Interaction between barley and *Pyrenophora graminea*: an overview of research in Italy. *Rachis*, **14**: 29–34.
- Derouiche G. 2007.** Les risques climatiques et agriculture algérienne. Communication B.N.E.D.E.R ALGERIE Alger-Hôtel El-Aurrassi. 12 pages. <https://www.fichier-pdf.fr/2015/09/17/cal-ag-ccr-com-2-mme-g-derouiche-b-n-e-d-e-r-algerie/cal-ag-ccr-com-2-mme-g-derouiche-b-n-e-d-e-r-algerie.pdf>
- Djermoun A. 2009.** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques *Revue Nature et Technologie*, **01** : 45 à 53.
- Donini B., T. Kawi, A. Micke. 1984.** Spectrum of mutant characters utilised in developing improved cultivars. In "Selection mutation Breeding" Vienna: IAEA, pp:7-31.
- Donini P., A. Sonnino. 1998.** Induced mutation in plant breeding: Current status and future outlook. In "Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement". S. Mohan Jain, D.S.Brar, B.S.Ahloowalia editor, pp: 255-291.
- Doré C., F. Varoquaux. 2006.** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Institut National de la Recherche Agronomique (France). Editeur : Paris : Institut national de la recherche agronomique. Collection : Savoir Faire. 840 pages.
- Dunwell JM., RJ. Francis, W. Powell. 1987.** Anther culture of *Hordeum vulgare* L.: a genetic study of microspore callus production and differentiation. *Theor. A. Gen*, **74**: 60–64.

- Eberhart SA., WA. Russell. 1966.** Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science*, **6**: 36-40.
- Echavarri B., M. Soriano, L. Cistué, MP. Vallés, AM. Castillo. 2008.** Zinc sulphate improved microspore embryogenesis in barley. *Plant Cell Tissu Organ Cult*, **93**: 295-301.
- El-Hashash EF., KM. El-Absy. 2013.** Genotype × environment interaction, environmental indices and stability analyses for some selected genotypes of Barley. *J. Applied Sci. Res*, **9**: 4371-4377.
- FAO. 2005.** Utilisation des engrais par culture en Algérie. <ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/fertusealgerie.pdf>
- FAO. 2013.** An FAO e-mail conference on GMOs in the pipeline in developing countries: The moderator's summary. <http://www.fao.org/docrep/017/ap998e/ap998e.pdf>
- FAO. 2015.** FAOSTAT. <http://faostat3.fao.org>
- Feriani W., S. Rezgui, M. Cherif. 2016.** Grain yield assessment of genotype by environment interaction of Tunisian doubled-haploid Barley lines. *J. New Sci*, **27** (7): 1507- 1512.
- Finlay KW., GN. Wilkinson. 1963.** The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Austr J Agri Res*, **14**(6): 742–754.
- Fiust A., M. Rapacz, M. Wójcik–Jagła, M. Tyrka. 2015.** Development of DArT-based PCR markers for selecting drought-tolerant spring barley. *J.Appl.Genet*, **56** (3): 299-309.
- Francis TR., LW. Kannenberg. 1978.** Yield stability studies in short-season maize: I. A descriptive method for grouping genotypes. *Can J Plant Sci*, **58**(6): 1029–1034.
- Friedt W. 2011.** Barley Breeding History, Progress, Objectives and Technology - Europe. In: Steven E Ullrich ©, eds. *BARLEY: Production, Improvement and Uses*. Garsington Road, Oxford (U.S.A): Blackwell Publishing Ltd, pp: 160- 171.
- Friedt W. 2011.** Biotic Stress in Barley: Insect Problems and Solutions. In: *BARLEY Production, Improvement and Uses*. (Steven E Ullrich ©, eds) Garsington Road, Oxford (U.S.A) Blackwell Publishing Ltd, pp: 355-390.
- Gallais A. 2011.** Méthodes de création de variétés en amélioration des plantes. Editions Quæ. 278 pages.
- Gallais A. 2013.** De la domestication à la transgénèse. Evolution des outils pour l'amélioration des plantes. Editions Quæ. 175 pages.
- Gentile, A., E. Tribulato, G. Continella and A. Vardi. 1992.** Differential responses of citrus calli and protoplasts to culture filtrate and toxin of *Phoma tracheifila*. *Theoret. Appl. Genet.*, **83**: 759-764.

- Gomez-Pando LR., J. Jimenez-Davalos, A. Eguiluz de la Barra, E. Aguilar-Castellanos, J. Falconi-Palomino, M. Ibanez-Tremolada, M. Varela, JC. Lorenzo. 2009.** Field performance of new *in vitro* androgenesis-derived double haploïds of barley. *Euphytica*, **166**: 269-276. DOI 10.1007/s10681-008-9840-0.
- Grada F., S. Ciulca. 2013.** Analysis of genotype × environment interaction for yield in some maize hybrids. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, **17** (2): 192- 196.
- Haegi A., G. Vale, AM. Stanca, A. PortaPuglia 1998.** Molecular conversation between host plants and fungi and a case of study: barley-*Pyrenophora graminea*. *Recent Res. Dev. Plant Pathol*, **2**:111-128.
- Haegi A., V. Bonardi, E. Dall’Aglio, D. Glissant, G. Tumino, NC. Collins, D. Bulgarelli, A. Infantino, AM. Stanca, M. Delledonne, G. Valè. 2008.** Histological and molecular analysis of Rdg2a barley resistance to leaf stripe. *Mol Plant Pathol*, **9**(4): 463–478.
- Haicour R., D. Sihachakr. 1995.** *Protoplastes, Fusion et Métabolites Secondaire. AUPELF-UREF*. 187 pages.
- Hanifi-Mekliche L., A. Mekliche, P. Monneveux. 2011.** Genotype × Environment interaction and stability analysis on barley (*Hordeum vulgare* L.) lines in Algeria. *Acta Agronomica Hungarica*, **59**(4): 325–336. DOI: 10.1556/AAgr.59.2011.4.4.
- Hanzel J., Jp. Miller, Ma. Birkman, E. Frendos, 1985.** Genotype and media effect on callus formation and regeneration in barley. *Crop Science*, **25**: 27-31.
- Hayek T., C. Abdelly. 2004.** Effets de la salinité sur l’état hydrique foliaire, la conductance stomatique, la transpiration et le rendement en grains chez 3 populations de mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.). *Revue des Régions Arides*, **1**: 273-284.
- Harlan JR., D. Zohary. 1966.** Distribution of wild wheat and barley. *Science*, **153**:1074-1080.
- Hassan MS., GIA. Mohamed, RAR. El-Said. 2013.** Stability analysis for grain yield and its components of some durum wheat genotypes (*Triticum durum* L.) under different environments. *Asian Journal of Crop Science*, **5** (2) : 179-189.
- Henard MG., A. Ricroch. 2014.** Les prochaines plantes issues des biotechnologies aux stades de la recherche, du développement et en cours d’évaluation par les autorités chargées de la réglementation. © Académie d’Agriculture de France. Groupe de Reflexion « Plantes Génétiquement Modifiées » 79 pages. [file:///C:/Users/inraa/Downloads/5-prochainespgm%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/inraa/Downloads/5-prochainespgm%20(3).pdf)

- Henry Y., A. Nato, J. De Buysser. 1998.** Genetic fidelity of plant regenerated from somatic embryos of cereals. In "Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement". S.Mohan Jain, D.S.Brar, B.S.Ahloowalia editor, pp: 65-80.
- Hoekstra S., van Ziderveld MH., Louwerse JD., Heidekamp F., van der Mark F. 1992.** Anther and microspore culture of *Hordeum vulgare* L. cv. *Igri*. *Plant. Sci*, **86**:89–96.
- Höekstra S., Van Zijdelved MH., Heidkamp F., Van der Mark F. 1993.** Microspore culture of *Hordeum vulgare* L.: the influence of density and osmolarity. *Plant Cell Reports*, **12**: 661-665.
- Hoss R., J. Helbig, H. Bochow. 2000.** Function of host and fungal metabolites in resistance response of banana and plantain in the Black sigatoka disease pathosystem (*Musa* spp. – *Mycosphaerella fijiensis*). *J Phytopathol*, **148**: 387-394.
- Hunold R., H. Hartleb, OS. Afanasenko. 1992.** Resistance against *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. In progenies of *in vitro* selected callus derived plants of barley. *J Phytopathol* **135**: 89-98
- Hunter CP. 1988.** Plant regeneration from microspores of barley *Hordeum vulgare*. PhD thesis. Wye College, University of London. 235 pages.
- Inagaki MN.2003.** Doubled haploid production in wheat through wide hybridization. In "Doubled haploid production in crop plants: A Manual", Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP, Szarejko I (eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp : 53-58.
- Jacquard C., G. Wojnarowicz, C. Clément 2003.** Anther culture in barley. In: *Doubled haploid production in crop plants. A manual* (Maluszynski, M., Kasha, K. Forster, B.P. and Szarejko, I., eds), Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers, pp : 21-27.
- Jacquard C., R. Asakaviciute, AM. Hamalian, RS. Sangwan, P. Devaux, C. Clément. 2006.** Barley anther culture: effects of annual cycle and spike position on microspore embryogenesis and albinism. *Plant Cell Rep*, **25** (5): 375-381. DOI10.1007/s00299-005-0070-9.
- Jacquard C. 2007.** Embryogénèse pollinique chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.): Importance du prétraitement. Thèse Doctorale. Université des Sciences exactes et naturelles de Reims. Champagne-Ardenne. France. 210 pages.
- Jalata Z., A. Ayana, F. Fufa. 2011.** Assessment of yield stability and disease responses in Ethiopian barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces and crosses. *Int. J. Agric. Res*, **6**: 754-768.
- Jalata Z. 2012.** Evaluation of ICARDA Barley genotypes for yield stability and lodging resistance in southeastern Ethiopia highlands. *Electron. J. Plant Breed*, **3**: 722-732.

- Jähne GA., PA. Lazzeri, GM. JäGER H. Lörz .1991.** Plant regeneration from embryogenic cell suspensions derived from anther cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied. Genetics*, **82**: 74–80.
- Jähne A., H. Lörz. 1995.** Cereal microspore culture. *Plant Science*, **109**: 1-12.
- Jähne A., H. Lörz. 1999.** Protocols for anther and microspore culture of barley. In: Hall RD ©, eds. *Methods in Molecular Biology, Vol.111: Plant Cell Culture Protocols*. Totowa: Humana Press Inc, pp: 269-279.
- Jensen CJ. 1977.** Monoploid production by chromosome elimination. In: Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture. J. Reinnert and YPS. Bajaj (eds). Springer- Verlag, pp : 299-330.
- Jo.2004.** JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° **39** du 27 Rabie Ethani 1425 correspondant au 16 juin 2004.
- Kadi Z., F. Adjel, H. Bouzerzour. 2010.** Analysis of the genotype × environment interaction of barley grain yield (*Hordeum vulgare* L.) under semi- arid conditions. *Adv. Environ. Biol*, **4**: 34-40.
- Kadi Z. 2012.** Sélection de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) pour la tolérance aux stress abiotiques. Thèse de Doctorat, université Ferhat Abbas Sétif, pp : 134.
- Kantoglu Y., E. Seçer, K. Erzurum, I. Tutluer, B. Kunter, H. Peşkırcioğlu, Z. Sağel. 2010.** Improving tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in melon using tissue culture and mutation techniques. IN MASS SCREENING TECHNIQUES FOR SELECTING CROPS RESISTANT TO DISEASES. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY VIENNA, pp : 235-245
- Khan IH., MU. Dahot, N. Seema, S. Yasmin, S. Bibi, S. RAZA, A. Khatri. 2009.** Genetic variability in sugarcane plantlets developed through *in vitro* mutagenesis. *Pak.j; Bot*, **41**(1): 153-166.
- Kahrizi D., S. Mahmoodi, GB. Khaniki, M. Mirza. 2011.** Effect of genotype on androgenesis in barley (*Hordeum vulgare* L.). *BIHAREAN BIOLOGIST*, **5** (2): 132-134. <http://biologie-oradea.xhost.ro/BihBiol/index.htm>
- Karimizadeh R., M. Mohammadi, N. Sabaghnia, M K. Shefazadeh, J. Pouralhossini. 2012.** Univariate stability analysis methods for determining genotype × environment interaction of durum wheat grain yield. *African Journal of Biotechnology*, **11** (10) : 2563-2573
- Kasha KJ., E. Simion, R. Oro, QA. Yao, TC. Hu, AR. Carlson. 2001 a.** An improved *in vitro* technique for isolated microspora culture of barley. *Euphytica*, **120**: 379-385.

- Kasha KJ., Hu TC., Oro R., Simion E., Shim YS. 2001 b.** Nuclear fusion leads to chromosome doubling during mannitol pretreatment of barley (*Hordeum vulgare* L.) microspores. *Journal of Experimental Botany*, **52** (359): 1227-1238.
- Kasem Z., Ahmed., A. Mesterhazy and Sagi. F. 1991.** *In vitro* techniques for selecting wheat (*Triticum aestivum* L.) for Fusarium-resistance. I. Double-layer culture technique. *Euphytica*, **57**:251-257.
- Kerlan MC., Dantec JP. Renault L. Ruer D. Souchet C. Dantec M.A. Monot F. Quéré J. Caromel B. Chauvin L. Montarry J. Fournet S. 2016.** Quelles associations de QTL chez la pomme de terre pour une résistance efficace et durable au nématode à kyste *Globodera pallida* ? *Innovations Agronomiques*, **50** : 87-100.
- Kertesz Z., J. Pauk, Z. Barabas. 1988.** Production and utilization of doubled haploid of wheat mutants in hybrid and conventional breeding. In : Use of Induced Mutations In Connection with Haploids and Heterosis in Cereals. (Maluszynski M. and Z. Barabas), *Proceeding of the second FAO/IAEA Meeting*, pp : 109-117.
- Kılıç H. 2012.** Assessment of parametric and non parametric methods for selecting stable and adapted spring bread wheat genotypes in multi – environments. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, **22** (2): 390-398.
- Kirari F. 2013.** Influence du prétraitement au mannitol sur la réponse androgénétique d'un hybride d'orge (Express x Ras El mouche) en F₂). Diplôme d'Ingénieur d'Etat en agronomie, Université Saad DAHLAB-BLIDA, Algérie. 84 pages.
- Kole PC., HS. Chawla. 1993.** Variation of *Helminthosporium* resistance and biochemical and cytological characteristics in somaclonal generation of barley. *Biolog Plant*, **35** : 81-86.
- Kruczkowska H., H. Pawłowska, B. Skucinska. 2002.** Influence of anther pretreatment on the efficiency of androgenesis in barley. *Journal of Applied Genetic*, **34**(3):287-296.
- Kuczynska A., M. Surma, T. Adamski. 2007.** Methods to predict transgressive segregation in barley and other self-pollinated crops. *J Appl Genet*, **48**: 321-328.
- Larsen ET., Tuveesson IKD., Anderson SB. 1991.** Nuclear genes affecting percentage of green plants in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. A. Gen*, **82**:417–420.
- Lashermes P. 1991.** Screening for stress tolerant genotypes via microspores *in vitro* culture. In Physiology- Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments: *Les Colloques de l'INRAA*, N° **55**: 461-479.
- Lebeda A., L. Švábová. 2010.** *In vitro* screening methods for assessing plant disease resistance. In mass screening techniques for selecting crops resistant to diseases. international

atomic energy agency, pp : 7-45. http://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/TDL-001_web.pdf

Le Crenn-Brulon P., A. Perraut, J. Le Rouzic. 2014. Les recherches à l'Inra sur les céréales et leurs utilisations. Inventaire multidisciplinaire sur la période 2011 -2013. Annexe 2 Faits marquants « filière céréales » issus des veilles sectorielles (DPE) Semences, Phytoprotection, Food-Ingredients, alimentation animale. Inra, Groupe filière Céréales. 28 pages. [file:///C:/Users/inraa/Downloads/GFC+-+NC-A2-03.2014%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/inraa/Downloads/GFC+-+NC-A2-03.2014%20(1).pdf)

Lepoivre P., J. Viseur, K. Duhén, N. Carels. 1986. Double-layer culture technique as a tool for selection of calluses resistant to toxic material from plant pathogenic fungi. In J. Semal (Eds.) : Somaclonal variations and crop improvement, pp: 45-52.

Li WZ., JK. Jing, GH. Yao, H. Hu. 1993. The effect of genotype and mannitol pretreatment on high frequency androgenesis in barley. *Chinese Science Bulletin*, **38**: 151-155.

Lin CS., MR. Binns. 1991. Assessment of a method for cultivar selection based on regional trial data. *Theor Appl Genet*, **82** : 379-388.

Luckett DJ., NL. Darvey. 1992. Utilisation of microspores culture in wheat and barley improvement. *Aust.J.Bot*, **40**: 807-828.

Luckett D.J. et Smithar, RA. 1995. A comparison of several published methods for barley anther culture. *Plant Cell Reports*, **14** : 763-767.

Ma H., RH. Busch, O. Riera-Lizarazu, HW. Rines, R. Dill-Macky. 1999. Agronomic performance of lines derived from anther culture, maize pollination and single-seed descent in a spring wheat cross. *Theor Appl Genet*, **99**: 432-436.

MADR. 2013. Ministère de l'agriculture, du développement rural et de la pêche, statistiques agricoles- Série B, DSASI.

MADRP. 2016. Ministère de l'agriculture, du développement rural et de la pêche, statistiques agricoles- Série B, DSASI.

Magali P., 1984. Isolation and characterisation of mutants in plant cell cultures. *Annu Rev Plant Physiol*, **35**:519-552.

Makowska K., S. Oleszczuk. 2014. Albinism in barley androgenesis. *Plant Cell Rep*, **33** (3): 385–392. Doi: [10.1007/s00299-013-1543-x](https://doi.org/10.1007/s00299-013-1543-x)

Maluszynski M., S B. Ahloowalia, B. Sigurbjörnsson. 1995. Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. *Euphytica*, **00** : 1-13.

Maluszynski M., I. Szarejko, B. Sigurbjörnsson. 1996. Haploidy and mutation techniques. In: S. Mohan Jain., S. Spory and R. Veilleux (eds). *In vitro haploidy production in higher plants 4*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers. **1**, pp: 67-93.

- Mameche I., D. Menad. 2012.** Essai d'obtention de plantes haploïdes d'orge (*Hordeum vulgare L.*) à partir de la culture d'anthères de trois hybrides issus de croisements entre variétés locales (*Saïda, Ras El Mouch*) et introduites (*Rihane, Esterel, Express*). Diplôme d'Ingénieur d'Etat en agronomie, Université Saad DAHLAB-Blida, Algérie. 55 pages.
- Mangal M., DR. Sharma. 2002.** *In vitro* mutagenesis and cell selection for the induction of black rot resistance in cauliflower. *J Hort Sci & Biotechnol* 77: 268-272.
- Marchetti S., A. Giordano, C. Pappalardo, AM. Olivieri. 1995.** Nuclear and cytoplasmic control of anther culture response in barley (*Hordeum vulgare L.*). *J. Genet & Breed*, **49** :15-20.
- Martin C., M. Carré, R. Vernoy. 1983.** La multiplication végétative *in vitro* des végétaux ligneux cultivés : cas des arbres fruitiers et discussion générale. *Agronomie EDP Sciences*, **3** (4) : 303-306.
- Mbodji O.1995.** Mise en place d'une méthodologie de clonage chez *Citrus* sp : culture de méristème et microgreffage *in vitro*. Mémoire de DEA : Biol. Végétale, Université Cheik Anta Diop, *Dakar*. 53 pages.
- Mekliche A., F. Dalhlia, L. Hanifi-Mekliche. 2013.** Agro-morphological diversity and stability of durum wheat lines (*Triticum durum* Desf.) in Algeria. *Acta Agronomica Hungarica*, **61**(2): 149–159. DOI: 10.1556/AAgr.61.2013.2.6
- Menad A., N. Meziani, H. Bouzerzour, A. Benmahammed. 2011.** Analyse de l'interaction génotype × milieux du rendement de l'orge (*Hordeum vulgare L.*): application des modèles AMMI et la régression conjointe. *Nature & Technologie*, **51**: 99 -106.
- Meunissier A. 1926.** Études sur l'origine des Plantes cultivées. D'après N. I. Vavilov. In: *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, **6**°(60):476-484. Doi: 10.3406/jatba.1926.4434 http://www.persee.fr/doc/jatba_0370-3681_1926_num_6_60_4434
- Micke A.1995.** Principles of mutant selection. 14th IAEA/FAO International training course on plant mutation techniques (C7-INT-5. 135). 14 pages
- Mohammadi R., B. Vaezi, A. Mehraban, H. Ghogh, R. Mohammadi, N. Heidarpour. 2012.** Analysis of multi-environment trials of rainfed barley in warm regions of Iran. *J. Crop Improvement*, **26**: 503-519.
- Mordhorst AP., H. Lörz. 1993.** Embryogenesis and development of isolated barley (*Hordeum vulgare L.*) microspores are influenced by amount and composition of nitrogen sources of culture media. *J. Plant Physiol*, **142**: 485-492.

- Mueller KJ., G. Vale` D. Enneking. 2003.** Selection of resistant spring barley accessions after natural infection with leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) under organic farming conditions in Germany and by sandwich test. *J Plant Pathol*, **85**: 9–14.
- Muhleisen J., HP. Piepho, HP. Maurer, Y. Zhao, JC. Reif. 2014.** Exploitation of yield stability in barley. *Theor. Applied Genet*, **127**: 1949-1962
- MuirW., WE. Nyquist, S. Xu. 1992.** Alternative partitioning of the genotype-by-environment interaction. *Theor. Appl. Genet*, **84**: 193–200.
- Murashige T., F. Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, **15**: 473-497.
- Mustatea P., NN. Saulescu, G. Ittu, G. Paunescu, L. Voinea, I. Stere, S. Mirlogeanu, E. Constantinescu, D. Nastase. 2009.** Grain yield and stability of winter wheat cultivars in contrasting weather conditions. *Romanian Agricultural Research*, **26**: 1-9.
- Nadjaoui D, 2003.** Profil fourrager ALGERIE. 30 pages.
<http://www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/counprof/PDF%20files/Algeria-French.pdf>
- Najimi B., S. El Jaafri, M. Jlibène, JM. Jacquemin. 2003.** Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, **7** (1) : 17–35.
- N'Guessan FK., SS. Quisenberg, TP.Croughan. 1994.** Evaluation of rice anther culture line for tolerance to the rice weevil (Coleoptera : Curculionidae). *Environ. Entomol*, **23** : 331-336.
- Novak FH. 1991.** *In vitro* mutation system for crop improvement. In proceedings of international symposium of the contribution of plant mutation breeding to crop improvement. IAEA, Vienna. **2**: 327-342.
- Ochoa, J. et Parlevliet, JE. 2007.** Effect of partial resistance to barley leaf rust, *Puccinia hordei*, on the yield of three barley cultivars. *Euphytica* **153** (3), pp: 309-312.
- Oka S., N. Saito, H. Kawaguchi. 1995.** Histological observations on initiation and morphogenesis in mature and immature embryo derived callus of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Annals of Botany*, **76**: 487-492.
- Olsen FI. 1987.** Induction of microspore organogenesis in cultured anthers of *Hordeum vulgare*. The effect of ammonium nitrate, glutamine and asparagines as nitrogen sources. *Carlsberg Res. Commun*, **52**: 393-404.
- Ouffroukh A., D. Khelifi, L. Dehimat. 2011.** Contribution à l'étude des maladies foliaires des céréales "Approche à l'étude épidémiologique de la jaunisse nanisante de l'orge dans les céréales d'hiver dans les régions de l'Est d'Algérie". *Sciences & Technologie C*, **33**: 53-61

- Patade VY., P. Suprasanna. 2008.** Radiation induced *in vitro* mutagenesis for sugarcane improvement. *Sugar Tech*, **10** (1) : 14- 19.
- Plazek A., E. Niemczyk. 2000.** Changes in soluble carbohydrate level in *Hordeum vulgare* (L.) and *Festuca pratensis* (Huds.) calli treated with metabolites of *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. *ACTA PHYSIOLOGIAE PLANTARUM*, **22** (4):471-476.
- Pecchioni N., P. Faccioli, H. Toubia-Rahme, G. Valè, V. Terzi. 1996.** Quantitative resistance to barley leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) is dominated by one major locus. *Theor Appl Genet*, **93**: 97-1001.
- Planchenault D. 2012.** Rapport sur les biotechnologies et les nouvelles variétés. 60 pages. <http://agriculture.gouv.fr/ministere/les-biotechnologies-et-les-nouvelles-varietes-vegetales>.
- Penna S., SB. Vitthal, PV. Yadav. 2012.** *In vitro* mutagenesis and selection in plant tissue cultures and their prospects for crop improvement. *Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability*, **6** (1) : 6-14.
- Perkowski J., I. Kiecana, J. Chelkowski. 1995** .Susceptibility of barley cultivars and lines to *Fusarium* infection and mycotoxin accumulation in kernels. *J. Phytopathol*, **143** : 547 - 551
- Phi Bang C. 2013.** Rôle des facteurs de transcription CBF dans le contrôle du développement de l'Eucalyptus en condition de stress. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse. 221 pages.
- INSID 2008.** Sols salins en Algérie. <http://www.insid.dz/realisation/autres%20activites/A8.pdf>
- Pinthus MJ. 1973.** Estimates of genotypic value: a proposed method. *Euphytica*, **22**: 345–351.
- Picard E., E. Crambes, AM. Ziyyat. 1994.** L'haploïdisation: Un outil multi-usage pour la génétique et l'amélioration des céréales. In: Dubois J, Demarly Y, eds. *Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?* AUPELF-UREF. Montrouge (France); London (England); Rome (Italy): John Libbey Eurotext ; John Libbey & Company Ltd ; John Libbey CIC, pp: 355-369.
- Pickering RA., P. Devaux. 1992.** Haploid production: Approaches and use in plant breeding. In: Shewry PR. (eds). *Barley: Genetics, biochemistry, molecular biology and biotechnology*. Oxford, CAB international, pp : 519-547
- Plaisted RL. 1960.** A shorter method for evaluating the ability of selections to yield consistently over locations. *Am Potato J*, **37**(2): 166 -172.
- Powell W., PDS. Caligari, JM. Dunwell. 1986.** Field performance of lines derived from haploid and diploid tissues of *Hordeum vulgare* L. *Theor Appl Genet*, **72**: 458-465.
- Powell W., PDS. Caligari, MS. Phillips, JL. Jinkst. 1986.** The measurement of genotype by environment in spring barley (*Hordeum vulgare* L.). *Heredity*, **56**: 255-262.

- Puchooa D., 2005.** In vitro mutation breeding of *Anthurium* by gamma radiation. *Intl. J. Agr. Biol.*, 7:11–20. 1560–8530/2005/07–1–11–20 <http://www.ijab.org>
- Raffi SA., MA. Newaz, N. Khan. 2004.** Stability analysis for pod and seed production in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Asian Journal of Plant Sciences*, 3 (2) : 239 – 242.
- Ramla D., Aissat A., Matallah H., Hamou M., Yakhou MS., Bilek N., Hannachi A. 2013.** Rapport final général du projet PNR Biotechnologie. Production de lignées haploïdes doublées d’orge (*Hordeum vulgare* L.) en vue de la sélection de nouvelles variétés associant haute productivité et meilleure adaptabilité aux conditions environnementales des zones semi-arides. Organisme pilote: ANDRS. 178 pages.
- Rao S. H. Sandhya. 2016.** In vitro Selection of Disease-Resistant Plants. In Plant Tissue Culture: Propagation, Conservation and Crop Improvement. Anis M. and N. Ahmad eds, pp : 395 - 417. DOI 10.1007/978-981-10-1917-3_17.
- Reiseberg LH., MA. Archer, RK. Wayne. 1999.** Transgressive segregation, adaptation and speciation. *Heredity*, 83: 363-372.
- Reiseberg LH., A. Widmer, AM. Arntz, JM. Burke. 2003.** The genetic architecture necessary for transgressive segregation is common in both natural and domesticated populations. *Phil. Trans. R. Sco. Land B. The Royal Society*. First cite ® e-publishing: 03TB010M.1-03TB010M.7.
- Remotti PC. 1998.** Somaclonal variation and in-vitro selection for crop improvement. In "Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement". S.Mohan Jain, D.S.Brar, B.S.Ahloowalia editor, pp: 169-201.
- Roberts-Ochlschlager SL., JM. Dunwell.1990.** Barley anther culture: pretreatment on mannitol stimulates production of microspore-derived embryos. *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 20: 235-240.
- Sabaghnia N., M. Mohammadi, R. Karimizadeh. 2013.** Yield stability of performance in multi-environment trial of (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae*, XI (3): 787- 793. <http://dx.doi.org/10.11118/actaun201361030787>.
- Sahnoune F., M. Belhamel, M. Zelmat, R. Kerbachi. 2013.** Climate Change in Algeria: Vulnerability and Strategy of Mitigation and Adaptation. *Energy Procedia*, 36: 1286 – 1294.
- Sangaré M. 2008.** Optimisation de la culture d'anthères chez l'orge de printemps à six rangs (*Hordeum vulgare*). Maitrise en biologie végétale. Université de Laval. <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/25691/25691.html>

- Sathish P., OL. Gamborg, MW. Nabors. 1997.** Establishment of stable NaCl-resistant rice plant lines from anther culture: distribution pattern of K⁺/Na⁺ in callus and plant cells. *Theor Appl Genet*, **95** (8): 1203-1209. Doi : 10.1007/s001220050682
- Sayoud R., B. Ezahiri, Z. Bouznad. 1999.** Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. Ed. I.T.G.C. Alger. 64 pages.
- Scott P., RL. Lyne. 1994.** The effect of different carbohydrate sources upon the initiation of embryogenesis from barley microspores. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, **36**: 129–133. Doi:10.1007/BF00048323
- Smadhi D., L. Zella. 2009.** Céréaliculture en sec et précipitations annuelles: le cas de l'Algérie du Nord. *Sécheresse*, **20** (2): 199-203.
- Shukla GK. 1972.** Some statistical aspects of partitioning genotype × environmental components of variability. *Heredity*, **29**: 237-245.
- Stefenson BJ., Y. Jin, BG. Lossnagel, JBK.Rasmussen, K. Kao. 1995.** Genetics of multiple disease resistance in a doubled haploid population of barley. *Plant Breed*, **114** : 50-54.
- Suhesti S., N. Khumaida, GA. Wattimena, M. Syukur, A. Husni, E. Hadipoentyanti. 2015.** Gamma Irradiation and *In vitro* Selection Could Increase Drought Tolerance in Sugarcane. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, **23**(2): 370-380.
- Svabova L., A. Lebeda. 2005.** *In Vitro* Selection for Improved Plant Resistance to Toxin-Producing Pathogens. *J. Phytopathology*, **153**: 52–64.
- Szarejko I. 2001.** *In vitro* androgenesis for doubled haploid production in barley (*Hordeum vulgare* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L). In: Szarejko I, Neil Jones R, eds. *Manual on general genetics and basic methods in plant biotechnology*. Katowice (Poland): Wydawnictwo Uniwersytetu Slaskeigo, pp: 159-173.
- Szarejko I. 2003.** Anther culture for doubled haploid production in barley (*Hordeum vulgare* L.). In: Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP and Szarejko I, eds. *Doubled haploid production in crop plants: a manual*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp: 35-42.
- Tacconi G., L. Cattivelli, N. Faccini, N. Pecchioni, AM. Stanca, G. Valè. 2001.** Identification and mapping of a new leaf stripe resistance gene in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet*, **102**: 1286–1291.
- Tadele Z. 2016.** Mutagenesis and Tilling to Dissect Gene Function in Plant. *Curr Genomics*, **17**(6):499-508. Doi: 10.2174/1389202917666160520104158
- Takabe I., G. Labib, G. Melchers. 1971.** Regeneration of whole plantes from isolated mesophyll protoplasts of tobacco. *Naturwissen*, **58** : 318-320.

- Talamè V., R. Bovina, MC. Sanguineti, R. Tuberosa, U. Lundqvist, S. Salvi. 2008.** TILLMore, a resource for the discovery of chemically induced mutants in barley. *Plant Biotechnol J*, **6** (5): 477-85. Doi: 10.1111/j.1467-7652.2008.00341.x
- Thanutong P., I. Furusawa., M. Yamamo. 1983.** Resistant tobacco plants from protoplast-derived calluses selected for their resistance to *Pseudomonas* and *Alternaria* toxins. *Theor. Appl. Genet*, **66** : 209-2015
- Temesgen T., G. Keneni, T. Sefera, M. Jarso. 2015.** Yield stability and relationships among stability parameters in faba bean (*Vicia faba* L.) *The Crop Journal*, **3** (3): 258-268
- Thomas WTB., BP. Forster, B. Gertsson. 2003.** Doubled haploids in breeding. In: Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP and Szarejko I, eds. *Doubled haploid production in crop plants: a manual*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp: 337-349.
- Timothy CP., J. Steffenson. 2011.** Biotic Stress in Barley: Disease Problems and Solutions. In: *BARLEY Production, Improvement and Uses*. (Steven E Ullrich ©, eds). Garsington Road, Oxford (U.S.A) Blackwell Publishing Ltd, pp: 355-390.
- Touraev A., M. Pfossier, E. Heberle-Bros. 2001.** The microspore: a haploid multipurpose cell. *Advances in Botanical Research*, **35**: 53-109.
- Twell D., SK. Park, E. Lalanne. 1998.** Assymmetric division and cell-fate determination in developing pollen. *Trends in plant Science*, **3**: 305-310.
- Ülker M., F. Sönmez, V. Çiftci, N. Yilmaz, R. Apak. 2006.** Adaptation and stability analysis in the selected lines of TIR wheat. *Pak. J. Bot*, **38**(4): 1177-1183.
- Ullrich S E. 2011.** Significance, Adaptation, Production, and Trade of Barley. In: Steven E Ullrich ©, eds. *BARLEY: Production, Improvement and Uses*. Garsington Road, Oxford (U.S.A): Blackwell Publishing Ltd, pp: 3-13.
- Ukai, Y. 2007.** GEST98 for Win 98, Vp. <http://lbm.ab.a.u-tokyo.ac.jp/~ukai/gest98.html>.
- Unay A., C. Konak. 2004.** Stability Analysis for Malting Barley in Aegean region. *Cereal Research Communications*, **33** : 39-43.
- Urbano V., KJ. Frey. 1980.** Transgressive segregation in inter and intraspecific crosses of barley. *Euphytica*, **29**: 585-594.
- Vajrabhaya M., W. Kumpun, S. Chadchawan. 2001.** The solute accumulation: The mechanism for drought tolerance in RD23 Rice (*Oryza sativa*) lines. *ScienceAsia*, **27** : 93-97.
- Varoquaux F., G. Pelletie. 2002.** Evolution des techniques, outils et méthodes en amélioration des plantes. *"Le Sélectionneur Français"*, **53** : 55-68.

- Verheul M., C. Picatto, P. Stamp. 1996.** Growth and development of maize (< i> Zea mays</i> L.) seedlings under chilling conditions in the field. *European Journal of Agronomy*, **5**(1): 31-43.
- Von Bothmer R. T. Komatsuda. 2011.** Barley origin and related species,” in *Barley: Production, Improvement and Uses* ed. Ullrich S. E., editor. (Chichester: Wiley-Blackwell Press) 14–62. 10.1002/9780470958636.ch2
- Wang DK., ZX. Sun, YZ.Tao. 2006.** Application of tilling in plant improvement. *Journal of genetics and genomics*, **33** (11): 957-964.
- Wojnarowicz G., Jacquard C., Devaux P., Sangwan RS., Clément C. 2002.** Influence of copper sulfate on anther culture in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Sci*, 162:843–847. Doi: 10.1016/S0168-9452(02)00036-5.
- Wricke G. 1962.** Evaluation method for recording ecological differences in field trials. *Z. Pflanzenzücht*, **47**: 92-96.
- Zahour A. 1992.** Eléments d’Amélioration Génétique des Plantes. Manuels scientifiques et techniques. Actes Editions. 230 pages.
- .Ziauddin A., A. Marsolais, E. Simion, KJ. Kasha. 1992.** Improved plant regeneration from wheat anther and barley microspore culture using phenylacetic acid PAA. *Plant Cell Reports*, **11** :489–498.
- Zillinsky F. J. 1983.** Maladies communes des céréales à paille : Guide d’identification. Ed. CIMMYT, Londres, 141 pp.
- Zryd JP. 1988.** Cultures de cellules, tissus et organes végétaux. Fondement théorie et utilisation pratiques, eds : PRESSES POLYTECHNIQUES ROMANDES. 305 pages

ANNEXES

Annexe 1: Gamme variétale proposée à la production.

Variétés disponibles en Algérie		NR ² / Situation ³	Obtenteur/Origine/Année inscription
Autorisées à la commercialisation Et à la production (inscrites au JO ¹)	Saïda 183	6/E.P ⁴	ITGC/Algérie/1998
	Tichedrett	6/E.P	ITGC/Algérie /1998
	El Fouara	6/E.P	ITGC/Algérie/2001
	Barberousse (Hamra)	6/E.P	INRA/France/ ?
	Jaidor (Dahbia)	6/E.P	INRA/France/1998
	Rihane 03	6/E.P	ICARDA /Syrie/1998
	Soufara	6/ ?	Variétés étrangères homologués/ ?
	Princess	6/ ?	Serasem/ France/2001
	Majestic	6/R. C. P ⁵	Serasem/France/2001
	Djebel	6/R. C. P	Serasem/France/1998
	Badia	6/R. C. P	ICARDA/Syrie/ ?
	Express	6/R. C. P	Serasem/France/ ?
	Acsad 176 (Naïlia)	6/R. C. P	ACSA/Syrie/1998
	Nikel	6/R. C. P	Serasem/France/2001
	Plaisant	6/R. C. P	Variétés étrangères homologués/ ?
	Rebelle	6/R. C. P	Variétés étrangères homologués/ ?
	Acsad 68 (Remada)	6/R. C. P	ACSA/Syrie/ ?
	Acsad 60 (Bahria)	2/R. C. P	ACSA/Syrie/1998
Vertige	2/ R.P ⁶	Serasem/ France/2001	
Autorisées à la commercialisation Et à la production (non inscrites au JO)	EL Bahia	6/?	ITGC/Algérie/2008
	Djurdjura	6/ ?	Serasem/ France ⁵ /2011
	Dingo	6/ ?	PRO-SE-ME/Italie/2012
	Exito	6/ R.P	Secobra recherche /France/2007
	Siberia	6/ R.P	Secobra recherche /France/2007
	Zibeline	2/ ?	Serasem/France/2011
	Hispanic	2/ R.P	Florimond desprez/France/2007
	Hermione	2/ R.P	Florimond desprez/France/2007
	Marnie	2/ ?	Saatzucht Josef Breun GDBR/Allemagne/2012

1 : Journal officiel ; 2 : Nombre de rangs ; 3 : Situation vis-à-vis du système de production ; 4 : En production ; 5 : Retiré du circuit de production ; 6: Recommandé à la production. Tableau élaboré à partir de la synthèse des données du JO N° 39 du 16 juin 2004, du Bulletin des variétés de Céréales autogame, CNCC 2015 et des données éditées par Ait-Abdallah et al., 2010.

Annexe 2: Test s de linéarité et non linéarité.

Génotypes	Values		Test de Linéarité F-test / ($H_0 : \beta_i=0$)		t-test/ ($H_0 : \beta_i=1$) (1-Bi/SE _{Bi})		Test de non linéarité F-test / ($H_0 : S^2d_i=0$)			F-test / ($H_0 : R^2=0$)		
	Bi	Std. Err. (Bi)	P (>t)	Sig.	P (>t)	Sig.	S ² d _i	P (>t)	Sig.	R ²	P (>t)	Sig.
Tichedrett	1,17	0,298	0,002	**	0,578	NS	227,01	0,000	***	0,508	0,002	**
Express	0,80	0,155	0,000	***	0,221	NS	6,01	0,827	NS	0,671	0,000	***
Plaisant	0,96	0,230	0,001	**	0,867	NS	109,20	0,008	**	0,573	0,001	**
DH1 F2 Tichedrett x Express-09	0,66	0,181	0,003	**	0,081	NS	63,69	0,014	*	0,467	0,003	**
DH 2 F2 Tichedrett x Express-09	0,88	0,220	0,001	**	0,604	NS	131,81	0,000	***	0,553	0,001	**
DH 5 F2 Tichedrett x Express-09	0,69	0,218	0,007	**	0,175	NS	47,83	0,239	NS	0,436	0,007	**
DH 10 F2 Tichedrett x Express-09	0,84	0,133	0,000	***	0,243	NS	24,02	0,104	NS	0,753	0,000	***
DH 11 F2 Tichedrett x Express-09	1,02	0,127	0,000	***	0,883	NS	18,34	0,183	NS	0,831	0,000	***
DH 13 F2 Tichedrett x Express-09	1,20	0,141	0,000	***	0,180	NS	34,16	0,034	*	0,848	0,000	***
DH 14 F2 Tichedrett x Express-09	1,07	0,240	0,001	***	0,769	NS	72,56	0,133	NS	0,606	0,001	***
DH 15 F2 Tichedrett x Express-09	0,73	0,170	0,001	***	0,139	NS	31,21	0,203	NS	0,589	0,001	***
DH 16 F2 Tichedrett x Express-09	0,77	0,208	0,003	**	0,290	NS	71,03	0,044	*	0,514	0,003	**
DH 21 F2 Tichedrett x Express-09	0,87	0,161	0,000	***	0,443	NS	14,13	0,559	NS	0,693	0,000	***
DH 24 F2 Tichedrett x Express-09	0,97	0,294	0,006	**	0,930	NS	219,50	0,000	***	0,457	0,006	**
DH 25 F2 Tichedrett x Express-09	1,26	0,183	0,000	***	0,180	NS	67,15	0,011	*	0,784	0,000	***
DH 26 F2 Tichedrett x Express-09	1,15	0,238	0,000	***	0,533	NS	137,06	0,001	***	0,644	0,000	***
DH 30 F2 Tichedrett x Express-09	0,92	0,271	0,005	**	0,784	NS	110,49	0,069	NS	0,471	0,005	**
DH 31 F2 Tichedrett x Express-09	0,59	0,232	0,027	*	0,095	NS	108,32	0,008	**	0,346	0,027	*
DH 37 F2 Tichedrett x Express-09	0,80	0,216	0,003	**	0,363	NS	80,63	0,034	*	0,511	0,003	**
DH 39 F2 Tichedrett x Express-09	1,30	0,201	0,000	***	0,164	NS	13,21	0,757	NS	0,761	0,000	***
DH 40 F2 Tichedrett x Express-09	0,42	0,159	0,020	*	0,001	*	38,31	0,066	NS	0,352	0,020	*
DH 43 F2 Tichedrett x Express-09	1,27	0,186	0,000	***	0,177	NS	74,18	0,005	**	0,780	0,000	***
DH 46 F2 Tichedrett x Express-09	1,05	0,166	0,000	***	0,791	NS	65,64	0,001	**	0,753	0,000	***
DH 54 F2 Tichedrett x Plaisant-09	1,52	0,370	0,001	**	0,183	NS	372,49	0,000	***	0,564	0,001	**
DH 55 F2 Tichedrett x Plaisant-09	1,42	0,302	0,000	***	0,186	NS	166,34	0,023	*	0,630	0,000	***
DH 59 F2 Tichedrett x Plaisant-09	1,66	0,427	0,002	**	0,143	NS	465,94	0,000	***	0,539	0,002	**
DH 60 F2 Tichedrett x Plaisant-09	1,11	0,380	0,012	*	0,769	NS	241,51	0,040	*	0,397	0,012	*
DH 63 F2 Tichedrett x Plaisant-09	0,67	0,317	0,003	**	0,316	NS	239,99	0,001	**	0,256	0,054	**
DH 65 F2 Tichedrett x Plaisant-09	1,27	0,302	0,001	**	0,383	NS	177,07	0,014	*	0,577	0,001	**

*, **, *** significatifs au seuil de 0,05, 0,01 et 0,001 respectivement. Ns : Non significatif au seuil de 0,05.

Annexe 3 : Milieux de culture utilisés dans le système de régénération *in vitro* à partir des deux variétés Saïda et Tichedrett (à partir des milieux de Dalheen et Bregister 2002).

		Initiation du cal	Maintenanc e du cal	Régénératio n des plants	Developpeme nt	Enracineme nt
Basal salts	* Major salts	*MS macronutrien ts level	*MS macronutrien ts level	*MS macronutrien ts level	*MS 1/2 level	*MS 1/2 level
	* Minor salts	*Modified MS micronutrient s (as modified by Bregister, 1992) CuSO₄. H₂O 1.25 mg/l H₃Bo₃ 46.4 mg/l	*Modified MS micronutrient s (as modified by Bregister, 1992) CuSO₄. H₂O 1.25 mg/l H₃Bo₃ 46.4 mg/l	*Modified MS micronutrient s (as modified by Bregister, 1992) CuSO₄. H₂O 1.25 mg/l H₃Bo₃ 46.4 mg/l	*MS 1/2 level	*MS 1/2 level
	* Iron salt	*Modified MS iron-EDTA FeSO₄.7H₂O 13.9 mg/l Na₂EDTA 18.6 mg/l	*Modified MS iron-EDTA FeSO₄.7H₂O 13.9 mg/l Na₂EDTA 18.6 mg/l	*Modified MS iron-EDTA FeSO₄.7H₂O 13.9 mg/l Na₂EDTA 18.6 mg/l	*MS 1/2 level	*MS 1/2 level
Sources de carbone	* Maltose	30 g/ l	30 g/ l	30 g/ l	-	-
	*Sucrose	-	-	-	20 g/ l	20 g/ l
Aninoacids	*Casein Hydrolys at	1g/l	1g/l	1g/l	-	-
Vitamines	*Thiamine	2mg/l (Oka <i>et al.</i> , 1995)	2 mg/l (Oka <i>et al.</i> , 1995)	2 mg/l (Oka, 1995)	-	-
	* MS vitamins *Myo-inositol	- 250 mg/l (Dalheen, 1999)	- 250 mg/l (Dalheen, 1999)	- 250 mg/l (Dalheen, 1999)	*MS level *MS level, 100 mg/l)	*MS level *MS level, 100 mg/l)
Régulateurs de croissance * Auxines * Cytokinins	*2,4D	3 mg/l	3 mg/l	-	-	-
	*Dicamba	3 mg/l	3 mg/l	-	-	-
	*Picloram	5 mg/l	5 mg/l	-	-	-
	*IBA	-	0,1 mg/l	0,1 mg/l	-	1mg/l
	*BAP	-	-	-	-	-
Gelling agent	*Phytage l	3,5 g/l	3,5 g/l	3,5 g/l	3,5 g/l	-
	*Agar	-	-	-	-	8 g/l

Annexe 4 : Détermination de la souche la plus virulente

Données non publiées : Rapport projet ALG 5026

Matalah H, Ramla D, Djellal L

Matériel et méthode :

- **Prospection et prélèvement des échantillons**

Pour la recherche des différentes souches de *pyrenophora graminea* agent causal de la strie foliaire sur orge des prospections ont été réalisées par différentes équipes de phytopathologie de l'INRA à travers trois régions céréalières du pays :

**La région centre*

**La région Est*

**La région Ouest*

L'échantillonnage a été fait aléatoirement sur base symptomatologique, les échantillons récoltés sont ceux qui portent des stries jaunes le long du limbe, celles-ci évoluent en craquelure lorsque la maladie est à un stade avancé (Zillinsky, 1983 ; Sayoud et *al.*, 1999).

- **Isolement des souches de l'agent pathogène de la strie foliaire (*Pyrenophora graminea*) :**

La méthode utilisée est celle décrite par Benbelkacem et *al.* en 2000 :

Des fragments de feuilles de 1 cm environ ont été désinfectés à l'hypochlorite de sodium pendant 5 minutes puis rincés dans trois bains successifs d'eau distillée stérile pour être mise en culture sur papier buvard stérile et humide. Après 48 heures d'incubation à température ambiante et à l'obscurité un mycélium apparaît sur les fragments mis en culture.

Les critères utilisés pour l'identification du champignon ainsi que la différenciation des différentes races culturales sont les critères morphologiques qui tiennent compte :

- Du type du mycélium (Pelucheux ou cotonneux)
- De la couleur du mycélium et du substrat qui peut être soit rouge, vert olive ou noire (Benslimane, 2002).

Les caractéristiques du conidiophore et des conidies des différentes souches sur lesquelles le *pyrenophora graminea* a été identifié sont celles décrites par Zillinsky (1983) et résumé dans le tableau suivant :

.	Taille	couleur	forme	autre
Conidiophore	court	Marron opaque	Allongée	Présence de septations
Conidies	petite	Marron foncé opaque	Allongées légèrement ovoïdes	Pluri cellulaires.

Après l'identification du champignon, celui-ci est purifié dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA (Potatos Dextrose Agarose).

- **Culture monospore**

Les mycélia obtenus après purification au PDA sont inondés par de l'eau distillée stérile pour êtreensemencés dans des boîtes contenant de l'eau gélosée à 1.5%. Ces dernières sont mises en incubation à l'obscurité à 10° pendant 24 heures (Benslimane, 2002). Il apparaît au niveau des boîtes un mycélium très fin en forme d'étoiles.

- **Conservation des souches**

Les cultures monospores obtenues précédemment sont régénérées dans des tubes contenant du milieu PA (milieu PDA dépourvus de dextrose), une fois poussées ses dernières sont conservées au réfrigérateur à 4 °C (Benslimane, 2002).

- **Test de pathogénéicité en vue de la détermination de la souche la plus virulente des isolats algériens de *pyrenophora graminea* agent causal de la strie foliaire**

Le test de pathogénéicité est réalisé afin d'identifier la souche la plus virulente du pathogène *Pyrenophra graminea* à partir duquel seront extraits les éléments toxiques utilisés comme agent sélectif en sélection *in vitro*.

a) Choix des souches :

Sur les 97 souches récoltées et conservées, 14 souches ont été choisies pour ce test de pathogénécité, ces souches ont été choisies sur la base de deux critères :

-Zone agro écologique

-L'incidence de la maladie dont la lecture se fait sur le critère de la sévérité et de l'échelle de 1-9 préconisée par l'ICARDA

Les zones et les wilayas retenues :

- ***Littoral et sublittoral***
Centre: Tipaza, Alger, Boumerdes,
Est: Skikda
- ***Plaines intérieures***
Centre: Ain-defla, Médéa
Est : Bouira, Mila, Constantine, Guelma.
- ***Hauts Plateaux :***
Est : Sétif, Oum El-Bouaghi

La codification des souches utilisées a été faite selon le numéro de la wilaya, le nom de la commune, et le numéro de la souche

Variété	Code de la wilaya	commune	N° de la souche
Wilaya	Localité	N° de la souche	Code des souches pour l'essai
Alger 16	Oued El Semmar (OS)	N2	S 16 OS N2 T 16 OS N2
Medea 26	Beni Slimane (BS)	3	S 26 BS 3 T 26 BS 3
Tipaza 42	Tipaza (TPZ)	5	S 42 TPZ 5 T 42 TPZ 5
Boumerdes 35	Boumerdes BMS	2	S 35 BMS 2 T 35 BMS 2
Ain defla 44	Khemis miliana KM	Dj	S 44 KM Dj T 44 KM Dj
Bouira 10	Ferme Zerrouki (FZ)	9	S 10 FZ 9 T 10 FZ 9
	Ain El Aloui (AL)	10	S 10 FZ 10 T 10 FZ 10
Constantine 25	Ain Abid (AB)	15	S 25 AB 15 T 25 AB 15
Guelma 24	Belkhir (BL)	64	S 24 BL 64 T 24 BL 64
Mila 43	Ain tine (AT)	33	S 43 AT 33 T 43 AT 33
Skikda 21	Medjer edchiche (ME)	21	S 21 ME 21 T 21 ME 21
Sétif 19	El alma (AL)	22	S 19 AL 22 T 19 AL 22
	Ouled Gouacem (OG)	25	S 19 OG 25 T 19 OG 25
Oum El Bouagui 04	Bir Roguaa (BR)	68	S 04 BR 68 T 04 BR 68

S : Saïda, T : Tichedrett

b) Technique d'inoculation

Des grains des deux variétés Saïda et Tichedrett sont préalablement stérilisés sous hotte à flux laminaire par immersion dans de l'éthanol 90° pendant 30 secondes suivi d'un bain d'hypochlorite de sodium à 32° pendant 15 minutes, les grains sont alors rincés cinq fois successivement à l'eau distillé stérile.

La technique d'inoculation utilisée est celle de Houston et Oswald (1948) (*in* Benslimane, 2002). Les grains préalablement stérilisés sont placés dans une boîte de Pétri entre deux couches de PDA colonisées par du mycélium en croissance active de *P. graminea* technique dite en « sandwich » elles ont ensuite été mises en incubation pendant 12 jours à 10°C.

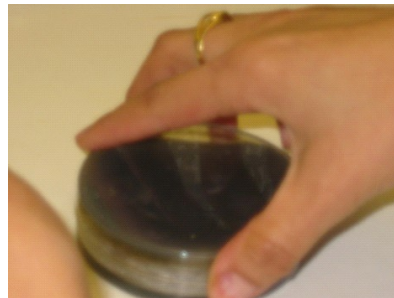
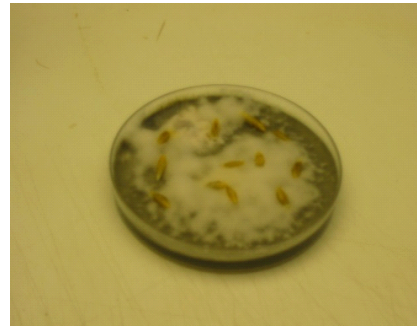
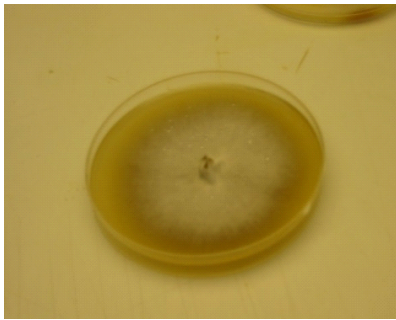


Figure 1 : Technique d'inoculation : a) culture du champignon, b) dépôt des grains stérilisés sur milieu PDA inoculé par une souche du champignon, c et d) recouvrement des grains par la même souche.

c) Dispositif expérimental

L'essai du test de pathogénéicité est réalisé en serre, selon un dispositif en bloc factoriel avec trois répétitions (**Figure 2**). Les différentes combinaisons génotype – souche sont aléatoirement affectées dans chaque bloc, un témoin non inoculé des deux variétés est également compris dans ce dispositif. Ainsi, 10 jours après inoculation, les jeunes plantules sont transplantées dans des bassines en plastique contenant un mélange de terre, terreau et sable (1 :1 :1) préalablement stérilisé. Chaque bassine contiendra 10 plantules.

T 04 BR 68	S 26 BS 3	T 19 AL 22	S 10 FZ 9	S 10 FZ 10	S 19 OG 25
S 44 KM Dj	T 42 TPZ 5	S 43 AT 33	S 25 AB 15	T 16 OS N2	T44 KM Dj
T 26 BS 3	S 16 OS N2	S 24 BL 64	T 10 FZ 10	S 44 KM Dj	S 19 AL 22
T 35 BMS 2	T 21 ME 21	T 04 BR 68	S 42 TPZ 5	T 19 AL 22	T 25 AB 15
T 19 AL 22	T 34 AT 50	S 21 ME 21	Tichedrett	T 10 FZ 9	T 43 AT 33
T 10 FZ 10	T 19 OG 25	S 10 FZ 10	S 04 BR 68	Saïda	T 34 RO 56
S 24 BL 64	T 24 BL 64	S 16 OS N2	T 24 BL 64	T 04 BR 68	T 26 BS 3
S 19 OG 25	T 16 OS N2	Saïda	T 10 FZ 9	T 10 FZ 10	Tichdrett
S 42 TPZ 5	T 34 RO 56	T 19 OG 25	S 44 KM Dj	S 16 OS N2	S 21 ME 21
Saïda	T 44 KM Dj	T 35 BMS 2	S 19 AL 22	S 42 TPZ 5	T 42 TPZ 5
T 10 FZ 9	S 25 AB 15	T 21 ME 21	T 34 RO 56	S 04 BR 68	T 35 BMS 2
S 21 ME 21	Tichedertt	T 43 AT 33	T 34 AT 50	S 35 BMS 2	T 21 ME 21
T 25 AB 15	S 34 RO 56	S 26 BS 3	S 19 OG 25	S 34 AT 50	T 19 OG 25
S 19 AL 22	S 35 BMS 2	S 34 RO 56	S 34 AT 50	S 24 BL 64	S 43 AT 33
T 43 AT 33	S 10 FZ 10	T 16 OS N2	T 25 AB 15	T 24 BL 24	S 25 AB 15
S 34 AT 50	S 10 FZ 9	T 42 TPZ 5	T 26 BS 3	S 10 FZ 9	S 34 RO 56
S 43 AT 33	S 04 BR 68	S 35 BMS 2	T 44 KM Dj	S 26 BS 3	T 34 AT 50

d) Notation des résultats

Le nombre de plantes montrant des symptômes de la strie foliaire (**Figure 3**) au moment de l'épiaison a été enregistré au niveau de chaque bassine puis exprimé en pourcentage. Après une transformation angulaire des pourcentages d'infection ($\arcsin \sqrt{\%}$), l'analyse de la variance et le test de Duncan (logiciel STATISTICA) ont permis la classification des différentes souches selon leur agressivité ainsi que leur virulence.



Figure 2 : Essai relatif au test de pathogénécité réalisé en serre.



Figure 3: Apparition des symptômes de l'infection (stries) sur les feuilles.

Résultats

- **Prospection et prélèvement des échantillons**

**La région centre* : Différentes parcelles d'orge de huit wilayas (départements) ont été prospectées et ont permis la récolte de 58 échantillons.

**La région Est* : Différentes parcelles de sept wilayas ont été prospectées et ont permis la récolte de 75 échantillons.

**La région Ouest* : Les prospections réalisées dans cette région n'ont pas permis la récolte de l'agent pathogène de la strie foliaire (*Pyrenophora graminea*). Seule la rayure réticulée sévissait au niveau de cette région

- **Isolement et conservation des souches de l'agent pathogène de la strie foliaire (*Pyrenophora graminea*) :**

97 souches ont été isolées et conservées.

- **Test de pathogénécité**

Sur les 97 souches récoltées et conservées, 14 souches ont été choisies pour le test

Le test de pathogénécité a mis en évidence une variabilité dans le pouvoir pathogène des 14 isolats algériens de *Pyrenophora graminea*. L'analyse de la variance a mis en évidence l'existence de différences très hautement significatives entre les isolats ($P < 0,001$) (variation de l'agressivité entre les isolats) et des différences hautement significatives ($P < 0,01$) entre les deux variétés d'orge ainsi que l'interaction variétés/isolats (différence de virulence entre les isolats), les 14 souches diffèrent à la fois par leur agressivité et par leur virulence. (**Tableau 1**).

Tableau 1: Analyse de la variance de l'incidence (%) de la strie foliaire sur deux génotypes d'orge (Saïda et Tichedrett) inculés artificiellement par 14 isolats de *Pyrenophora graminea*. L'analyse de la variance a été réalisée sur les données transformées en arcsin $\sqrt{\%}$.

Source of variation	SCE	ddl	CM	F-ratio
Variété	2764,41	1	22764,41	14,11**
Isolats	35067,05	13	2697,46	13,77***
Variété × Isolats	7943,73	13	611,05	3,11**
Bloc	876,96	2	438,47	2,23 NS
Erreur	5092,45	26	195,86	-
Total	58188,40	83	701,06	-

** , *** significatif à $P < 0,01$ and $P < 0,001$ respectivement, NS: Non significatif

Les pourcentages moyens d'incidence provoquée par les 14 isolats sur les deux variétés varient entre 0 et 62,5. Les deux isolats 25AB15 et 26BS3 montrent l'incidence moyenne la plus élevée de l'ordre de 60%. L'isolat virulent retenu pour la pression de sélection est la souche 25AB15 qui montre la plus forte agressivité sur la variété Saïda (81,7 %) et une agressivité relativement élevée (intermédiaire) sur la variété Tichedrett (42,7 %) (Tableau 2).

Tableau 2: Incidences moyennes de la strie foliaire (in %) sur deux génotypes d'orge (Saïda et Tichedrett) inoculés artificiellement par 14 isolats de *Pyrenophora graminea* et incidences moyennes causées par chaque isolat sur les deux génotypes.

Saïda		Tichedrett		Moyenne par isolat	
Isolats	Incidence moyenne (%)	Isolats	Incidence moyenne (%)	Isolats	Moyennes
25 AB 15	81,7±9,27 a	26 BS 3	56,7±29,62 a	25 AB 15	62,2
10 FZ 10	74,1±16,15 ab	25 AB 15	42,7±10,76 ab	26 BS 3	62,5
26 BS 3	68,3±19,31 ab	10 FZ 9	27,8±14,69 bc	10 FZ 10	45,6
24 BL 64	50,0±25,45 ab	10 FZ 10	17,0±9,07 bc	16 OS N2	31,6
44 KM DJ	45,1±4,79 ab	16 OS N2	28,0±5,93 bc	24 BL 64	25,0
16 OS N2	35,1±11,48 bc	43 AT 33	4,8±4,76 c	44 KM DJ	24,1
42 TPZ 5	8,3±8,33 cd	42 TPZ 5	3,7±3,70 c	10 FZ 9	15,2
19 AL 22	6,1±6,06 cd	44 KM DJ	3,0 ±3,03 c	42 TPZ 5	6,0
43 AT 33	5,6±5,56 cd	21 ME 21	0,0±0,00 c	43 AT 33	5,2
10 FZ 9	2,6±2,56 cd	19 AL 22	0,0±0,00 c	19 0G 25	3,1
04 BR 68	2,4±2,36 cd	35 BMS 2	0,0±0,00 c	04 BR 68	1,2
35 BMS 2	0,0±0,00 d	04 BR 68	0,0±0,00 c	35 BMS 2	0,0
19 0G 25	0,0±0,00 d	24 BL 64	0,0±0,00 c	19 AL 22	0,0
21 ME 21	0,0±0,00 d	19 0G 25	0,0±0,00 c	21 ME 21	0,0
Mean±se	27,1±5,24		13,1±3,55		

Les différentes lettres au sein d'une même colonne indiquent une différence significative selon le test de Duncan à $P < 0,05$. La comparaison a été réalisée sur les données en pourcentage (%) transformées en arcsin $\sqrt{\%}$. Les données présentées sont les moyennes des pourcentages.